

**Aus der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie**

**Tübingen**

**Abteilung Allgemeine Psychiatrie und Psychotherapie mit**

**Poliklinik**

**Ärztlicher Direktor: Professor Doktor A. J. Fallgatter**

**Sektion Suchtmedizin und Suchtforschung**

**Leiter: Professor Dr. A. Batra**

**Auswirkungen des NMDA-Rezeptor-Antagonisten  
Memantin auf das Alkohol-Einnahmeverhalten  
adulter, alkoholerfahrener Ratten**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von**

**Jamil El Kasmi**

**aus**

**Ruit / Ostfildern**

**2011**

**Aus der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie**

**Tübingen**

**Abteilung Allgemeine Psychiatrie und Psychotherapie mit**

**Poliklinik**

**Ärztlicher Direktor: Professor Doktor A. J. Fallgatter**

**Sektion Suchtmedizin und Suchtforschung**

**Leiter: Professor Dr. A. Batra**

**Auswirkungen des NMDA-Rezeptor-Antagonisten  
Memantin auf das Alkohol-Einnahmeverhalten  
adulter, alkoholerfahrener Ratten**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von**

**Jamil El Kasmi**

**aus**

**Ruit / Ostfildern**

**2011**



**Dekan:**

Professor Dr. I. B. Autenrieth

**1. Berichterstatter:**

Professor Dr. J. Wolffgramm

**2. Berichterstatter:**

Professor Dr. C. H. Gleiter

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>Seite</b>
<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>17</b>
2.1. Vorgeschichte der Versuchstiere	17
2.2. Haltung der Tiere	20
2.2.1. Allgemeine Haltungsbedingungen	20
2.2.2. Gesundheit der Tiere und Ausschlusskriterien	21
2.2.3. Überlebensanalyse	23
2.2.4. Erhebung der Halungsdaten	24
2.3. Substanzangebot	24
2.3.1. Wasser	24
2.3.2. Alkohol	24
2.3.3. Memantin (Memantinhydrochlorid)	25
2.4. Versuchsgruppen und zeitlicher Versuchsablauf	26
2.5. Entzugsbegleitende Messungen	31
2.5.1. Titrierter Fuß-Schock	32
2.5.2. Circadiane Aktivitätsanalysen zur Erfassung des Trinkverhaltens und der Lokomotion (Lichtschrankenmesssysteme)	32
2.6. Datenverarbeitung	34
2.6.1. Halungsdaten	34
2.6.2. Fuß-Schock	36
2.6.3. Zeitverläufe der circadianen Aktivitätsanalysen	36
2.6.4. Ereignisbezogene Analysen	38
2.7. Statistik	38
<b>3. Resultate</b>	<b>40</b>
3.1. Vorgeschichte der Tiere im vorangegangenen Langzeit- Wahlversuch	40
3.1.1. Langzeit-Wahlphase	40

3.1.2. Erster Retest nach 16-wöchiger Abstinenz	41
3.2. Neue Langzeit-Wahlphase	45
3.3. Alkohol-Entzug und erste Wochen der Abstinenz	55
3.4. Entzugsbegleitende Tests	63
3.4.1. Verhalten vor Beginn des Entzuges	63
3.4.1.1. Bewegungsunruhe und Weg	63
3.4.1.2. Aufrichthandlungen	65
3.4.1.3. Musterbeginn-bezogene Analysen	66
3.4.1.4. Musterende-bezogene Analysen	69
3.4.2. Verhalten über den Entzugsverlauf	72
3.4.2.1. Bewegungsunruhe und Weg	72
3.4.2.2. Aufrichthandlungen	75
3.4.2.3. Musterbeginn-bezogene Analysen	84
3.4.2.4. Musterende-bezogene Analysen	87
3.5. Schmerzschwellentestung	89
3.6. Entzug, Abstinenz und zweiter Retest	91
3.6.1. Verlaufsdaten bis zum zweiten Retest	91
3.6.2. Verlaufsdaten im zweiten Retest mit Alkoholangebot	97
<b>4. Diskussion</b>	<b>104</b>
4.1. Veränderungen des Alkoholeinnahmeverhaltens	104
4.2. Die Wirkung von Alkohol und Memantin im zentralen Nervensystem	121
4.2.1. Alkoholwirkung	121
4.2.2. Memantinwirkung	127
4.3. Auswirkungen von Memantin auf das Trinkverhalten und die circadiane Aktivität (Lokomotion) vor dem Entzug	130
4.4. Auswirkung von Memantin auf das Trinkverhalten und die circadiane Aktivität (Lokomotion) im Entzug und in der Abstinenz	132

4.5. Auswirkung von Memantin auf die erneute Alkoholeinnahme im Retest	140
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>143</b>
<b>6. Literaturverzeichnis</b>	<b>146</b>

## 1. Einleitung

In epidemiologischen Untersuchungen des Bundesministeriums für Gesundheit und anderer bundesweiter Studien wird angegeben, dass etwa 7 - 12% der Bevölkerung lebenslang nie Alkohol trinken (Meyer, C. et John, U., 2003). Der Rest der Bevölkerung, also weit über 80 %, trinkt in unterschiedlichem Ausmaß Alkohol. In Deutschland gibt es nach Angaben der Bundesregierung über 12 Millionen Menschen, welche einen schädlichen oder riskanten Alkoholkonsum betreiben und ca. 1,6 Millionen Menschen (= 2,4% der Wohnbevölkerung ab 18 Jahren) die an einer Alkoholabhängigkeit leiden. Die direkten Kosten alkoholbezogener Krankheiten wurden für das Jahr 2002 auf insgesamt 24,4 Mrd. € geschätzt. Diese Summe entspricht 1,16% des Bruttoinlandsproduktes (Jahrbuch Sucht, Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen, 2000 bis 2009; Jahresbericht der Drogenbeauftragten der Bundesregierung, 2004, 2005 und 2006). Aktuelle Analysen zu alkoholbezogenen Gesundheitsstörungen und Todesfällen gehen von jährlich über 73 000 Todesfällen durch Alkoholkonsum aus. Der Anteil an alkoholbedingten Todesfällen an allen Todesfällen im Alter zwischen 35 und 65 Jahren beträgt bei Männern 25% und bei Frauen 13% (Hanke und John, 2003). Die Zahl der vollstationären Behandlungen in Deutschland, wegen einer psychischen und / oder Verhaltensstörungen durch Alkohol oder einer Intoxikation betrug im Jahr 2006 fast 25.000 Fälle. Das entspricht einer Steigerung von 35,5% gegenüber dem Jahr 2003 (Statistisches Bundesamt, 2005, 2008). Diese Zahlen verdeutlichen die immense Bedeutung der Alkoholabhängigkeit für die Gesellschaft und sprechen dafür, dass Verbesserungen der Therapieoptionen weiterhin dringend notwendig sind.

Die Therapien einer Alkoholabhängigkeit haben sich in den vergangenen Jahrzehnten weiterentwickelt. Immer wieder sind neue Therapiekonzepte hinzugekommen und bestehende verbessert worden, um z. B. einen Rückfall nach erreichter Abstinenz zum schweren oder schwersten Trinken hinaus zu zögern oder ganz zu verhindern. Fast allen diesen Therapien ist gemein: Die Entgiftung mit einer anschließenden Entwöhnung und letztendlich Erhaltung der

Abstinenz. Der erste Schritt, die Entgiftung, ist oft mit einem stationären Aufenthalt in einer dafür vorgesehenen, spezialisierten Abteilung verbunden. Während der 1 - 3 wöchigen körperlichen Entgiftung wird den Patienten der Alkohol entzogen und die auftretenden Entzugssymptome, wie z.B. Kreislaufinstabilität, Übelkeit, Tremor, Schlafstörungen und eventuelle entzugsbedingte Komplikationen (z. B. Krampfanfälle) medikamentös therapiert. Während der Entgiftung wird versucht, die Patienten für eine weiterführende Therapie zu motivieren (Motivationsbehandlung). Sind die Patienten bereit sich weiter behandeln zu lassen, folgt der Entgiftung eine Entwöhnungstherapie, in welcher der Abhängige mit Hilfe verschiedener Psychotherapieverfahren, „anti-craving“ Medikamente und psychosozialer Begleitung (PSB) abstinent bleiben soll und lernen soll einen Rückfall zu vermeiden (Rückfallprophylaxe). Es muss erwähnt werden, dass eine Entgiftung alleine, also ohne eine anschließende Entwöhnungstherapie, für gewöhnlich keine dauerhafte, positive Wirkung auf die Rückfallquote hat (Loeber et al., 2009). Erst die weiterführende Entwöhnung, unterstützt durch eine entsprechende Psychotherapie ohne, oder kombiniert mit einer längerfristigen pharmakologischen Behandlung, ist für eine erfolgreiche Abstinenzhaltung wirksam und reduziert die Trinktage oder die Anzahl der eingenommenen alkoholischen Getränke pro Trinktag (Moyer und Finney, 2002). Für die meisten Suchtmediziner stellt sich eine qualifizierte Entgiftung mit daran anschließender Psychotherapie zur Entwöhnung und Rückfallprophylaxe als die beste Behandlungsoption dar. Ergebnisse der weltweit größten jemals durchgeführten Psychotherapie-Vergleichsstudie (Project MATCH, 1997), in der die "motivational enhancement therapy" (MET) mit der kognitiven Verhaltenstherapie und mit einer, auf der Vorgehensweise der Anonymen Alkoholiker (AA) beruhenden, "12-Stufen" - Therapie (12 step facilitation therapy, TSF) untereinander verglichen wurden, zeigen für alle drei Verfahren eine hohe Wirksamkeit (Brueck und Mann, 2006). In der COMBINE-Studie, in der wesentliche Elemente aus allen drei oben erwähnten Therapieformen zu einem neuen psychotherapeutischen Verfahren kombiniert wurden (Combined Behavioral Intervention, CBI), konnte ebenfalls die Wirksamkeit dieses neuen Behandlungskonzeptes empirisch belegt werden

(COMBINE Study, Anton et al. 2006). Jedoch zeigen diese Studien auch, dass die medikamentöse Therapie mit sogenannten „anti-craving“ Substanzen sowohl in Kombination mit Psychotherapieverfahren als auch alleine wirksam sind (Garbutt et al., 1999; Pelc et al., 2002; COMBINE Study, Anton et al. 2006). Das heißt, die bisherigen zur Verfügung stehenden Medikamente scheinen also, nicht wie vermutet, immer einen zusätzlichen Benefit zu erbringen. Außerdem gibt es in Deutschland nur zwei zugelassene Präparate zur medikamentösen Behandlung einer Sucht. Das ältere der beiden Präparate, Disulfiram ist weit verbreitet, doch gibt es kaum Evidenz-basierte klinische Studien zur langfristigen Effektivität. Serotonerg wirksame Medikamente oder Lithium zeigen nach bisheriger Datenlage wenig Wirksamkeit, können aber bei Patienten mit Komorbidität (z.B. Depressionen) effektiv sein. Der Opiatrezeptor-Antagonist Naltrexon zeigte in mehreren Studien bessere Wirksamkeit auf das craving als Placebo, ist aber in Deutschland noch nicht zugelassen (Garbutt et al., 1999). Erst seit 1996 ist neben den schon lange verwendeten Disulfiram (Antabuse®) ein weiteres Medikament zur Unterstützung, bzw. Erhaltung der Abstinenz nach erfolgter Entgiftung in Deutschland zugelassen worden. Dieses Medikament, Acamprosat (Campral®), zeigte in mehreren Studien gute Wirksamkeit zur Rückfallprophylaxe und Abstinenzhaltung (Paille et al., 1995; Lhuintre et al., 1990; Whitworth et al., 1996; Pelc et al., 2002 [The european NEAT programm] und 1996; Soyka et al., 2002). In der Studie von Pelc und Mitarbeitern zeigte sich, dass Acamprosat in Kombination mit einem Psychotherapieverfahren oder einer psychosozialen Unterstützung, egal um welche Art der Begleittherapie es sich handelte, jeweils gleich gute Effekte erbrachte. Sie weisen darauf hin, dass die Erfolge mit den bisherigen Therapien, sei es pharmakologisch oder psychotherapeutisch oder in Kombination, immer noch nicht hervorragend sind. In der publizierten Zusammenfassung eines Symposiums des ESBRA (European Society for Biochemical Research on Alcoholism) Kongresses in Prag 2003 und in einem Review zur Pharmakotherapie des Alkoholismus von Kranzler wird deutlich, dass es noch Vieles zur Entstehung und Behandlung einer Alkoholabhängigkeit

zu untersuchen und erforschen gibt und unsere bisherigen Möglichkeiten sehr begrenzt sind (Kranzler, 2000).

Der Vollständigkeit halber soll hier auch auf die Möglichkeit des restriktiv reglementierten Trinkens ("kontrollierten Trinkens") als Behandlungsoption einer Alkoholabhängigkeit hingewiesen werden. Obwohl dieser Behandlungsansatz sehr kontrovers diskutiert wird und es nur wenige wissenschaftlichen Studien gibt, welche eine positive Wirkung des kontrollierten Trinkens zum einen auf die Rückfallquote im Sinne eines erneuten Kontrollverlustes bis hin zum schweren Trinken und zum anderen auf die gesundheitlichen Folgeschäden eines zu hohen Alkoholkonsums liefern, wird diese Art der Behandlung sogar über das Internet (z. B. [www.kontrolliertes-trinken.de](http://www.kontrolliertes-trinken.de)) angeboten (Gunzerath et al., 2004). In einer kürzlich erschienenen Studie konnte gezeigt werden, dass so gut wie kein "kontrolliertes Trinken" bei Alkoholabhängigen möglich ist (Bottlender et al., 2007). Nach der gegenwärtigen Datenlage kann man das Behandlungskonzept einer Alkoholabhängigkeit mittels qualifizierter Entgiftung, Abstinenzhaltung und Rückfallprophylaxe als anerkannten und erfolgsoptimierten Standard ansehen.

Im Gegensatz hierzu steht der Behandlung einer Opiatabhängigkeit die Möglichkeit einer Substitution als weiterer Therapieansatz zur Verfügung. Diese Art der Behandlung gibt es in Deutschland seit 1987 und sie hat sich im Laufe der letzten Jahre sogar als die am häufigsten eingesetzte Behandlungsform dieser Erkrankung etabliert. Viele Studien haben die positiven Effekte der Substitution mit Opiatderivaten für die Gesundheit der Betroffenen sowie für die wirtschaftlichen Kosten des Gesundheitswesens belegt (Van den Brink, Haasen, 2006; Gossop, 2003 (NTORS)). Im Jahr 2007 ist die erste deutsche Studie einer diamorphingestützten Behandlung sogenannter Schwerstabhängiger erschienen. In dieser Studie sind Abhängige, die nicht oder nur wenig von einer Methadon Substitution profitieren, über einen Zeitraum von bis zu zwei Jahren mit Heroin behandelt (substituiert) worden. Die bisherigen Ergebnisse liefern Hinweise für eine Verbesserung der physischen

und psychischen Gesundheit und einen Rückgang am Gebrauch von illegal erworbenem Heroin (Haasen et al., 2007).

Die Begründung einer Substitution im Vergleich zu einem abstinenorientierten Vorgehen liegt zum großen Teil in den sehr hohen Rückfallquoten von bis zu 95% nach abgeschlossener Entgiftung, sowie in der geringen Anzahl positiver alternativer Behandlungsmöglichkeiten für Opiatabhängige. In einem 2006 erschienen Artikel zählt Haasen die verschiedenen Behandlungsmöglichkeiten auf. Er nennt die Krisenintervention (kurze stationäre Behandlung zur Stabilisierung des körperlichen und psychischen Zustandes) und die abstinenorientierte Behandlung (Entgiftung und Rückfallprophylaxe) neben der Substitution mit einem Opiatagonisten als einzige mögliche Alternativen (Van den Brink und Haasen, 2006). Amato (2005) untersuchte mit seiner Arbeitsgruppe 52 Studien zu unterschiedlichen Behandlungsoptionen einer Opiatabhängigkeit und konnte zeigen, dass die besten Ergebnisse mit einer Substitution erreicht werden. Weitere Gründe weshalb die Substitution als Therapie eingeführt wurde, waren unter anderem die Hoffnung, den Abhängigen einen Übergang in die Abstinenz zu erleichtern. Diese Hoffnung hat sich aber bis heute nur teilweise erfüllt. Ein sehr wichtiger und aus medizinischer Sicht am besten belegter Grund für die Substitutionstherapie ist sicherlich die Reduzierung der Schäden, die direkt oder indirekt mit der Selbstverabreichung und der kriminellen Beschaffung der Droge zusammen hängen ("harm reduction"). Hierzu zählen die Verhinderung von Infektionen durch den Gebrauch von verschmutztem Injektionsmaterials und die ungewollten Todesfälle durch Überdosierungen oder Verunreinigungen der Droge. Hinzu kommt, dass zur Substitution von Opiaten mehrere Medikamente zur Verfügung stehen, bzw. sogar die Droge selbst dazu benutzt werden kann, da eine nur geringe systemische Toxizität der Reinsubstanz, bzw. anderer Substitute bekannt ist. Länger dauernde neuronale Schädigungen (z.B. eine verminderte Ansprechbarkeit des c-AMP second messenger systems über dopaminerge D1/D5 Rezeptoren) sind jedoch nicht ausgeschlossen und wurden ebenfalls in der Literatur beschrieben (May et al., 1998).

Für die Alkoholabhängigkeit ist die Substitutionstherapie bisher nicht in Betracht gezogen worden, da sich der sehr toxische Alkohol selbst nicht zur Substitution eignet und andere nicht toxische Substitute bisher nicht bekannt sind. Die Erfolgsraten nach einer stationären Entwöhnungsbehandlung mit und ohne pharmakologischer Unterstützung mit einer Abstinenzrate von ca. 50 % nach drei Monaten - wobei mittel- und längerfristig eine stabile Besserung bei nur ca. 30 bis 40 % der Patienten erreicht werden kann (Whitworth et al. 1996) - scheinen auf den ersten Blick positiv zu sein. Doch es gibt auch pessimistischerer Zahlen, die von einer Rückfallquote von bis zu 70 % nach ein bis zwei Jahren ausgehen. Diese Zahlen verdeutlichen den dringenden Bedarf an der Erforschung und Untersuchung neuer Behandlungsverfahren. Um das Therapie-Outcome zu verbessern, richtet sich seit einiger Zeit die Aufmerksamkeit der Wissenschaft auf die pharmakologische Therapie der Alkoholabhängigkeit. Bisher sind nur Medikamente zur Erhaltung der Abstinenz bekannt und in Deutschland zugelassen (s. o.), die eine Reduzierung des Verlangens nach Alkohol („anti-craving“) zum Ziel haben oder die aversiven Wirkungen des Alkohols steigern, wenn das Medikament in Kombination mit Alkohol eingenommen wird. Unter diesen Gesichtspunkten wäre die Erforschung nach Möglichkeiten einer Substitution bei Alkoholabhängigen eine weitere Option in der Optimierung der Therapiealternativen.

Neue Ergebnisse aus einer Studie an einem Tiermodell zur Suchtentstehung liefern Hinweise für eine möglicherweise erfolgreiche Behandlung mit Substituten. So wurde gezeigt, dass Situationen, die zu einer unbefriedigten Alkoholerwartung führen (z.B. Entzug, Selbstbeschränkung, limitierter Zugriff), eine Änderung des Trinkverhaltens bis hin zum Kontrollverlust triggern, bzw. auslösen können (Turyabahika-Thyen und Wolffgramm, 2006; Turyabahika-Thyen et al., in Revision). In diesem Experiment zeigte sich, dass Ratten, die über einen längeren Zeitraum (ca. 40 Wochen) freiwillig Alkohol trinken, ab einem bestimmten Zeitpunkt in einen "kritischen" Zustand kommen, eine Art sensible Phase, vermutlich gesteigerter Neuroplastizität (Wolffgramm et al. 2000, Heyne et al. 2000) in der eine Suchtentstehung begünstigt ist. Zu diesem

Zeitpunkt sprechen sie auf Faktoren an, die vorher wirkungslos waren. Wenn sie während dieser kritischen Phase in eine Situation gebracht werden, in der ein starkes Verlangen nach Alkohol nicht gestillt wird (unbefriedigte Alkoholerwartung), dann findet sich hinterher langfristig ein inflexibles Einnahmemuster, das als Ausdruck einer zwanghaften Komponente anzusehen ist, vor allem die Hinnahme von negativen Begleitumständen des Alkoholkonsums und die Vernachlässigung positiver Alternativen (Everitt B. J. et al. 2001; 2005). Nach diesen Ergebnissen sind zumindest im Tiermodell ein Entzug oder vorübergehende Einnahmebeschränkungen, seien sie fremd- oder selbstbestimmt, mögliche Risikofaktoren für die Entwicklung inflexibler Einnahmemuster und damit eines Kontrollverlustes.

Für den Menschen wird angenommen, dass es fließende Übergänge von einem schädlichen / riskanten Konsum bis zur manifesten Abhängigkeit gibt. In den Lehrbüchern werden verschiedene Stufen des Alkoholkonsums beschrieben. Mögliche soziokulturelle Faktoren, Persönlichkeitsstrukturen, psychiatrische Erkrankungen und einschneidende Ereignisse gelten als Risikofaktoren, die von einem schädlichen Konsum zum abhängigen Trinken führen können. Eines der geforderten Kriterien zur Diagnostik einer Substanzabhängigkeit ist laut WHO (*World Health Organisation*) im ICD-10 (*International Classification of Diseases*) und laut APA (*American Psychiatric Association*) im DSM-IV (*Diagnostic and Statistical Manual*), ein oder mehrere erfolglose Versuche, den Substanzkonsum zu reduzieren oder ganz zu beenden. Unter diesen Gesichtspunkten ist es durchaus vorstellbar, dass eine bestehende Sucht nicht nur durch die erfolglosen Versuche angezeigt wird, sondern diese Versuche selbst zur Entstehung einer Sucht beitragen, indem sie eine unbefriedigte Alkoholerwartung herbeiführen. Sie wären damit ein Risikofaktor zur Suchtentstehung. Selbst eine zur Verbesserung der körperlichen und sozialen Situation dringend notwendige Entgiftung vom Alkohol könnte damit eventuell langfristig riskant sein, weil sie die Flexibilität des Konsumenten gegenüber Alkohol einschränkt.

In bestimmten Situationen und über einen begrenzten Zeitraum hinweg könnte der Risikofaktor einer unbefriedigten Alkoholerwartung durch die Substitution des Alkohols verringert werden. Das Dilemma einer Entscheidung zwischen medizinisch indizierten Alkoholentzug und einer möglichen Förderung zwanghaften Verhaltens ließe sich damit auflösen oder zumindest zeitlich entzerren. Vielleicht ist die Substitution des Alkohols durch eine geeignete nicht-toxische Substanz noch vor einer Entgiftung eine Möglichkeit, diesen Risikofaktor auszuschalten, da der Effekt des Alkohols im zentralen Nervensystem durch das Substitut ersetzt werden könnte.

Die Anforderungen, die ein geeignetes Substitut erfüllen muss, sind:

- eine neuropharmakologisch ähnliche Wirkung, am gleichen Wirkungsort (Hirnareale, Rezeptoren, usw.) wie die zu substituierende Substanz,
- eine möglichst geringe oder keine Toxizität,
- ein möglichst geringes oder kein Suchtpotential
- eine gute Verträglichkeit und
- eine gute pharmakologische Steuerbarkeit.

Zur Klärung, welche Substanz eine ähnliche oder gleiche Wirkung hervorruft oder an denselben Regionen wie das Ethanol im zentralen Nervensystem (ZNS) angreift, ist es hilfreich, sich einen Überblick über die pharmakologischen Wirkungen dieser Substanz zu verschaffen. Die Beeinflussung des mesolimbischen dopaminergen Systems durch den Alkohol spielt hierbei eine entscheidende Rolle (Vengeline et al., 2008). Die durch Ethanol verursachten Veränderungen in diesen Bereichen werden durch die unterschiedliche Beeinflussung verschiedener Neurotransmitter (z. B. Gamma-Aminobuttersäure, Glutamat, Dopamin, Endorphine, Serotonin), Neuropeptide, verschiedener Rezeptoren (GABA, Glutamat, Serotonin, usw.) und Aminosäuren (z. B. Taurin) hervorgerufen. Es gibt zudem Hinweise, dass Ethanol die Membranfluidität zentraler Nervenzellen beeinflusst. Ebenso hat das Stoffwechselprodukt Acetaldehyd selbst, eine zwar noch nicht gänzlich

geklärte, aber immer wieder mit der Abhängigkeit in Verbindung gebrachte Wirkung auf neuronale Vorgänge. Auch wird über eine Verbindung zwischen dem Anstieg von Kondensationsprodukten wie  $\beta$ -Carboline und Tetrahydroisochinoline (TIQ's) bei erhöhtem Alkoholkonsum und einer Abhängigkeit diskutiert. Des Weiteren werden Transkriptionsfaktoren, insbesondere das zyklische Adenosinmonophosphat (cAMP), response-element-binding-Protein (CREP) und  $\Delta$  FosB mit der Entstehung einer Sucht in Verbindung gebracht (Nestler, 2004).

Medikamente, die auf Grund ihrer zentralnervösen Wirkung und anderer Eigenschaften in Frage kommen könnten, sind nicht-kompetitive NMDA-Rezeptor-Antagonisten, wie z. B. Memantin. Memantin beeinflusst die glutamaterge Neurotransmission im ZNS. In der Vergangenheit gab es zudem Hinweise für einen möglichen positiven Nutzen der nicht-kompetitiven NMDA-Rezeptor-Antagonisten in der Behandlung, bzw. Beeinflussung des "craving" für Alkohol (Bisaga et Evans, 2004; Evans et al., 2007). Auch konnte in einer Studie mit Ratten, eine Generalisierung von nicht-kompetitiven NMDA-Rezeptor-Antagonisten im "drug-discrimination-test" mit Alkohol erzeugt werden (Hundt et al., 1998). In dieser Studie wurden Ratten in einem operanten, zwei Hebel-Drogendiskriminierungsverfahren darauf trainiert, nach einer Injektion von entweder 12 % Ethanol oder einer 0,9 % NaCl-Lösung (Saline) den richtigen Hebel zu drücken, um Futter zu bekommen. Nachdem die Ratten gelernt hatten, auf welchen von zwei Hebeln sie drücken müssen, wurden Versuchsdurchgänge mit verschiedenen NMDA-Antagonisten gemacht. Es zeigte sich, dass vor allem die nicht kompetitiven NMDA-Antagonisten, unter anderem Memantin (1-amino-3,5-dimethyl-adamantane), vollständig und dosisabhängig Ethanol ersetzen, also es für diese Substanzen eine Generalisierung für Ethanol gibt. Das heißt, wenn den Ratten anstatt Ethanol Memantin injiziert wurde, haben diese Ratten den gleichen Hebel gedrückt, wie wenn sie Ethanol bekommen hätten. Vor diesem Hintergrund wäre die Gabe von Memantin, über die Phase des Entzuges und einen gewissen Zeitraum der Abstinenz hinweg (Substitution), zur Untersuchung einer möglichen

Beeinflussung des oben erwähnten Risikofaktors (eine unbefriedigte Alkoholerwartung) möglich.

Memantin ist ein nicht-kompetitiver NMDA-Rezeptor-Antagonist mit geringen Nebenwirkungen und guter pharmakologischer Steuerbarkeit. Es wurde unter anderem in dem oben genannten Versuch von Hundt und Mitarbeitern eingesetzt und in mehreren Tierexperimenten konnte gezeigt werden, dass diese Substanz von Ratten gut vertragen wird (Kotlinska, 2001; Sukhanov et al., 2004; Koros et al., 1999; Hölter et al., 1996). Zusammenfassend ergeben sich demnach zahlreiche Hinweise, dass sich durch eine Blockade des NMDA-Rezeptors und einer damit verbundenen glutamatergen Aktivitäts- und Signalverminderung alkoholinduzierte Veränderungen und Verhaltensweisen (Alkoholeinnahme, Rückfall, Craving) modulieren lassen und Memantin möglicherweise, den durch einen Entzug zusätzlich entstehenden Risikofaktor der unbefriedigten Alkoholerwartung minimiert und als Substitut eingesetzt werden kann. Deshalb habe ich diese Substanz verwendet, um an alkoholkonsumierenden Ratten Möglichkeiten einer Alkoholsubstitution zu untersuchen.

Als nächstes muss die Frage nach einem geeigneten Modell zur Überprüfung des Einflusses der Substanz Memantin auf das Trinkverhalten und die Veränderung von einem kontrollierten, flexiblen Alkoholkonsum zu einem unflexiblen, unkontrollierten Konsum, geklärt werden. Will man hierfür Substanzen im Sinne einer präklinischen Untersuchung prüfen, so ist es notwendig, ein geeignetes und validiertes Tiermodell zu nutzen.

In den letzten Jahren haben sich zur Untersuchung und Erforschung der Alkoholabhängigkeit und der Suchtentwicklung drei Tiermodelle besonders ausgezeichnet. Das "reinstatement model" nach Chiamulera (1995), der "alcohol deprivation effect (ADE)" der Arbeitsgruppe um Sinclair (1967) und eine von Spanagel veränderte und in Langzeitexperimenten verwendete Version davon und schließlich das "loss of control model" von Wolffgramm und Heyne. Spanagel beschreibt in einem 2003 erschienen Artikel die Vor- und

Nachteile von Tiermodellen und ihre Aussagekraft auf klinische Studien (Spanagel, 2003). Er gibt in diesem Artikel eine umfassende Beschreibung der drei Modelle wieder. Von den drei genannten Modelle ist eine kritische Phase beim Übergang von flexiblem zu unflexiblem Alkoholeinnahmeverhalten nur im „loss-of-control“-Modell beschrieben worden (Turyabahika-Thyen et al., in Revision). Ich habe mich daher für die Nutzung dieses Modells entschieden.

Im "loss of control" oder "point of no return" Modell sind persistierende Effekte, feststellbar, insbesondere exzessive und unflexible Alkoholeinnahme auch nach monatelanger Abstinenz, und es lassen sich Prozesse der Suchtentwicklung über einen längeren Zeitraum beobachten, beeinflussen und messen. In diesem Tiermodell haben Ratten in ihren Heimkäfigen freien Zugriff auf Wasser und drei unterschiedlich hoch konzentrierte Alkohollösungen (4-Flaschen-Paradigma), wobei die Haltungsbedingungen der Tiere wechseln können. Nach 9-12 Monaten freien Zugriffs, wird den Tieren der Alkohol entzogen. Einer mehrere Monate dauernden Abstinenzphase folgt ein Retest, in dem die Tiere wieder Zugriff auf Alkohol haben. In den letzten Wochen des Retest werden alle Alkohollösungen mit einer aversiven, bitter-schmeckenden Chininlösung versetzt (Vergällung). Der Langzeitverlauf einer freiwilligen Einnahme von Alkohol kann bei einer Ratte nach Wolffgramm und Heyne (1995; 2000) in mehrere Stufen eingeteilt werden. Während der ersten 2 bis 5 Wochen verändert sich das Einnahmemuster von einem zum anderen Tag. Zu Beginn machen die Tiere ihre erste Erfahrung mit dem Alkohol, dabei kann die eingenommene Dosis beträchtlich hin und her schwanken (Phase der ersten Alkoholerfahrungen). Anschließend kommt es zu einem „kontrollierten Konsum“, die Tiere passen ihre eingenommene Dosis den externen und individuellen Faktoren an (soziale Haltungsbedingungen, Stress, soziale Rangordnung). Nach ungefähr 40 bis 50 Wochen zeigen einige der Tiere ein stärkeres Verlangen nach Alkohol. Sie fangen an, die Tagesdosis zu steigern und die oben erwähnten Faktoren verlieren ihren Einfluss auf die Einnahme. Der Übergang vom kontrollierten Konsum zur Phase der Flexibilitätseinbußen schließt offenbar eine kritische Übergangsphase ein (Turyabahika-Thyen et al.,

in Revision). Manche Tiere haben danach die Flexibilität über ihre Alkoholeinnahme dauerhaft verloren oder zeigen zumindest starke Kontrolleinbußen. Sie zeigen abstinenzübergreifende Störungen. Im Retest ist ihr Alkoholeinnahmeverhalten exzessiv und nicht mehr flexibel, d. h. unangenehme Begleiterscheinungen werden in Kauf genommen, sie nehmen trotz des bitteren, aversiven Geschmacks dieser Alkohollösungen weiterhin eine ähnliche Dosis wie vor der Abstinenz zu sich. (Wolffgramm et al., 2000; Heyne et al., 2000). Sie bevorzugen den für sie unangenehm und bitter schmeckenden Alkohol und verschmähen sogar eine für sie besser schmeckende Zuckerlösung. Die Tiere, welche die eingenommene Alkoholdosis reduzieren und das chininfreie Wasser zum Trinken wählen und ihre Alkoholeinnahme den externen und individuellen Faktoren anpassen können, zeigen ein flexibles Trinkverhalten. Sie haben ihre Kontrolle über die Alkoholeinnahme behalten. Kontrolltiere, welche im Retest das erste Mal Alkohol zu trinken bekommen und Tiere, welche den Alkohol zuvor in forcierter Gabe erhielten, zeigen keine Beeinträchtigung in der Flexibilität der Alkoholeinnahme, sie können ihr Trinkverhalten an entsprechende Faktoren anpassen, sie zeigen somit keine Kontrolleinbußen.

Mit dem „loss-of-control“ Modell sind schon mehrfach Wirkungen Rückfallprophylaktischer Pharmaka (Lisurid, Flupentixol, Acamprosat und Naltrexon) auf das Alkoholeinnahmeverhalten von Ratten getestet worden und mit den Ergebnissen einer klinischer Studien verglichen worden. Dabei zeigte das Modell eine perfekte prädiktive Validität, nicht nur für gewünschte Wirkungen (Acamprosat, Naltrexon), sondern auch für unerwünschte Effekte in die Gegenrichtung (Lisurid, Flupentixol) (Wolffgramm et al., 2000). Ein weiterer Vorteil dieses Modells ist die Möglichkeit, den Tieren über einen längeren Zeitraum verschiedene Substanzen gleichzeitig zugänglich zu machen, begleitende Tests ohne größeren Aufwand durchführen zu können und auch zwischendurch das Vorliegen eines unflexiblen, Trinkverhaltens jederzeit überprüfen zu können.

Die Versuchsratten, die mir zur Verfügung standen, hatten bereits im Vorfeld für ein anderes Experiment Alkoholerfahrung gesammelt. Diese Studie nutzte das "loss of control" Modell, um den Einfluss wahleingeschränkter Alkoholverabreichungsmuster auf eine Suchtentwicklung zu prüfen. In einem Retest dieses Versuchs nach monatelanger Abstinenz stellte sich heraus, dass es unter diesen eingeschränkten Wahlmöglichkeiten zu keinen Kontrolleinbußen gekommen war (Turyabahika-Thyen et al., in Revisoin). Es war bereits bekannt, dass für die Suchtentwicklung von Ratten (persistierende Flexibilitätseinbußen) die Freiwilligkeit der Alkoholeinnahme eine entscheidende Rolle spielt (Wolffgramm, 1990). Der vorliegende Versuch diente nun dazu, den Grad der freiwilligen Wahlmöglichkeiten zu variieren. Das Ergebnis zeigte, dass die „Ansprüche“ der Tiere äußerst hoch waren. Bereits kleinste Einschränkungen der freien Wahl blockierten eine Suchtentwicklung. Die von mir übernommenen Versuchstiere zeigten im Retest keine Hinweise für exzessiven und unflexiblen Alkoholkonsum.

Die Tiere sollten sich daher gut für eine Folgestudie eignen, in der sie durch eine weitere Phase des jetzt unbegrenzten freiwilligen Zugriffs auf Alkohol, von einem kontrollierten Konsummuster zu einem Konsum mit beeinträchtiger Flexibilität geführt werden. Es sollte weiterhin möglich sein, bei diesen Tieren den Übergang vom kontrollierten zum unflexiblen, unkontrollierten Konsum durch den Entzug des Alkohols zusätzlich zu beeinflussen und somit möglicherweise die Entstehung unflexibler Konsummuster durch den oben beschriebenen Risikofaktor zu verstärken.

Die Tiere sollten hierzu über mehrere Wochen der freiwilligen Alkoholerfahrung zu dieser kritischen Phase geführt werden. Dann sollte ihnen der Alkohol entzogen werden. Dieser erneute Entzug stellt eine Situation dar, in der das Verlangen nach Alkohol plötzlich nicht mehr befriedigt wird. Begünstigt diese unbefriedigte Alkoholerwartung, wie die oben beschriebene Hypothese eine Suchtentwicklung, so sollte es möglich sein, dies durch eine geeignete Substitution zumindest partiell zu verhindern. Memantin könnte dazu ein geeignetes Substitut sein. Es lässt sich somit folgende Hypothese aufstellen: Memantin soll durch seine antagonistische Wirkung am NMDA-Rezeptor – einer

eventuell ähnlichen Wirkung wie Alkohol – als Substitut eingesetzt werden und die Entstehung eines unflexiblen, unkontrollierten Konsumverhaltens während einer kritischen Phase nach längerer Alkoholwahl durch die nicht befriedigte Alkoholerwartung verhindern.

Damit die Tiere das Memantin jederzeit einsetzen können und die Verabreichung nicht durch z. B. Injektionen zu zusätzlichen Stress für die Tiere führt, wird es der Trinkflüssigkeit zugesetzt. Um zu untersuchen, ob bei gleichzeitiger Einnahme von Memantin und Alkohol weniger oder mehr Alkohol getrunken wird, oder ob Alkohol, bzw. Memantin überhaupt eingenommen wird, wenn beide Substanzen zur Verfügung stehen, wird den Tieren vor dem Entzug zusätzlich Memantin angeboten. Es scheint sinnvoll, verschiedene Angebotssituationen zu erzeugen, bei denen die Ratten entweder das Memantin zwangsweise (forciert) erhalten, oder die Memantin-Einnahme selbst bestimmen können (freie Wahl). Beide Varianten könnten erfolgreich sein, wobei im Fall der freien Wahl das Verlangen nach Alkohol möglicherweise auf Memantin transferiert werden könnte. Bei forcierter Gabe würde dagegen der Hypothese nach das Verlangen nach Alkohol durch die Memantingabe überdeckt. Des Weiteren kann durch eine forcierte und gleichzeitige Verabreichung beider Substanzen verhindert werden, dass es von den Tieren erst eingenommen wird, wenn sie bereits im Entzug sind, bzw. sollten somit sogar Entzugszeichen evtl. ganz vermieden werden können. Andererseits kann durch die Möglichkeit einer freiwilligen Einnahme untersucht werden, ob die Tiere Memantin zur Linderung oder gar Vermeidung von Entzugszeichen einsetzen, wenn ihnen der Alkohol abgesetzt wird. Vereinfachend lässt sich für beide Fälle die Hypothese formulieren, dass Memantin mögliche auftretende psychische oder auch physische Entzugszeichen mindert oder hemmt.

Die üblichen Alkohol-Entzugssymptome dauern bei Ratten ca. 3 - 4 Tage an und hängen vom vorher stattgefundenen Konsum ab (Heyne et al., 2000). Es werden in der Literatur einige Entzugszeichen bei Ratten beschrieben. Hierzu gehören z.B. eine erhöhte Aktivität des autonomen Nervensystems, Veränderungen der Körperhaltung und Motorik, eine vermehrte Lokomotion, eine Übererregbarkeit des zentralen Nervensystems (Becker, 2000). Einen

aussagekräftigen Hinweis auf einen akuten Entzug liefert die Schmerzreaktionsschwelle, welche im Entzug erniedrigt ist (Sprague, 1978; Wolffgramm et Heyne, 1991). Unter der Einnahme von Memantin sollte sich, wenn Memantin die Entzugssymptome verhindert oder lindert, die Schmerzschwelle nicht verändern und sich nur bei den Tieren, die kein Memantin bekommen, erniedrigen. Um diese durch den Entzug oder durch die verschiedenen Memantin-Verabreichungsformen zu erwartenden Veränderungen darstellen zu können, sind die Tiere kurz vor, während des akuten Entzugs und eine Woche danach mit titriertem Fuß-Schock untersucht worden. Es sollte aber beachtet werden, dass der „psychische“ Entzug, also die unerfüllte Gier nach Alkohol, mit den oben beschriebenen körperlichen Entzugserscheinungen weder identisch ist noch notwendigerweise zeitlich parallel verläuft.

Eine weitere Hypothese, die ebenfalls überprüft werden soll, lautet: Das normale circadiane Aktivitätsmuster der Tiere verändert sich nicht unter der Einnahme von Memantin während des Entzugs. Wie oben beschrieben, zeigen Ratten im Entzug oft eine verstärkte (manchmal aber auch reduzierte) Lokomotion und eine Störung der circadianen Aktivität (Rosenwasser et al., 2005; Hölter et al., 2000; Spanagel et al., 1996; vgl. Wolffgramm et Heyne, 1995). Um einen Einfluss des Memantin auf die zu erwartende Änderung der circadianen Aktivität und der lokomotorischen Aktivität während des Entzuges zu untersuchen, werden entzugsbegleitende Tests durchgeführt, welche neben der lokomotorischen Aktivität das circadiane Einnahmemuster der Substanz Memantin, des Alkohols, des Wassers und des Futters erfassen.

Eine Substitution des Alkohols durch Memantin hat zum Ziel nicht nur kurzfristige Effekte, wie auftretende Entzugszeichen des Alkoholkonsums zu beeinflussen, sondern auch langfristige (persistierende) Effekte, wie z. B. das Entstehen einer Kontrollbeeinträchtigung, zu verhindern. Um zu überprüfen, ob es einen Unterschied in Hinblick auf die Kontrollbeeinträchtigung der Alkoholeinnahme macht, wenn die Tiere das Memantin bis zum erneuten Angebot von Alkohol erhalten oder sie es in der Zeit des Entzuges abgesetzt

bekommen, sollte die Substitution unterschiedlich lange dauern. Einige Tiere werden über den gesamten Zeitraum bis zum Wiederbeginn der Alkoholgabe (Retest) substituiert und anderen wird in der Abstinenzzeit das Memantin abgesetzt. Um später mögliche persistierende Flexibilitäts- und Kontrolleinbußen zu testen, folgt im Anschluss an die Abstinenzphase, ein Retest. Hier bekommen die Tiere erneut unbegrenzten Zugriff auf Wasser und die drei Alkohollösungen. Wie oben beschrieben wird nach einiger Zeit der Alkohol mit dem Bitterstoff Chinindihydrochlorid vergällt, um ihn so für die Ratten unattraktiv zu machen und ein unflexibles Einnahmemuster aufzeigen zu können. Die Tiere mit Flexibilitätsverlust entsprechen den Hauptkriterien einer menschlichen Sucht, wohingegen Tiere, die ihren Konsum diesen Veränderungen flexibel anpassen können, ein „kontrolliertes“ Konsummuster aufweisen.

Die Ergebnisse aus diesem Versuch sollten eine Bewertung ermöglichen, ob Memantin als Alkohol-Substitut beim Modelltier Ratte geeignet ist und mit seiner Hilfe unerwünschte kurzfristige (Entzugssymptome) und langfristige (Flexibilitäts- und Kontrollverlust) Folgen eines Alkoholentzuges abgemildert oder sogar verhindert werden können.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Vorgeschichte der Versuchstiere

Die in den vorliegenden Versuch genutzten Tiere nahmen alle zuvor schon an einem Experiment zur Klärung der „Rolle einer freien Wahlmöglichkeit für die Alkoholsuchtentwicklung“ teil (Turyabahika-Thyen et al., in Revision). In dieser durchgeführten Studie sollte untersucht werden, inwiefern das Ausmaß der Möglichkeit einer freien Modulation des Alkoholkonsums, unter forcierten und teilforcierten Bedingungen, das Entstehen einer Alkoholsucht beeinflusst. Hierzu wurden den Tieren einerseits forciert unterschiedliche Alkoholkonzentrationen (aber kein Wasser) angeboten, andererseits der Konzentrationsbereich der Alkohollösungen unter Wahlbedingungen (Wasser und Alkohollösungen) variiert. Des Weiteren wurden die Tiere in unterschiedlichen sozialen Bedingungen gehalten, da nach bisherigen Erfahrungen auch diese eine entscheidende Rolle bei der Entstehung einer Sucht spielen (Wolffgramm und Heyne, 1991; Wolffgramm 1990). Demnach erhielten einige Versuchsgruppen Alkohol im Wechsel forciert und freiwillig und wurden dabei parallel wechselnden Haltungsbedingungen ausgesetzt.

In der Langzeitphase erhielten die Tiere je nach Gruppenzugehörigkeit für 48 Wochen Alkohol bzw. Wasser (Beschreibung der Testgruppen siehe Tab. 01) Dieser ersten Angebotsphase folgte eine 16 wöchige Abstinenzphase, in welcher alle Gruppen nur Wasser zu trinken bekamen. Der anschließende 5 Wochen lang dauernde Retest sollte Aussagen über abstinentübergreifende Auswirkungen einer Langzeit-Alkoholerfahrung erlauben, insbesondere zum Auftreten exzessiver und unflexibler Einnahmemuster. In diesem Retest wurde allen Gruppen bis auf die Totalkontrollgruppe, in den ersten 2 Wochen Wasser sowie eine 5, 10 und 20%-ige Ethanollösung zur freien Wahl und in den letzten 3 Wochen Wasser und geschmacklich vergällte, mit jeweils 0,1 g/l Chininhydrochlorid versetzte Ethanollösungen (5, 10 und 20 vol%) angeboten. Danach wurden die Tiere für weitere 4 Wochen abstinent (Wasser als einzige Trinkflüssigkeit) gehalten und erhielten dann, für 4 Wochen eine 5%-ige

Ethanollösung als einzige Flüssigkeit. Dieses Angebot sollte Aussagen darüber ermöglichen, ob eine zeitlich begrenzte Periode forcierte Einnahme eine Suchtentwicklung hinauszögert oder gar verhindert. Jetzt folgte abermals eine 4 Wochen lange Abstinenzphase an die sich der letzte Retest von insgesamt 4 Wochen (2 Wochen Wasser und Alkohollösungen zu 5, 10 und 20 vol%; 2 Wochen Wasser und vergällte Alkohollösungen) anschloss.

132 männliche Wistar-Ratten (Wistar-Han, Züchter: Tierzucht DIMED Schönwalde GmbH, 16352 Schönwalde; Alter: 5 Wochen; Gewicht: 67 bis 133 g) wurden randomisiert 11 verschiedenen Gruppen von je 12 Tieren zugeordnet.

**Tab.01:** Gruppeneinteilung im ersten Langzeit-Wahlversuch und ersten Retest. Dargestellt sind die Gruppen-Bezeichnungen, die Haltungsbedingungen und das Substanzangebot.

<b>Testgruppe</b>	<b>Anzahl der Tiere</b>	<b>Substanzangebot und Haltungsbedingungen</b>
<b><u>T</u>otal-<u>K</u>ontrollen (TK)</b>	12	Wasser über den gesamten Versuchszeitraum Bis zur 36. Woche alle sechs Wochen Haltungswechsel zwischen Einzel- und Gruppenhaltung, von Woche 37 bis 52 Einzelhaltung
<b><u>R</u>etest-<u>K</u>ontrollen (RK)</b>	12	Wasser als einzige Trinkflüssigkeit über 48 Wochen. Haltungsbedingungen wie bei Gruppe TK
<b><u>F</u>orciert <u>S</u>tandard (FS)</b>	12	5%ige Ethanollösung als einzige Trinkflüssigkeit. Haltungsbedingungen wie bei Gruppe TK
<b><u>F</u>orcierte Verabreichung mit Wahlmöglichkeit (<u>h</u>öher konzentriert) (FH)</b>	12	3 Ethanollösungen (5 / 10 / 20 vol%), kein Wasser. Haltungsbedingungen wie bei Gruppe TK

<b><u>F</u>orcierte Verabreichung mit Wahlmöglichkeit (<u>n</u>iedrig konzentriert) (FN)</b>	12	3 (2,5 / 5 / 10 vol%) kein Wasser. Haltungsbedingungen wie bei Gruppe TK
<b><u>W</u>ahl <u>h</u>öher konzentriert (WH)</b>	12	Wasser und zwei Ethanollösungen (5 %, 10 vol%) Haltungsbedingungen wie bei Gruppe TK
<b><u>W</u>ahl <u>n</u>iedrig konzentriert (WN)</b>	12	Wasser und zwei Ethanollösungen (2,5 %, 5 vol%). Haltungsbedingungen wie bei Gruppe TK
<b>Zeitlich differenzierter Angebotsmodus <u>E</u>inzelhaltung <u>W</u>ahl (EW)</b>	12	In Einzelhaltung Wasser und zwei Ethanollösungen (5 %, 10 vol%) zur Wahl, in Gruppenhaltung forciert 5% Ethanol. Abwechselnd alle 6 Wochen Einzelhaltungs- und Gruppenphasen für die ersten 36 Wochen. Beginn in Einzelhaltung
<b>Zeitlich differenzierter Angebotsmodus <u>G</u>ruppenhaltung <u>f</u>orciert (GF)</b>	12	Wie in Gruppe EW, aber Beginn in Gruppenhaltung
<b>Zeitlich differenzierter Angebotsmodus <u>E</u>inzelhaltung (<u>f</u>orciert) (EF)</b>	12	Flüssigkeitsangebot wie in Gruppe EW, allerdings mit umgekehrter Zuordnung, d.h. Wahl in Gruppe und forciert in Einzelhaltung. Beginn in Einzelhaltung
<b>Zeitlich differenzierter Angebotsmodus <u>G</u>ruppenhaltung (<u>W</u>ahl) (GW)</b>	12	Wie Gruppe EF, jedoch mit Beginn Gruppenhaltung

Nach diesem ersten Langzeit-Versuch waren auf Grund von Erkrankungen und Tumoren 31 Tiere verstorben. Die übrigen 101 Tiere wurden für die im Folgenden beschriebene Studie genutzt.

## **2.2. Haltung der Tiere**

### **2.2.1. Allgemeine Haltungsbedingungen**

Alle Versuche wurden in Übereinstimmung mit den deutschen Tierschutzgesetzen und den Vorgaben des NIH (National Institutes of Health) durchgeführt und vom Bundesministerium genehmigt. Alle Versuchstiere wurden in einem klimatisierten Raum bei gleich bleibender Temperatur (22 °C) und Luftfeuchtigkeit (50 %) mit einem Hell- Dunkelrhythmus von 12 / 12 Stunden (Lichtphase 3 Uhr a.m. bis 15 Uhr p.m., Dunkelphase 15 Uhr p. m bis 3 Uhr a.m.) gehalten.

Während des gesamten Zeitraumes wurden die Tiere entweder in Einzelkäfigen (Makrolonkäfig Typ III, Tecniplast GmbH, Hohenpeißenberg; Größe: 43 x 26 x 15 cm<sup>3</sup>) oder in Gruppenkäfigen (Makrolonkäfig Typ IV, gleicher Hersteller; Größe: 60 x 28 x 20 cm<sup>3</sup>) gehalten. Die Käfigdeckel hatten auf einer Seite einen Aufsatz, damit die Tiere sich problemlos aufrichten konnten und auf der anderen Seite eine Vertiefung, die als Futterraufe genutzt wurde und in welche die Trinkflaschen hineingelegt wurden. Als Trinkflaschen dienten Erlenmeyerkolben verschiedener Größe (50 ml, 150 ml, 200 ml), welche mit einem Gummistopfen, in deren Mitte sich eine Bohrung befand, verschlossen waren. In dieser Bohrung steckte ein Glasröhrchen, welches es den Tieren erlaubte, durch Lecken an der Endöffnung, Flüssigkeit aufzunehmen. Die Tiere hatten Zugang zu den Flüssigkeiten und Futter ad libitum. Als Futter diente Standardhaltungsfutter für Labornager (Altromin 1324, Altromin GmbH, Lage). Um zu gewährleisten, dass die Tiere immer genügend Futter hatten, wurden die Futterraufen der Käfige, bei jedem Umsetzen der Tiere (dienstags und freitags), mit 600 g (Makrolonkäfig Typ IV) oder mit 200 g (Makrolonkäfig Typ III) Futter gefüllt. Diese Menge reichte für mindestens vier Tage aus und wurde während des gesamten Versuches nie aufgebraucht. Die Flüssigkeitsmenge in

den Flaschen wurde täglich kontrolliert und, falls nötig, wieder aufgefüllt. Die Käfige wurden in spezielle, passende Metallständer mit Platz für bis zu 20 Käfige eingehängt. Alle sechs Wochen wurden die Ständer und die Käfigdeckel gewechselt und gereinigt. Die Trinkflaschen wurden alle zwei Wochen ausgewechselt und sonst mit Leitungswasser gespült und neu aufgefüllt. Die Tiere wurden zweimal pro Woche (dienstags und freitags) vormittags in Käfige mit frischer Streu umgesetzt. Eine individuelle Kennzeichnung der Tiere wurde durch eine Markierung am Schwanz (Permanentmarker Edding 3000, Edding Ag, Ahrensberg) erreicht.

### **2.2.2. Gesundheit der Tiere und Ausschlusskriterien**

Da das Alter der Tiere bei Versuchsbeginn bereits etwa zwei Jahre betrug, verschlechterte sich bei einigen Tieren der Gesundheitszustand sehr schnell. Rapide fortschreitender Gewichtsverlust, Paraparesen und solide Tumoren waren die häufigsten Ursachen, weshalb Tiere eingeschläfert wurden. Um keine Verfälschung der erhobenen Daten, durch erkrankte Tiere zu bekommen, wurden Ausschlusskriterien festgelegt. Nach diesen Kriterien wurden Tiere, die einen Gewichtsverlust von 20 g oder mehr pro Woche oder über jeweils 10 g an drei aufeinander folgenden Tagen aufwiesen, einen äußerlich sichtbaren und eindeutig verschlechterten Gesundheitszustand hatten, solide Tumoren oder Paresen der Extremitäten entwickelten, aus dem Versuch heraus genommen und eingeschläfert. Tiere die an Abszessen oder offenen Wunden an den Füßen litten, wurden medikamentös mit desinfizierender Betaisodona-Lösung (Mundipharma GmbH, Limburg) behandelt, bis die Verletzungen abgeheilt waren.

Nach Beendigung des Experimentes (37 Wochen) wurde nachverfolgt, wie viele Tiere an bestimmten Zeitpunkten gelebt haben und wann verstorbene oder kranke Tiere ausgeschlossen wurden. Da am Ende des Versuches nur noch 45 Tiere am Leben waren (ca. 45,5 %), wurden insgesamt drei Zeitpunkte festgelegt, die als eigenständige Abschnitte des Experimentes ausgewertet wurden und für die, jeweils die zu diesem Zeitpunkt lebenden Tiere in die Datenauswertung mit einbezogen wurden. Somit konnten Daten von Tieren, die

am Ende des Versuches nicht mehr lebten, aber z. B. zum Zeitpunkt des Entzuges gesund waren, für die Auswertung dieses bestimmten Zeitraumes genutzt werden. Die Zeitpunkte wurden nach der Anzahl der lebenden Tiere und der Versuchsphase ausgewählt. Es wurden drei Phasen (Zeitpunkte) festgelegt.

Die erste Phase beinhaltete die ersten 18 Wochen der Alkoholwahl. Während dieser Phase waren alle Gruppen den gleichen Bedingungen ausgesetzt. Von den **101** Tieren, die zu Beginn des Versuches zur Verfügung standen, überlebten 86 Tiere die ersten 18 Wochen. Von den 15 verstorbenen Tieren wurden die Daten von 6 Tieren, die bis zur 16. Woche am Leben waren in die Auswertung miteinbezogen. Hierfür wurden die fehlenden Werte der letzten zwei Wochen computergesteuert nach einem im Folgenden beschriebenen Verfahren interpoliert. Demnach wurden für die Auswertung der ersten Phase die Daten von **92** Tieren verwendet.

Die zweite Phase war die Entzugs- und Abstinenzphase. Sie begann drei Wochen vor dem Entzug und dauerte bis zur 26. Woche. In diese Phase sind die Daten von **73** Tieren eingegangen. Von den 86 Tieren in Woche 18 verstarben 13 Tiere innerhalb dieser Phase. Die Daten dieser Tiere wurden nicht in die Auswertung mit aufgenommen.

Der Entzug, die Abstinenzphase und der Retest bildeten zusammen die dritte Phase. Diese Einteilung ermöglichte es, die Daten der bis zum Abschluss des Retest überlebten Tiere, vom Entzug über die Abstinenz bis zum Ende des Versuches auswerten zu können. Bis zum Ende des Versuches überlebten 45 Tiere. Von den 41 innerhalb dieses Zeitraumes verstorbenen Tieren wurden die Daten der 7 Tiere, welche mindestens 1 Woche der Vergällung im Retest mitgemacht hatten, in die Auswertung mit einbezogen, die fehlenden Werte dieser Tiere wurden computergesteuert interpoliert. Demnach gingen Daten von insgesamt **48** Tieren in die Auswertung dieser Phase ein.

Die drei Abschnitte stellten sich wie folgt dar:

- 1. Phase:** die ersten 18 Wochen
- 2. Phase:** von der 19. Woche bis zur 26. Woche
- 3. Phase:** ab der 19. Woche bis zum Ende (37. Woche)

### 2.2.3. Überlebensanalyse

Während des gesamten Zeitraumes des Versuches wurden Todesursache und Zeitpunkt jedes verstorbenen Tieres dokumentiert. Eine Aufstellung der Anzahl der Tiere in den verschiedenen Gruppen und Phasen ist unten in der Tabelle zu sehen (Tab.02).

**Tab.02:** Aufstellung der Anzahl der Tiere (n) in den verschiedenen Gruppen zu den 3 unterschiedlichen Versuchsphasen. **KG:** Kontrollgruppen der ersten Langzeit-Wahlphase; **ZG:** Gruppen der forcierten Alkoholeinnahme; **FG:** Gruppen der freiwilligen Alkoholeinnahme; **WG:** Gruppen mit wechselnden Einnahmebedingungen; **WK:** Wasserkontrollgruppe; **AK:** Alkoholkontrollgruppe; **SF:** Memantin-forciert-Gruppe kurze Gabe (8 Wochen); **SW:** Memantin-freiwillig-Gruppe kurze Gabe (8 Wochen); **ZF:** Memantin-forciert-Gruppe lange Gabe (13 Wochen); **ZW:** Memantin-freiwillig-Gruppe lange Gabe (13 Wochen)

Einteilung in zusammengefasste Gruppen						
	KG	ZG	FG	WG		
Anzahl Tiere (n) in Phase 1	19	25	16	32		
Einteilung in neue Gruppen						
	WK	AK	SF	SW	ZF	ZW
Anzahl Tiere (n) in Phase 2	13	12	11	12	12	13
Anzahl Tiere (n) in Phase 3	10	9	7	9	6	7

#### **2.2.4. Erhebung deraltungsdaten**

Während des gesamten Versuchs wurden Daten des Gewichtsverlaufes, Futter- und Flüssigkeitsverbrauchs ermittelt und aufgezeichnet. Hierfür wurden die Tiere zweimal pro Woche (dienstags und freitags) jeweils am Vormittag gewogen und das Gewicht protokolliert.

Um den Futterverbrauch zu ermitteln, wurde die Differenz zwischen der zur Verfügung gestellten Futtermenge und der am Tag der Messung nachgewogenen Menge berechnet und ebenfalls aufgezeichnet.

Der Flüssigkeitsverbrauch ergab sich ähnlich wie beim Futter, aus der Differenz zwischen dem Gewicht einer frisch gefüllten Flasche (ohne Gummistopfen) und des Gewichtes derselben Flasche am folgenden Mess-Zeitpunkt.

Für die Messungen sowohl der Gewichtswerte als auch der Futter- und Flüssigkeitswerte wurden elektronische Feingewichtswaagen (Typ Mettler-Toledo PB 3002-S und Viper SW3) der Mettler-Toledo GmbH "Laboratory & Weighing Technologies", Greifensee, Schweiz, benutzt.

### **2.3. Substanzangebot**

#### **2.3.1. Wasser**

Die Tiere hatten, sofern nicht ausdrücklich beschrieben (Ausnahme: Memantin-forciert-Phase), immer Zugang zu Wasser, welches ihnen in Erlenmeyerkolben *ad libitum* zur Verfügung stand. Als Trinkwasser wurde normales Leitungswasser benutzt. An jedem Tag, an dem diealtungsdaten erhoben wurden, wurden die Wasserflaschen neu gefüllt.

#### **2.3.2. Alkohol**

In Phasen der freien Alkoholwahl erhielten die Tiere neben Wasser Alkohol in drei verschiedenen Konzentrationen (5 %, 10 % und 20 %). Die Ethanollösungen wurden mit Leitungswasser und 96%igen Ethanol in einer Verdünnungsreihe hergestellt. Da der Verbrauch an 5 %iger Ethanollösung am größten war, wurden die einzelnen Ethanollösungen immer ausgehend von der nächst höheren Konzentration verdünnt. Dies bedeutete, dass zur Herstellung

von 2000 ml 20 %iger Ethanollösung 410 ml 96 %iges Ethanol und 1590 ml Leitungswasser nötig waren. Aus dieser Lösung wurden dementsprechend die anderen Lösungen durch Verdünnen mit gleichen Volumina Leitungswasser hergestellt. Auf die angebotenen Alkohollösungen hatten die Tiere in ihren Heimkäfigen unbegrenzten Zugriff.

Für die mit Chinin versetzten Ethanollösungen, wurde den verschiedenen Konzentrationen Chininhydrochlorid (0,1 g/l) zugegeben. Somit wurde eine für die Tiere unangenehm bitter schmeckende, aber nicht gesundheitsschädliche Lösung hergestellt (Turyabahika-Thyen und Wolffgramm, 2006; Wolffgramm und Heyne 1991; Kiefer et al., 1995; Kiefer, 1995; Bice und Kiefer, 1990). Alle Ethanollösungen wurden spätestens jede zweite Woche neu hergestellt. An jedem Tag, an dem die Haltungsdaten erhoben wurden, wurden die Alkoholflaschen neu gefüllt.

### **2.3.3. Memantin (Memantinhydrochlorid)**

Für die Memantinlösungen in diesem Versuch wurde Leitungswasser mit der Memantinhydrochlorid-Lösung (Auxora 10 mg/g, 150 g Lösung; Merz Pharmaceuticals GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland) vermischt. Das Konzentrationsverhältnis betrug 12,5 ml Memantinhydrochlorid pro 1 l Wasser (125 mg/l). Diese Memantinlösung stand den Tieren ebenfalls in den Erlenmeyerkolben (150 und 200 ml) in ihren Heimkäfigen *ad libitum* zur Verfügung. Die Lösung wurde jede Woche, sofern sie nicht vorher verbraucht war, neu hergestellt. Die Flaschen wurden zu jedem Messzeitpunkt neu gefüllt.

## 2.4. Versuchsgruppen und zeitlicher Versuchsablauf

Aus Praktikabilitätsgründen behielten die Tiere für die ersten 18 Wochen des Versuchs zunächst ihre Gruppen-Bezeichnungen aus dem Vorversuch bei (s.o.). In diesen ersten Wochen waren die Bedingungen für alle Tiere gleich. Alle 101 Tiere bekamen bis zur 18. Woche drei verschiedene Alkohollösungen (5, 10, 20 vol.%) und Wasser in vier Flaschen angeboten. In der 15. Woche wurden für alle Tiere die drei Alkohollösungen mit 0,1 g/l Chininhydrochlorid versetzt, um einen bis dahin möglicherweise eingetretenen Flexibilitätsverlust zu dokumentieren (Vergällungswoche) (Tab.04). Die Tiere waren bis zur siebten Woche in Einzelhaltung, danach für 4 Wochen in Gruppenhaltung und anschließend wieder für weitere 7 Wochen in Einzelhaltung (Tab.04). Da die Tiere in dieser Phase des Versuchs noch die Bezeichnungen und Gruppenzugehörigkeiten des Vorversuches hatten, wurden sie entsprechend dieser in Gruppen eingeteilt. Die Tiere aus der ehemaligen "TK-Versuchsgruppe" wurden nur untereinander in Gruppe gesetzt. Dieses Vorgehen wurde bei allen Tieren und Versuchsgruppen angewandt. Je nach Anzahl an Tieren in den einzelnen Versuchsgruppen, entstanden somit Gruppen zu vier oder zu drei Tieren.

Vor Beginn der 19. Woche wurden die Tiere in neue Versuchsgruppen eingeteilt (Tab.03). Die Einteilung erfolgte sowohl randomisiert als auch balanciert. Zur Balancierung wurden die vorherige Gruppenzugehörigkeit und die eingenommene Alkoholdosis in der "Vergällungswoche" (15. Woche) herangezogen. Jede neue Versuchsgruppe sollte Tiere aus den elf Versuchsgruppen des Vorversuchs und Tiere, die in der Vergällungswoche als "unflexible Trinker" identifiziert wurden, enthalten, um möglichst gleichwertige Gruppen zu bekommen. Als "unflexible Trinker" wurden Tiere bezeichnet, die in der 15. Woche, trotz aversiven Geschmacks des Alkohols („Vergällung“) mehr als 0,7 g/kg/d Ethanol konsumiert haben. Insgesamt erfüllten nur 12 von 92 Tieren dieses Kriterium.

Um zu untersuchen, ob Memantin die Einnahme von Alkohol vermindert oder es zur Beeinflussung von auftretenden Entzugszeichen eingesetzt wird und ob

die Dauer, bzw. die Art der Memantingabe Auswirkungen auf das Trinkverhalten und einen möglichen Flexibilitätsverlust der Einnahme bewirkt, wurden bei der Festlegung der Versuchsgruppen die Memantingabe (freiwillig oder forciert) und die Dauer der Gabe (über die Abstinenz (13 Wochen) oder bis in die Abstinenz (8 Wochen)) berücksichtigt. Nach diesen Vorgaben wurden vier Versuchsgruppen und zwei Kontrollgruppen bestimmt (Tab.03).

Eine dieser Kontrollgruppen, Gruppe **WK**, erhielt über den gesamten Zeitraum der Abstinenz **W**asser als einzige Flüssigkeit. Sie stellte die bisher übliche Behandlungsform der Entgiftung dar, und sollte als Vergleich mit allen anderen Gruppen verwendet werden. Die zweite Kontrollgruppe (**AK**) erhielt über den ganzen Versuchszeitraum **W**asser und die drei verschiedenen **A**lkohollösungen. Diese Gruppe hatte keinen Alkoholentzug und keine Abstinenz.

Die vier anderen Gruppen erhielten Memantin in unterschiedlicher Darreichungsform und Dauer. Es gab zwei Gruppen (**SF**, **ZF**), welche Memantin, während der Abstinenz, forciert bekamen. Sie erhielten also während der Abstinenz als einzige Flüssigkeit die Memantinlösung. Zwei weitere Gruppen (**SW**, **ZW**), die Memantin freiwillig konsumieren konnten, hatten während der Abstinenz die **W**ahl zwischen **W**asser und der Memantinlösung. Alle vier Gruppen erhielten ihre Memantinlösung ab der zweiten Woche vor dem Alkoholentzug, (Wochen 20 und 21) (Tab.04). Den Tieren, welche Memantin forciert bekamen, wurde anstelle der Wasserflasche eine Flasche mit der Memantinlösung angeboten. Die Tiere, die Memantin freiwillig wählen konnten, erhielten die Memantinlösung anstelle des 10 %igen Alkohols. Somit hatten alle Tiere vor dem Entzug jeweils vier Flaschen zur Auswahl. Die überlappende Gabe der Substanz Memantin und des Alkohols sollte es ermöglichen, Aussagen darüber machen zu können, ob eine gleichzeitige Einnahme von Alkohol und Memantin das Trinkverhalten und die eingenommene Alkoholmenge beeinflusst und ob Unterschiede zwischen einer forcierten und einer freiwilligen Einnahme diesbezüglich festzustellen sind.

In der 22. Woche wurde allen Gruppen außer der Kontrollgruppe **AK**, welche keine Abstinenz durchmachen sollte, der Alkohol entzogen. Nach der 27.

Woche wurde je einer Gruppe, die Memantin freiwillig (**SW**) oder forciert (**SZ**) erhielt, die Memantinlösung entzogen (Tab.04). Ab diesem Zeitpunkt erhielten diese beiden Gruppen ebenfalls nur Wasser als einzige Flüssigkeit. Nach der 31. Woche begann der Retest, welcher Aussagen über einen möglichen exzessiven und unflexiblen Konsum ermöglichen sollte (Tab.04). Ab jetzt erhielten alle Tiere, außer den beiden Gruppen (**ZW**, **ZF**), welche Memantin über die gesamte Abstinenz erhielten, wieder die drei verschiedenen Alkohollösungen und Wasser. Die Gruppe mit freiwilliger Memantingabe (**ZW**) erhielt für eine Woche, wie schon in den zwei Wochen vor der Abstinenz, anstatt des 10 %igen Alkohols die Memantinlösung. Die Gruppe mit forcierter Memantingabe (**ZF**) bekam ebenfalls eine Woche lang die Memantinlösung anstatt der Wasserflasche. Ab der 32. Woche hatten wieder alle Tiere die gleichen Bedingungen. In den letzten drei Wochen des Retest (Woche 35 bis 37) wurden die Alkohollösungen mit 0,1 g/l Chininhydrochlorid versetzt, um sie bitterschmeckend und somit aversiv zu machen (Tab.04). Tiere, die trotz dieser „Vergällung“ weiter Alkohol tranken oder ihren Konsum nicht reduzieren konnten, wiesen ein unflexibles Einnahmemuster auf, welches Kontrolleinbußen anzeigte.

Alle Tiere lebten in den Wochen 25 bis 29 in Gruppenhaltung zu drei bis vier Tieren. Eine Woche vor, im und eine Woche nach dem Alkoholentzug wurden entzugsbegleitende Tests durchgeführt (Tab.04). An diesen Tests nahmen alle Tiere aus den Kontrollgruppen (**WK**, **AK**) und alle Tiere aus jeweils einer der Memantingruppen mit freiwilligem Zugriff und der Memantingruppen mit forcierterem Zugriff teil. Da alle vier Memantingruppen in der Zeit der entzugsbegleitenden Tests denselben Bedingungen unterlagen, wurden nur diese zwei Gruppen (**ZW**, **ZF**) untersucht.

**Tab.03:** Gruppeneinteilung ab der 19. Woche. **WK:** Wasserkontrollgruppe; **AK:** Alkoholkontrollgruppe; **SF:** Memantin-forciert-Gruppe kurze Gabe (8 Wochen); **SW:** Memantin-freiwillig-Gruppe kurze Gabe (8 Wochen); **ZF:** Memantin-forciert-Gruppe lange Gabe (13 Wochen); **ZW:** Memantin-freiwillig-Gruppe lange Gabe (13 Wochen).

<b>Gruppenname</b>	<b>Anzahl an Tieren (n)</b>	<b>Substanzangebot in der Abstinenzphase</b>	<b>Dauer der Substanzgabe</b>
<b>AK</b>	12	Alkohol	über die ganze Abstinenz
<b>WK</b>	13	Wasser	über die ganze Abstinenz
<b>SW</b>	12	Memantin (freiwillig) und Wasser	8 Wochen
<b>ZW</b>	13	Memantin (freiwillig) und Wasser	über die ganze Abstinenz (13 Wochen)
<b>SF</b>	11	Memantin (forciert)	8 Wochen
<b>ZF</b>	12	Memantin (forciert)	über die ganze Abstinenz (13 Wochen)

**Tab. 04:** Zeittafel des Versuchsablaufes. **M:** Memantingabe über 8 Wochen (8W) und 13 Wochen (13W), **W:** 4-Flaschenwahl, **E:** Einzelhaltung, **G:** Gruppenhaltung, **V:** Vergällung, **EZ:** Entzug/Abstinenz, **r:** entzugsbegleitende Tests

Wochen	1	2	3	3	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
4 Flaschen-Wahl	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W
Entzug																			
Memantin 8W																			
Memantin 13W																			
Vergällung														V					
Rahmentest																			
Tierhaltung	E	E	E	E	E	E	E	G	G	G	G	E	E	E	E	E	E	E	E

Wahl																		
Wochen	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37
4 Flaschen-Wahl	W	W											W	W	W	W	W	W
Entzug			EZ															
Memantin 8W	M	M	M	M	M	M	M	M										
Memantin 13W	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M					
Vergällung																V	V	V
Rahmentest		r	r	r														
Tierhaltung	E	E	E	E	E	G	G	G	G	G	E	E	E	E	E	E	E	E

Entzug										Retest									
Wahl																			

## 2.5. Entzugsbegleitende Messungen

Die Tiere wurden in zwei verschiedenen Testanordnungen hinsichtlich ihres Verhaltens vor, während und nach dem Entzug untersucht. Zum einen wurde ein sogenannter titrierter Fußschock-Test zur Feststellung der Schmerzschwelle eingesetzt, zum anderen wurden in einem Lichtschrankenmesssystem zirkadiane Aktivitäts-Analysen gemacht. In letzterer Anordnung konnte neben der Aktivität auch das Trinkverhalten der Tiere untersucht werden. Die Tests wurden zu drei unterschiedlichen Zeitpunkten durchgeführt. Der erste Durchgang fand eine Woche vor dem Entzug statt (21. Woche) und diente der Ermittlung von Ausgangswerten. Der zweite Durchgang fand am zweiten Tag des Entzuges statt (22. Woche). Ein dritter Durchgang fand schließlich eine Woche nach Entzug statt (23. Woche) und sollte für die Erhebung von Daten unter Abstinenzbedingungen dienen.

In den Test einbezogen wurden die beiden Kontrollgruppen (**WK**, **AK**) und die zwei Gruppen mit langer Memantingabe (**ZW**, **ZF**). Die restlichen Tiere konnten wegen Kapazitätseinschränkungen (Zahl der verfügbaren Messanordnungen) nicht in die Messungen einbezogen werden.

Da acht Messkammern vorhanden waren, wurden die 54 Tiere (**WK** n=14; **AK** n=13; **ZW** n=13; **ZF** n=14) auf sieben Durchgänge pro Woche verteilt. Um alle Tiere zu den drei oben genannten Zeitpunkten (1 Woche vor, 2 Tage nach und 1 Woche nach Entzug) zu testen, konnten nicht alle Gruppen gleichzeitig in die Versuchsanordnungen gesetzt werden, d. h. der Entzug musste über die genannten Gruppen gestaffelt durchgeführt werden: pro Tag immer acht Tiere, je zwei aus den vier zu untersuchenden Gruppen (**WK**, **AK**, **ZW**, **ZF**). Begonnen wurde mit den entzugsbegleitenden Tests und dem Entzug in der 21. Woche. Die Tiere aus den zwei anderen Gruppen (**SF**, **SZ**) kamen alle gleichzeitig zu Beginn der 22. Woche in den Entzug. Damit eine mehr als zweimalige Belegung einer Versuchskammer durch Tiere derselben Gruppe ausgeschlossen war, wurde die Belegung ausbalanciert und randomisiert.

Die Schmerzschwellen-Testung wurde an denselben Tieren durchgeführt und fand immer an den Tagen statt, an welchem diese Tiere in die Lichtschrankenmesssysteme gesetzt wurden.

### **2.5.1. Titrierter Fußschock**

In dieser Testanordnung sollte die Schmerzschwelle der Tiere anhand ihrer Reaktion auf elektrische Stromstöße gemessen werden. Es ist bekannt, dass die Schmerzschwelle im Fußschock-Test während des Entzuges herabgesetzt ist und nach ein paar Tagen wieder auf das Ausgangsniveau zurückkehrt (Wolffgramm et Heyne, 1991; Heyne et al., 2000). Somit kann die Schmerzschwelle als Hinweis für einen körperlichen Entzug bei den Tieren dienen.

Für diesen Test wurden die Tiere auf ein metallisches Gitter aus Elektroden gesetzt, welches an einen Schockstromgenerator (Marke) angeschlossen war. Computergesteuert wurde die jeweilige Stromstärke in 0,02 mA Schritten erhöht. Es wurde die Stromstärke ermittelt und dokumentiert, bei der die Ratte eine deutlich sichtbare Reaktion, in Form eines Zusammensuckens, eines kleinen Sprungs oder eines Hebens der Vorderbeine zeigte. Es wurde, sobald eine Reaktion der Tiere festzustellen war, die Milliamperezahl notiert und die Stromstärke um die Hälfte zurückgesetzt und wieder in 0,02 mA Schritten gesteigert, um den ersten Wert zu bestätigen. Zeigten die Tiere wieder bei derselben Amperezahl ( $\pm 0,02\text{mA}$ ) eine Reaktion galt der Wert als bestätigt und wurde dokumentiert. Wuch der zweite ermittelte Wert um mehr als 0,02 mA vom ersten Wert ab, so wurde mit diesem Wert dasselbe Procedere wiederholt, bis zwei Werte bestätigt waren.

### **2.5.2. Circadiane Aktivitätsanalysen zur Erfassung des Trinkverhaltens und der Lokomotion (Lichtschrankenmesssystem)**

Jede Messeinheit bestand aus einem quadratischen Plexiglaskäfig, der von zwei ebenfalls quadratischen Rahmen mit Lichtschranken in x- und y-Richtung umgeben war. Die beiden Rahmen befanden sich auf zwei unterschiedlichen Registrierebenen (Infrarot-Lichtgitter: Lucom GmbH, Zirndorf; Software: Terrabit

GmbH, Reutlingen). Mit Hilfe dieses Systems konnten vertikale und horizontale Bewegungen und der jeweilige Aufenthaltsort der Tiere zeitlich und räumlich hoch auflösend (50ms und 0,6 cm) erfasst werden. Die untere Lichtschrankenebene befand sich in 3 cm Höhe, sie diente der Erfassung der horizontalen Bewegungen. Die zweite Infrarot-Lichtschrankenebene war in 12 cm Höhe angebracht und erfasste die vertikalen Aufrichtbewegungen. Jeder Messrahmen war mit je 32 Lichtschranken in x- und y-Richtung ausgestattet. Der Abstand zwischen zwei benachbarten Lichtschranken betrug 1,25 cm. Alle 50 ms erfolgte eine automatische Aufzeichnung der Lichtschrankenvektoren. Unterbrochene Lichtschranken kennzeichneten den „Schatten“ des Tieres auf, die den Lichtschranken gegenüberliegenden Sensorleisten. Dieser „Schatten“ wurde im Akquisitionsrechner gespeichert. Aus ihm wurde in späteren Auswertungen der Körperschwerpunkt errechnet.

Die Ausmaße der Anordnung betrugen 46 cm x 46 cm x 25 cm. Als Boden diente eine herausnehmbare geriffelte PVC-Platte, die vor jedem erneuten Durchgang gereinigt und mit neuer Streu bedeckt wurde. Verschluss wurde die Kammer ebenfalls mit einer Plexiglasplatte. An der Stirnseite der Kammer hatten die Tiere freien Zugriff auf die angebotenen Flüssigkeiten, welche ihnen sonst auch in ihrem Heimkäfig zur Verfügung standen. Die Trinkflaschen befanden sich in jedem Durchgang immer an derselben Stelle. An der Rückseite, im rechten hinteren Eck, war ein Metallgitter in 17 cm Höhe angebracht (5 cm über dem oberen Messrahmen), in diesem befand sich das Futter. Die Trink-Flaschen befanden sich ca. 1 cm über dem oberen Messrahmen, so dass die Tiere sich sowohl zum Essen als auch zum Trinken aufrichten mussten. Anhand der Aufrichthandlungen im Bereich der jeweiligen Flasche oder des Futterkorbes konnte später das individuelle Trink- und Essverhalten abgeschätzt werden. In den Testkammern hatten die Tiere immer freien Zugriff auf Futter und auf die in Abhängigkeit der Testphase zur Verfügung gestellten Flüssigkeiten.

Der Versuchsraum hatte dieselben klimatischen und circadianen Verhältnisse wie der Raum, in dem sich die Heimkäfige der Ratten befanden. Eine Stunde vor Versuchsbeginn wurden die Tiere in den Versuchsraum gebracht. Vor dem

Einsetzen der Tiere wurde der Boden mit soviel Streu bedeckt, dass auch ein zusammengekratzter Streuhaufen nicht die Lichtschranken unterbrechen konnte. Dann wurden zuerst die Futterkörbe (Metallgitter) mit 100 g Futter gefüllt, anschließend wurden die Trinkflaschen aus den Heimkäfigen gewogen und in die Versuchskammern gehängt. Nach einem Testdurchlauf der Lichtschrankenmesssysteme wurden die Tiere um 13 Uhr in die Versuchskammern gesetzt und das Computerprogramm zur automatischen Aufzeichnung gestartet. Die Tiere verblieben 22 h in der Anordnung. Ab der 4. Stunde begann die 12 Stunden dauernde Dunkelphase, d. h. die Phase in der die Tiere aktiv sind. Diese Phase endete nach 15 Stunden, danach folgte nochmals eine 6 Stunden dauernde Hellphase. Die Aufzeichnung endete nach dieser Zeit automatisch. Nach jedem Durchgang wurden die Versuchskammern gereinigt und für den nächsten Durchgang vorbereitet. Die Tiere wurden nach jedem Durchgang, bevor sie wieder in ihre Heimkäfige kamen, gewogen. Auch der Futter und Flüssigkeitsverbrauch wurde durch Abwiegen der Trinkflaschen, bzw. des verbliebenen Restfutters nach jedem Durchgang bestimmt.

## **2.6. Datenverarbeitung**

### **2.6.1. Handlungsdaten**

Wie oben beschrieben, wurde der ganze Versuchszeitraum in drei Phasen aufgeteilt. Durch diese Einteilung wurden in jeder Phase Daten einer unterschiedlich großen Anzahl an Tieren in die Auswertungen einbezogen. Die fehlenden Handlungsdaten der erst spät verstorbenen Tiere, welche noch in die Auswertung mit einbezogen wurden, wurden als Fehlwerte behandelt und nach dem unten beschriebenen Verfahren computergesteuert interpoliert.

Die zweimal wöchentlich erhobenen Flüssigkeits- und Futterwerte sowie die Gewichtsdaten jedes Tieres wurden zu jedem Messzeitpunkt handschriftlich protokolliert und später über eine spezielle Computersoftware in Dateien eingegeben. Mit dem arbeitsgruppeninternen Softwarepaket **ZAMPANO** (Zeitreihen- Analysen, Messwert- Processing, Ausführung Nutzer- gesteuerter

Analysen) wurden die Urdaten auf Fehler überprüft, gegebenenfalls korrigiert und ausgewertet. Das validierte Programm, das auch professionell von dem Forschungsunternehmen medimod genutzt wurde, organisiert, bearbeitet und analysiert Zeitreihendaten und Messwertmatrizen.

Die eingegebenen Urdaten der einzelnen Tiere wurden als erstes einer Plausibilitätsdiagnose unterzogen, um eventuelle Mess- oder Eingabefehler zu erkennen und zu korrigieren. Es wurden die Werte vom Programm erkannt und angezeigt, die überdurchschnittlich zur lokalen Streuung des Datenmaterials beitragen. Diese gekennzeichneten Daten wurden nochmals überprüft und gegebenenfalls korrigiert. Offensichtlich falsche Werte, bei denen eine unmittelbare Rekonstruktion nicht möglich war oder fehlende Werte, wurden als Fehlwerte eingetragen. Danach erfolgte mit Hilfe des Computer-Programmes eine Interpolation aller Fehlwerte auf linearer Basis. Zur Schätzung des zu interpolierenden Wertes wurden die Messwerte vor und nach dem Fehlwert des betroffenen Individuums sowie die Messwerte aller restlichen Tiere aus derselben Gruppe vor, während und nach diesem Fehlwert genutzt. Bei Flüssigkeitswahl bezog die Interpolation neben dem Wert der Einzelflasche auch den Gesamt-Flüssigkeitsverbrauch und, falls anwendbar, die konsumierte Dosis mit ein. Erst wenn dieses Material sowohl als fehlerfrei klassifiziert war, als auch vollständig interpoliert worden war, wurden mit Hilfe einer weiteren Interpolation äquidistante Halbwochenwerte berechnet. Aus diesen ergaben sich dann durch Laufmittelung Wochen- und Zweiwochenwerte. Berechnet wurde das Körpergewicht der Tiere in g, der tägliche Futtermittelverbrauch in g/ Tag, der Gesamtflüssigkeitsverbrauch (Flüssigkeitsverbrauch aus allen Flaschen) in ml/ Tag, die tägliche Alkoholdosis in g/ kg Körpergewicht (KG)/ Tag, der tägliche Memantinverbrauch in mg/ kg KG/ Tag sowie der Anteil der verschiedenen Ethanol Dosen an der Gesamtalkoholdosis in %.

Die Flüssigkeits- und Futtermittelverbrauchswerte aus dem entzugsbegleitenden Test im Lichtschrankenmesssystem wurden nicht gesondert erhoben, da der Verbrauch dieser 22 h aus den Flaschen der Heimkäfige erfolgte und der Flüssigkeits- und Futtermittelverbrauch dort mit eingerechnet wurde.

Die äquidistanten Verläufe der Haltungsdaten in Form von Halbwochen- und Wochenwerten wurden zur weiteren Verarbeitung in Excel (Microsoft Office 2000) übernommen.

### **2.6.2. Fuß-Schock**

Die in der Schmerzschwellentestung mittels elektrischen Fußschocks erhobenen Daten wurden für jedes Tier dokumentiert und anschließend in einer Excel Datei bearbeitet. Es wurden insgesamt drei Werte, entsprechend den drei Durchgängen (vor, im und nach dem Entzug) ausgewertet.

### **2.6.3. Zeitverläufe der circadianen Aktivitätsanalysen**

Die aufgezeichneten Daten aus dem Lichtschrankenmesssystem wurden mit Hilfe der Computersoftware **ZAMPANO** bearbeitet und ausgewertet. Mit Hilfe dieses Programms wurden Zeitverläufe vorgegebener Parameter erstellt. Die ausgewählten Parameter sollten Auskunft über die circadiane lokomotorische Aktivität und das Trinkverhalten der Tiere geben.

Aus den Daten der unteren Lichtschrankenmessrahmen wurden Zeitverläufe für zwei Parameter erstellt und aufgezeichnet: *zurückgelegte Wegstrecke* (Lokomotion) und *Bewegungsunruhe* (kleine stationäre Bewegungen).

Die **zurückgelegte Wegstrecke** wurde gemessen in cm/ min. Dabei wurde um den aktuellen Anfangsaufenthaltort des Tieres ein virtueller „Standortkreis“ mit einem Radius von 5 cm festgelegt. Verließ der Schwerpunkt des Tieres diesen Standortkreis wurde ein neuer Standortkreis definiert und diese Verlagerung als zurückgelegter Weg gewertet. Als **Bewegungsunruhe**, ebenfalls gemessen in cm/ min, wurden alle Bewegungen innerhalb des definierten Standortkreises gewertet. Bewegungsunruhe kann z. B. durch kleine Bewegungen wie Drehen, Putzen und Kratzen entstehen.

Die Daten aus den oberen Lichtschrankenmessrahmen dienten der Erfassung von Aufrichthandlungen, einschließlich der Trink- und Fresshandlungen. Über das Auswertprogramm wurden die Zeitdauer des Aufrichtens und die Anzahl der Aufrichthandlungen ermittelt. Hierfür mussten bestimmte Vorgaben gesetzt werden, über welche eine Aufrichthandlung definiert war. Als Aufrichthandlung

galt das zeitlich kohärente Durchbrechen von Lichtschranken des oberen Messrahmens. Es wurden die minimale Dauer einer Aufrichthandlung und die minimale Pause zwischen zwei Aufrichthandlungen festgelegt, um zu verhindern, dass schon ein kurzes Senken des Kopfes während der Aufrichthandlung als Beendigung oder ein Schwanzschlag selbst als Aufrichthandlung gewertet wurde. Nach Erfahrungen aus anderen Studien wurden die minimale Dauer und das minimale Intervall zwischen zwei Aufrichthandlungen auf jeweils 0,5 s festgelegt. Um Fress- und Trinkhandlungen gesondert erfassen zu können, wurden „Sonderbereiche“ definiert. Diese räumlichen Begrenzungen dieser Bereiche basierten auf den Daten zweier Durchgänge des ersten Zeitpunktes (1 Woche vor dem Entzug). Dazu wurde ein weiteres Programm des **ZAMPANO**-Paketes verwendet. Für jeden räumlichen „Pixel“ (Kombination aus x- und y-Koordinate) wurde auf der oberen Registrierebene die Aufenthaltswahrscheinlichkeit des Tierschattens berechnet. Damit konnte ein räumliches Aufenthaltsmuster des Aufrichtens quantifiziert werden. Die Wahrscheinlichkeit des Aufrichtens war erhöht im Bereich der Käfigecken, unter dem Futterkorb und darum herum, sowie unter den Trinkflaschen. Als Sonderbereich wurden rechteckige Flächen unter den angebotenen Trinkflaschen sowie unter dem Futterkorb definiert. Die Aufenthaltswahrscheinlichkeit sollte dabei innerhalb jedes Sonderbereiches den Zufallswert um das Doppelte übertreffen. Die Sonderbereiche wurden benannt als **„Wasser“** oder **„Memantin freiwillig“**, **„Futter“**, **„5 % Ethanol“**, **„10 % Ethanol“** oder **„Memantin forciert“** und **„20 % Ethanol“**. Erhob sich ein Tier in einem dieser Sonderbereiche so wurde dies als Trinkhandlung oder Fressakt betrachtet. Eine Unterscheidung zwischen echtem Fressen bzw. Trinken und einem bloßen Beschnupfern war nicht möglich. Die Auswertung unterschied acht (teilweise untereinander überlappende) Parameter, wobei für jeden Parameter Zeitverläufe des zeitlichen Anteils und die Anzahl an Aufrichthandlungen berechnet wurden:

1. Generelles Aufrichten (einschließlich Futter und Flüssigkeiten)
2. Aufrichten für beliebige Flüssigkeiten
3. Aufrichten für Wasser oder Memantin (bei forciertem Zugriff)
4. Aufrichten für 5 %-igen Alkohol
5. Aufrichten für 10 %-igen Alkohol oder Memantin (bei freiwilligem Zugriff)
6. Aufrichten für 20 %-igen Alkohol
7. Aufrichten für beliebige Alkohollösungen (5, 10, 20 %) oder (5 und 20%)
8. Aufrichten für Futter

#### **2.6.4. Ereignisbezogene Analysen (Peri-Event-Time-Analysis)**

Zusätzlich zur Berechnung der Zeitverläufe wurden die Zeitreihen der Aufrichthandlungen über ereignisbezogene Analysen ausgewertet (**Peri-Event-Time-Analysis**). Als „Bezugs-Ereignis“ wurde der Beginn oder das Ende einer Aufrichthandlung gewertet. Dieser Beginn (oder bei anderen Fragestellungen das Ende) einer Handlung stellte das Referenz-Ereignis dar. Das Computerprogramm ermittelte, bezogen auf diese **Referenz-Ereignisse** für wechselnde Zeit-Intervalle, wie sich eine vorgegebene Größe (Anzahl eines Focus-Ereignisses oder Zeitanteil eines Verhaltensmusters) in Abhängigkeit vom zeitlichen Abstand zum Referenz-Ereignis ändert. Eine Auswertung die Beginn-bezogen ist, repräsentiert die Dauer eines einmal begonnen Verhaltens, die Ende-bezogenen Auswertungen dessen Wiederkehr.

#### **2.7. Statistik**

Zur Darstellung der beschreibenden Statistik wurden von allen Parametern die Mittelwerte (MW) und Standardfehler des Mittelwertes (SEM) berechnet. Die übliche Darstellung im Text oder den Tabellen und Abbildungen ist  $MW \pm SEM$ , falls nicht ausdrücklich anders gekennzeichnet. Alle Statistik wurde mit dem arbeitsgruppeninternen Software-Programm ZAMPANO berechnet.

Unterschiede mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit erster Ordnung (zweiseitige Testung) von  $p < 0,5$  wurden als signifikant betrachtet,  $p < 0,01$  als hochsignifikant,  $p < 0,001$  höchstsignifikant.

Bei mehrfachen statistischen Analysen können zufällige Signifikanzen auftreten. Dies lässt sich zum Beispiel durch eine Anpassung des Signifikanzniveaus vermeiden (Bonferroni-Korrektur). In diesem Fall wurde jedoch keine Bonferroni-Korrektur angewandt. Demnach sind „falsche“ Signifikanzen durch die vielen Tests nicht auszuschließen und alle Signifikanzen in der Diskussion einer kritischen Plausibilitätsprüfung unterzogen worden.

Der statistischen Prüfung lag immer die Nullhypothese zugrunde, dass zwischen zwei oder mehreren unabhängigen Stichproben (verschiedene Versuchsgruppen) ein Lageunterschied bestand, sich demnach die Mittelwerte nicht voneinander unterschieden. Zur (zweiseitigen) Testung dieser Hypothese wurden je nach Fragestellung verschiedene statistische Testverfahren eingesetzt. Parametrische Tests (an den Original-Messwerten) wurden nur vorgenommen, wenn die folgenden Voraussetzungen erfüllt waren: (1) Normalverteilung der Messwerte, (2) Homogenität der Varianzen zwischen den Stichproben. Zur Überprüfung dieser Voraussetzungen wurde ein Bartlett-Test durchgeführt, der eine Chi-Quadrat-verteilte Prüfgröße berechnete. War diese Prüfgröße signifikant von Null ab, so wurden die Voraussetzungen als nicht erfüllt angesehen.

Falls die parametrische Testung erlaubt war wurden bei zwei Stichproben Student-t-Tests durchgeführt, bei nicht-parametrischen Bedingungen wurde in diesem Fall ein Mann-Whitney-U-Test durchgeführt.

Lagen mehrere Stichproben vor, wurden im ersten Fall (parametrische Testung erlaubt) monofaktorielle Varianzanalysen durchgeführt, ansonsten (nicht parametrische Testung) wurden Kruskali-Wallis-Tests angewandt.

### **3. Resultate**

#### **3.1. Vorgeschichte der Tiere im vorangegangenen Langzeit-Wahlversuch**

##### **3.1.1. Langzeit-Wahlphase**

Über den gesamten Versuchszeitraum von 48 Wochen nehmen alle Gruppen an Gewicht zu. Zu Beginn des Versuchs (Woche 1 bis 3 zusammengefasst) liegen die Mittelwerte zwischen  $397,8 \pm 9,2$  g und  $425,3 \pm 10,9$  g (Mittelwerte + SEM). Am Ende des Versuchszeitraumes (Woche 46 bis 48 zusammengefasst) liegen die Mittelwerte zwischen  $549,9 \pm 18,8$  g und  $574,5 \pm 15,6$  g. Im Schnitt kommt es bei den Tieren zu einer Gewichtszunahme von 154,2 g über die gesamten 48 Wochen.

Der Futtermittelverbrauch der Tiere – über alle Gruppen gemittelt – liegt in den ersten 3 Wochen der Langzeit-Wahlphase bei  $22,4 \pm 1,5$  g/d und am Ende des Versuches bei  $23,7 \pm 1,2$  g/d. Wobei festzustellen ist, dass die Wasser-Kontroll-Gruppe den höchsten Verbrauch hat. Bei den Wahlgruppen, bzw. zu den Zeiten der eingeschränkten Alkoholwahl ist der Futtermittelverbrauch geringer und bei den Gruppen, bzw. zu den Zeiten der forcierten Ethanoleinnahme am niedrigsten. Die eingenommene Futtermenge ist in den Wochen der Gruppen- und Einzelhaltung nicht unterschiedlich.

Die mittlere totale Flüssigkeitseinnahme der Gruppen liegt zu Beginn (Woche 1 bis 3) zwischen  $25,6 \pm 0,9$  ml/d und  $34,3 \pm 2,4$  ml/d und am Ende (Woche 46 bis 48) zwischen  $28,7 \pm 0,9$  ml/d und  $43,9 \pm 3,5$  ml/d. Im Verlauf steigt der Verbrauch bei den Wahlgruppen und den Gruppen der forcierten Ethanoleinnahme an, wobei die Gruppen der forcierten Ethanoleinnahme einen leicht höheren Flüssigkeitsverbrauch aufweisen. Bei den Gruppen der wechselnden Ethanoleinnahme liegt der Verbrauch in den Wochen der forcierten Gabe über dem Verbrauch der Wochen der freiwilligen Gabe. Der forcierte Zugriff auf Alkohol führt zu einem erhöhten Flüssigkeitsverbrauch. Zwischen der Gruppen- oder Einzelhaltung ist kein Unterschied des

Flüssigkeitsverbrauchs zu sehen. Die Haltungsbedingungen haben keinen Einfluss auf den Flüssigkeitsverbrauch.

Die eingenommene Ethanolosis liegt bei den Wahlgruppen **WH** und **WN** zu Beginn bei  $0,5 \pm 0,2$  g/kg KG/d. Die Dosis steigt bei diesen beiden Gruppen im Verlauf an und bleibt ab der 21. Woche für die Gruppe **WH** relativ stabil bei ca. 1 g/kg KG/d und für die Gruppe **WN** bei ca. 1,5 g/kg KG/d. Die Gruppen der forcierten Ethanoleinnahme (**FH**, **FN** und **FS**) zeigen durchweg Werte über 1,5 g/kg KG/d. Die Gruppe **FH** weist als höchsten Wert eine Dosis von  $3,4 \pm 0,2$  g/kg KG/d auf. Die Dosis der Gruppe **FS** erreicht einen Höchstwert von  $2,9 \pm 0,1$  g/kg KG/d und die Gruppe **FN** von  $2,0 \pm 0,2$  g/kg KG/d. Die Gruppen mit wechselnden Zugriffsbedingungen weisen je nach Ethanolangebot und Haltungsbedingung große Unterschiede in den Dosiswerten auf. Die Höchstdosis bei forciertem Zugriff und Gruppenhaltung liegt bei  $3,4 \pm 0,2$  g/kg KG/d, bei eingeschränkter Wahl und Einzelhaltung bei  $1,4 \pm 0,3$  g/kg KG/d. In den Wochen der Gruppenhaltung ist insgesamt eine etwas höhere Dosis als in den Wochen der Einzelhaltung festzustellen. Sowohl die Art des Zugriffs als auch die Haltungsbedingungen haben einen Einfluss auf die eingenommenen Alkoholdosis.

### **3.1.2. Erster Retest nach 16-wöchiger Abstinenz**

Die Haltungsdaten des ersten Retest aus dem „Vorversuch“ werden im Folgenden nur für die vier übergeordneten Gruppen **Wahl** (WH+WN) n=16, **Wechsel** (EW+EF+GW+GF) n=32, **forcierte** Alkoholgabe (FN+FS+FH) n=25, **Kontrollen** (RK+TK) n=19 dargestellt. Im Retest bekommen alle Tiere, nach der 16 Wochen dauernden Abstinenzphase, zusätzlich zum Wasser Ethanol in drei verschiedenen Konzentrationen (5 vol. %, 10 vol. % und 20 vol. %) zur freien Wahl angeboten. Ab der 3. Woche werden alle Alkohollösungen mit 0,1 g/l Chininhydrochlorid versetzt, um den Alkohol für die Tiere bitter schmeckend zu machen und dadurch eine mögliche Inflexibilität über die Alkoholeinnahme zu überprüfen.

Das durchschnittliche Körpergewicht in den einzelnen Gruppen unterscheidet sich nur gering voneinander. Die Tiere der Wahl-Gruppe sind über die gesamten 5 Wochen des Retest die leichtesten (von  $587,1 \pm 7,8$  in der 1. Woche bis  $581,6 \pm 7,4$  in der 5. Woche) und die Tiere der Gruppe „forcierte Gabe“ die schwersten (von  $609,0 \pm 8,9$  in der 1. Woche bis  $592,9 \pm 10,3$  in der 5. Woche), die anderen Gruppen liegen dazwischen. Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind nicht signifikant (**H-Test**: 1. Woche:  $F(3,1) = 0,9$ ;  $H = 2,6$ ; n. s.; 5. Woche:  $F(3,1) = 0,3$ ;  $H = 1,3$ ; n. s.). Alle Gruppen verlieren über die 5 Wochen kontinuierlich an Gewicht, wobei der durchschnittliche Gewichtsverlust bei keiner der Gruppen mehr als 10 g beträgt.

Die Mittelwerte des täglichen Futtermittelsverbrauchs liegen bei allen vier Gruppen in den ersten zwei Wochen des Retest unter den Werten der letzten drei Wochen des Retest. Ab dem Zeitpunkt der Vergällung des Alkohols mit dem Bitterstoff Chininhydrochlorid steigt der Futtermittelsverbrauch an. Die Gruppen nehmen zu Beginn des Retest durchschnittlich  $22,9$  g/d Futter zu sich und am Ende  $24,6$  g/d. Es sind keine Unterschiede im Futtermittelsverbrauch während des Retest zwischen den einzelnen Gruppen festzustellen (**H-Test**: 1. Woche:  $F(3,1) = 0,5$ ;  $H = 1,2$ ; n. s.; 5. Woche:  $F(3,1) = 0,1$ ;  $H = 0,3$ ; n. s.).

Die tägliche Trinkmenge der einzelnen Gruppen liegt in der ersten Woche zwischen  $37,8 \pm 1,5$  ml/d (Wahl-Gruppen) und  $34,3 \pm 1,4$  ml/tag (Kontroll-Gruppen), im Mittel bei  $36,4 \pm 1,4$  ml/d und unterscheidet sich nicht von einander (**H-Test**: 1. Woche:  $F(3,1) = 0,9$ ;  $H = 3,8$ ; n. s.; 5. Woche:  $F(3,1) = 0,3$ ;  $H = 1,1$ ; n. s.). Ab der vierten Woche (Chininvergällung) fällt die totale Trinkmenge wieder etwas ab, wobei die Unterschiede nicht signifikant sind. Den höchsten durchschnittlichen Verbrauch haben die Tiere aus der Wechsel-Gruppe mit  $35,2$  ml/d, den niedrigsten Verbrauch zeigen die Tiere aus der Kontroll-Gruppe mit  $34,2$  ml/d. Die Unterschiede zwischen den vier Gruppen sind zu keinem Zeitpunkt signifikant.

Die Kontroll-Gruppe, diese Tiere hatten zuvor keinen Alkohol zur Verfügung gehabt, trinkt zu Beginn des Retest durchschnittlich etwa  $0,6 \pm 0,1$  g/kg KG/d Ethanol. Die Ethanoldosis fällt ab dem Zeitpunkt der Bitterstoff-Vergällung auf  $0,2$  g/kg KG/d ab und bleibt bis zum Ende des Retest auf diesem niedrigen Niveau (Abb.01). Anders als die Kontroll-Gruppe steigen die bereits alkoholerfahrenen Gruppen nach der Abstinenzphase mit einer höheren Ethanoldosis ein. Aus der Abbildung (01) ist zu sehen, dass die Tiere der Wahl- und der Wechsel-Gruppe mit einem Konsum von  $2,0 \pm 0,2$  bzw.  $1,9 \pm 0,2$  g/kg KG/d beginnen und diese hohe Dosis bis zur Bitterstoff-Vergällung des Alkohols nahezu beibehalten (Abb.01). Sobald die Alkohollösungen bitter schmecken, fällt die Dosis für beide Gruppen auf  $0,3 \pm 0,1$  g/kg KG/d ab und unterscheidet sich nicht mehr von der Dosis der Kontrolltiere. In den weiteren Wochen steigt die Dosis der beiden Gruppen wieder leicht an und erreicht in der 6. Wochen Werte um  $0,5$  g/kg KG/d. Die Gruppen der forcierten Alkoholgabe steigen nach der Abstinenz mit einer durchschnittlichen Dosis von  $1,4 \pm 0,2$  g/kg KG/d ein und fallen in der Woche vor der Vergällung auf eine Dosis von  $1,1 \pm 0,2$  g/kg KG/d ab (Abb. 01). Auch diese Gruppen trinken nach der Vergällung deutlich weniger Alkohol als vorher. Die Dosis beträgt in der ersten „Vergällungswoche“  $0,2 \pm 0,1$  g/kg KG/d und steigt danach leicht auf  $0,4 \pm 0,1$  g/kg KG/d in der letzten Woche des Retest an (Abb. 01). Im Vergleich mit der Kontroll-Gruppe zeigen alle alkoholerfahrenen Gruppen nur in den ersten zwei Wochen nach der Abstinenz eine signifikant höhere Ethanoldosis, danach sind die Unterschiede nicht mehr signifikant (**H-Test:** 1. Woche:  $F(3,1)= 11,3$ ;  $H=30,1$ ;  $p < 0,001$ ; 2. Woche:  $F(3,1)= 12,9$ ;  $H= 30,8$ ;  $p < 0,001$ ). Alle Gruppen passen im Retest ihr Einnahmeverhalten dem bitteren Geschmack an.

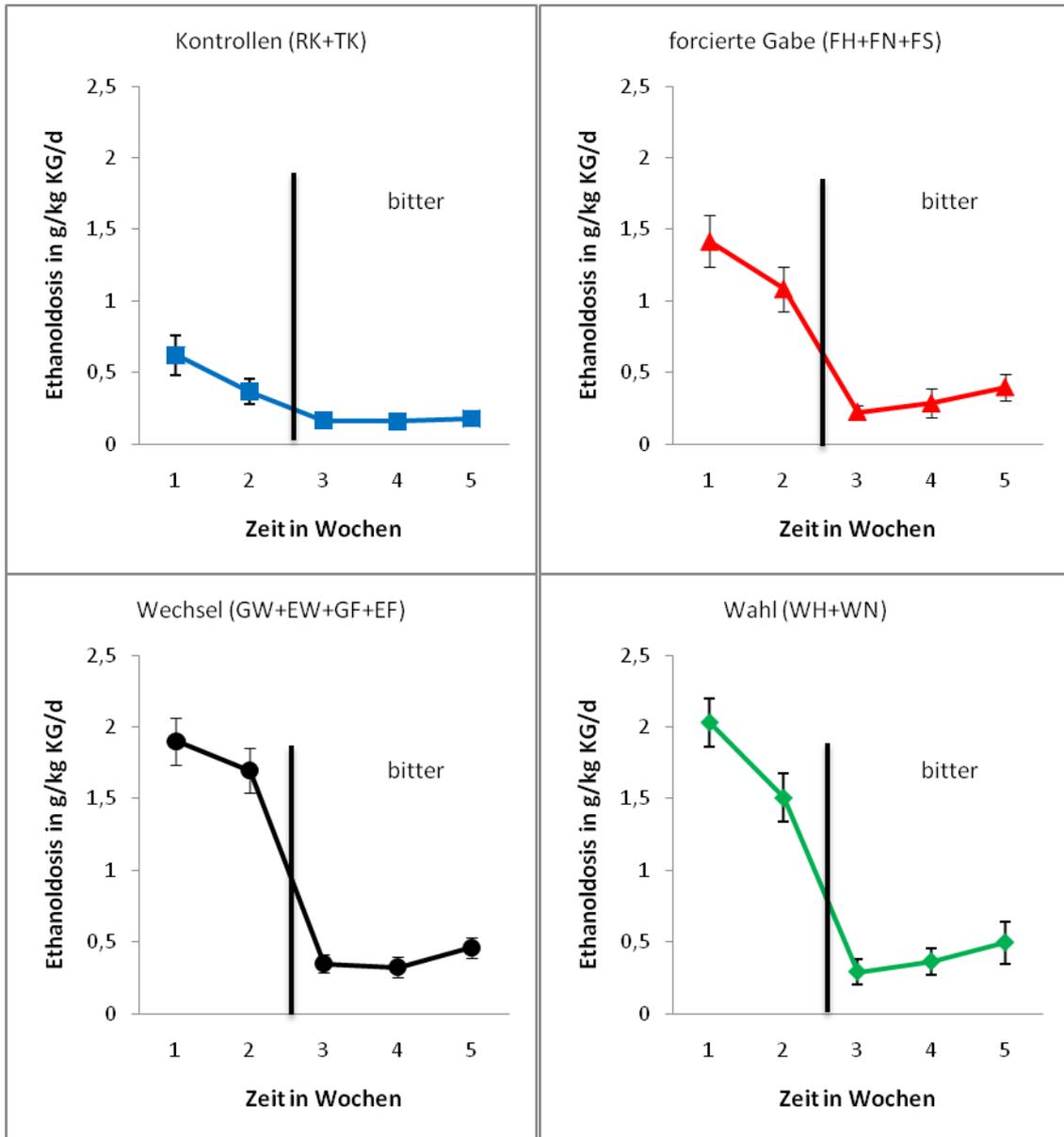


Abb.01: Eingenommene Ethanoldosis über den Verlauf der 5 Wochen des Retest. Alle vier zusammengefassten Gruppen **Wahl** (WH+WN) n=16, **Wechsel** (EW+EF+GW+GF) n=32, **forcierte** Alkoholgabe (FN+FS+FH) n=25, **Kontrollen** (RK+TK) n=19 in Einzeldarstellung. Ab der 3. Woche sind die Alkohollösungen mit 0,1 g/l Chininhydrochlorid versetzt, angezeigt durch den Trennstrich.

### 3.2. Neue Langzeit-Wahlphase

Die neue Langzeit-Wahlphase dauerte 18 Wochen. Die Daten wurden nach den vier übergeordneten Gruppen (siehe letztes Kapitel 3.1.2.) dargestellt. In dieser Versuchsphase haben alle Tiere dieselben Bedingungen. Alle Tiere sind von der 8. bis zur 11. Woche in Gruppenhaltung, ansonsten in Einzelhaltung. In der 15. Woche erhalten alle Tiere mit Chininhydrochlorid vergällte Alkohollösungen, um eine mögliche Inflexibilität des Einnahmeverhaltens erkennen zu können. Als inflexibler Konsum wurde eine Alkoholdosis von 0,7 g/kg Kg/d oder mehr unter Bitterstoffvergällung angenommen (vgl. Wolffgramm et Heyne, 1991). Nach diesen 18 Wochen werden die Tiere in 6 neue Versuchsgruppen eingeteilt. Die Bedingungen für die Tiere ändern sich nicht, sie bleiben weiterhin in Einzelhaltung und alle erhalten Wasser und drei unterschiedliche Alkohollösungen (5 %, 10 % und 20 %vol).

Die Gewichtsentwicklung der Tiere ist über den gesamten Zeitraum der 18 Wochen nicht signifikant unterschiedlich. Alle Gruppen halten in den ersten Wochen ihr durchschnittliches Gewicht um ca. 590 g und nehmen zum Ende der 18 Wochen auf ein Gewicht von ca. 570 g ab (Tab.05).

**Tab.05:** Körpergewicht in g (Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler) in der neuen Langzeit-Wahlphase. Zur besseren Übersicht sind in der Tabelle nicht alle Wochenwerte aufgeführt. **EZ:** Einzelhaltung; **GH:** Gruppenhaltung; **VG:** Bitterstoffvergällung der Alkohollösungen.

	1. Woche (EZ)	5. Woche (EZ)	10. Woche (GH)	13. Woche (EZ)	15. Woche (EZ, VG)	18. Woche (EZ)
<b>Wahl- Gruppen</b>	579,0 $\pm$ 9,2	584,4 $\pm$ 8,8	584,7 $\pm$ 8,7	576,9 $\pm$ 8,6	570,3 $\pm$ 9,2	565,0 $\pm$ 18,9
<b>Wechsel- Gruppen</b>	586,6 $\pm$ 8,8	589,9 $\pm$ 9,2	592,1 $\pm$ 9,6	584,7 $\pm$ 9,9	577,0 $\pm$ 10,5	567,0 $\pm$ 9,0
<b>forcierte Gabe- Gruppen</b>	595,4 $\pm$ 9,4	595,6 $\pm$ 9,1	595,6 $\pm$ 8,5	590,0 $\pm$ 8,2	581,4 $\pm$ 7,9	569,2 $\pm$ 9,7
<b>Kontroll- Gruppen</b>	598,5 $\pm$ 14,0	600,0 $\pm$ 14,3	599,5 $\pm$ 14,5	589,7 $\pm$ 15,4	580,0 $\pm$ 18,8	570,0 $\pm$ 11,4

Der Futterverbrauch der Tiere zeigt ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Es ist aber festzustellen, dass die Kontroll-Gruppen im Durchschnitt etwas mehr Futter zu sich nehmen als die drei anderen Gruppen (Tab. 06). Auch zwischen der Einzel- und der Gruppenhaltung zeigen sich keine Unterschiede im Futterverbrauch. In der 15. Woche (Vergällungswoche) steigt bei allen Tieren der Futterverbrauch etwas an und fällt nach dieser Woche wieder auf den Verbrauch vor der Bitterstoff-Vergällung ab (Tab. 06).

**Tab.06:** Futterverbrauch in g/d (Mittelwerte ± Standardfehler) in der neuen Langzeit-Wahlphase. Zur besseren Übersicht sind in der gezeigten Tabelle nicht alle Wochenwerte aufgeführt. **EZ:** Einzelhaltung; **GH:** Gruppenhaltung; **VG:** Bitterstoffvergällung der Alkohollösungen.

	1. Woche (EZ)	5. Woche (EZ)	10. Woche (GH)	13. Woche (EZ)	15. Woche (EZ, VG)	18. Woche (EZ)
<b>Wahl- Gruppen</b>	23,5 ± 0,5	23,8 ± 0,5	24,7 ± 0,7	22,8 ± 0,4	24,8 ± 0,6	22,6 ± 1,0
<b>Wechsel- Gruppen</b>	23,4 ± 0,5	23,6 ± 0,6	23,6 ± 0,5	22,8 ± 0,5	25,3 ± 0,5	22,2 ± 0,7
<b>forcierte Gabe- Gruppen</b>	24,4 ± 0,4	24,3 ± 0,5	25,2 ± 0,6	23,4 ± 0,5	25,4 ± 0,5	22,9 ± 0,7
<b>Kontroll- Gruppen</b>	25,0 ± 0,6	25,1 ± 0,6	26,4 ± 0,6	23,9 ± 0,5	24,7 ± 0,8	23,3 ± 0,5

Während der 18 Wochen ist die eingenommene Flüssigkeitsmenge der verschiedenen Gruppen nicht signifikant unterschiedlich. Alle Gruppen nehmen zwischen 36 und 42 ml/d zu sich (Tab. 07). Die Menge bleibt auch während der unterschiedlichen Bedingungen (Einzel- und Gruppenhaltung) und der Vergällungswoche stabil.

**Tab.07:** Flüssigkeitsverbrauch in ml/d (Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler) in der neuen Langzeit-Wahlphase. Zur besseren Übersicht sind in der gezeigten Tabelle nicht alle Wochenwerte aufgeführt. **EZ:** Einzelhaltung; **GH:** Gruppenhaltung; **VG:** Bitterstoffvergällung der Alkohollösungen.

	1. Woche (EZ)	5. Woche (EZ)	10. Woche (GH)	13. Woche (EZ)	15. Woche (EZ, VG)	18. Woche (EZ)
<b>Wahl- Gruppen</b>	38,9 $\pm$ 2,0	38,6 $\pm$ 1,9	37,2 $\pm$ 2,5	40,0 $\pm$ 2,2	39,5 $\pm$ 2,3	41,4 $\pm$ 1,8
<b>Wechsel- Gruppen</b>	41,5 $\pm$ 1,5	42,2 $\pm$ 1,6	39,0 $\pm$ 1,6	42,2 $\pm$ 1,6	41,2 $\pm$ 1,4	42,1 $\pm$ 1,7
<b>forcierte Gabe- Gruppen</b>	38,5 $\pm$ 1,9	38,1 $\pm$ 1,7	36,5 $\pm$ 1,7	40,7 $\pm$ 2,2	38,9 $\pm$ 2,0	38,9 $\pm$ 2,5
<b>Kontroll- Gruppen</b>	36,3 $\pm$ 1,4	37,0 $\pm$ 1,6	37,4 $\pm$ 1,6	38,1 $\pm$ 1,8	38,2 $\pm$ 2,1	39,2 $\pm$ 1,4

Die Tiere der Kontroll-Gruppe nehmen in der ersten Woche ca.  $1,0 \pm 0,2$  g/kg KG/d Ethanol zu sich und senken danach ihren Konsum auf  $0,7 \pm 0,2$  g/kg KG/d ab (Abb. 2 bis 4). In den ersten 11 Wochen bleibt die eingenommene Dosis auf diesem Niveau. Auch beim Wechsel von der Einzel- in die Gruppenhaltung (Woche 8) ist die eingenommene Ethanoldosis stabil (Abb. 2 bis 4). Erst nach dem Wechsel von der Gruppen- zurück in die Einzelhaltung (Woche 12) kommt es zu einem Anstieg der Dosis auf  $1,3 \pm 0,2$  g/kg KG/d (Abb. 2 bis 4). In den folgenden zwei Wochen bleibt die Dosis hoch und fällt in der Vergällungswoche (Woche 15) auf einen Wert um  $0,3 \pm 0,1$  g/kg KG/d ab (Abb. 2 bis 4). Nach dieser Woche beginnen die Tiere mit einer bis dahin noch nie erreichten Höchstdosis von  $1,5 \pm 0,2$  g/kg KG/d und behalten diese Dosis im restlichen Verlauf bei. Die Tiere haben nach dem Wechsel aus der Gruppenhaltung und dann nochmals nach der Vergällungswoche ihren Konsum erheblich gesteigert und nahezu das Niveau der anderen Gruppen erreicht. Die Ethanol-Einnahme der Kontroll-Gruppe liegt im Vergleich mit allen anderen Gruppen fast durchweg signifikant niedriger (**H-Test:** Woche 1 bis 15:  $H > 16$ ,  $p < 0,001$ ;  $F(3,1)$  stets  $> 2,7$ ;  $p > 0,001$ ; **post-hoc Vergleich im t-Test:** Kontroll-Gruppe vs. Gruppe forcierte Gabe: außer in Woche 10 und 15  $t(88)$  zwischen 2 und 2,9;

(Signifikanzen siehe Abb.02); **post-hoc Vergleich im t-Test:** Kontroll-Gruppe vs. Wahl-Gruppe: bis Woche 15 t(88) zwischen 2,2 und 3,9 (Signifikanzen siehe Abb.03); **post-hoc Vergleich im t-Test:** Kontroll-Gruppe vs. Wechsel-Gruppe: außer in Woche 15 t(88) zwischen 2,9 und 6,2; (Signifikanzen siehe Abb.04) ). In der Vergällungswoche verschwindet der Unterschied zwischen den Gruppen und in den Wochen danach ist dieser signifikante Unterschied nur noch im Vergleich mit den Tieren der Wechsel-Gruppe festzustellen (Abb. 02 bis 04). Die Tiere aus der Gruppe der „forcierten Gabe“ beginnen in der ersten Woche mit einer Dosis von  $1,7 \pm 0,2$  g/kg KG/d (Abb.02). Danach fällt die Dosis auf Werte um  $1,5 \pm 0,2$  g/kg KG/d ab und bleibt in den folgenden Wochen stabil (Abb.02). Dies entspricht der Dosis, welche die Gruppe in der ersten Langzeit-Wahlphase vor dem ersten Retest eingenommen hatte. In der Gruppenhaltung schwankt die Dosis zwischen Werten von 1,3 bis 1,7 g/kg KG/d. Nach dem Wechsel von Gruppen- in Einzelhaltung steigt die Dosis wie bei den Kontroll-Gruppen auf ein bis dahin noch nicht erreichtes Level von  $2,0 \pm 0,2$  g/kg KG/d und fällt in den darauffolgenden zwei Wochen nicht erheblich ab (Abb.02). In der Vergällungswoche (Woche 15) fällt die Dosis auf  $0,5 \pm 0,1$  g/kg KG/d ab und steigt danach sofort wieder auf  $2,0 \pm 0,2$  g/kg KG/d an (Abb.02).

## Resultate

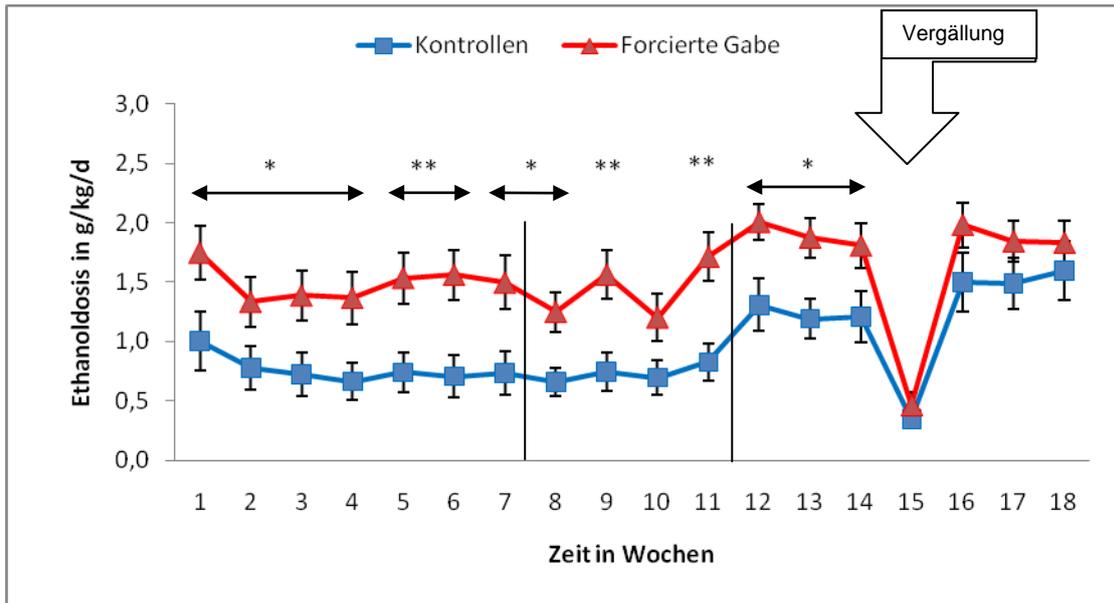


Abb.02: Vergleich der eingenommenen Ethanoldosis (Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler) forcierte Gabe Gruppen (n=25) vs. Kontroll-Gruppen (n=19) über den Verlauf der neuen Langzeit-Wahlphase. In der 15. Woche sind die Alkohollösungen mit 0,1 g/l Chininhydrochlorid versetzt. Die Trennstriche zeigen die Gruppenhaltung an. Signifikanz-Niveau: \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ .

In der Wahl-Gruppe ist die Dosis in der ersten Woche mit  $1,9 \pm 0,2$  g/kg KG/d ebenfalls so hoch wie vor dem Retest der ersten Langzeit-Wahlphase. Die Dosis pendelt in der zweiten und dritten Woche noch zwischen  $2,0 \pm 0,2$  und  $1,7 \pm 0,2$  g/kg KG/d und bleibt dann bis zur Gruppenhaltung stabil auf  $1,7 \pm 0,2$  g/kg KG/d (Abb.03). In der Gruppenhaltung kommt es erneut zu Schwankungen der Dosiswerte von  $1,3 \pm 0,1$  bis  $1,8 \pm 0,2$  g/kg KG/d. Nach der Gruppenhaltung steigt die Dosis wieder auf den Wert von  $2,0 \pm 0,2$  g/kg KG/d der ersten Woche an und fällt in der Vergällungswoche auf  $0,4 \pm 0,1$  g/kg KG/d zurück (Abb.03). Nach der Vergällungswoche steigen die Tiere mit einer Dosis von  $2,1 \pm 0,2$  g/kg KG/d ein und fallen erst nach zwei Wochen wieder auf eine Dosis von  $1,9 \pm 0,2$  g/kg KG/d ab (Abb.03).

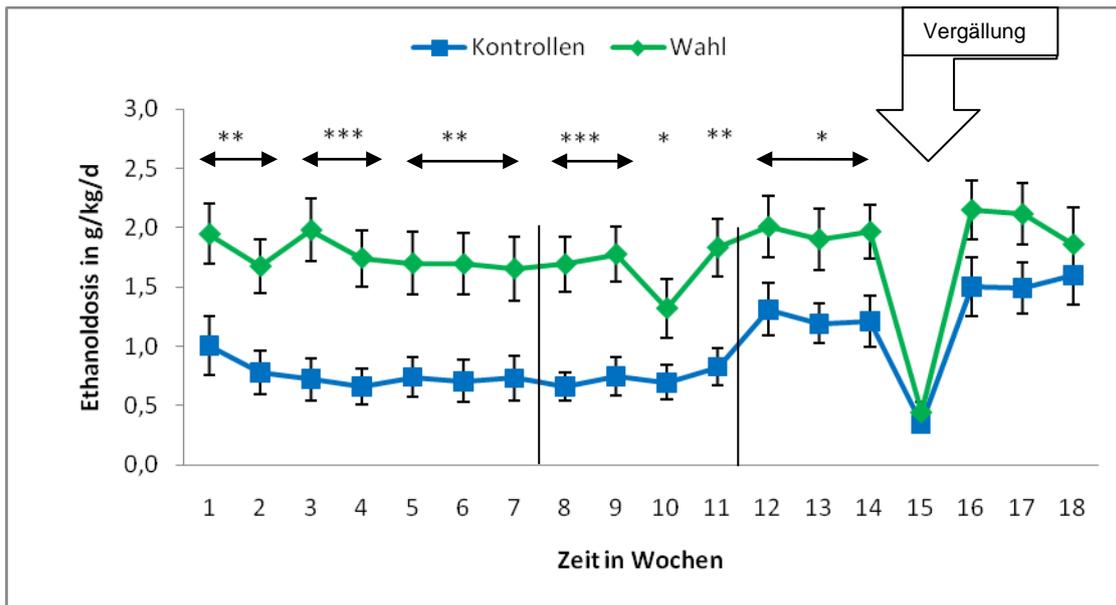


Abb.03: Vergleich der eingenommenen Ethanoldosis (Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler) Wahl-Gruppe (n=16) vs. Kontroll-Gruppen (n=19) über den Verlauf der neuen Langzeit-Wahlphase. In der 15. Woche sind die Alkohollösungen mit 0,1 g/l Chininhydrochlorid versetzt. Die Trennstriche zeigen die Gruppenhaltung an. Signifikanz-Niveau: \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ .

Die Wechsel-Gruppe hat in den ersten Wochen eine Dosis von  $2,3 \pm 0,2$  g/kg KG/d eingenommen und behält diese bis zum Wechsel in die Gruppenhaltung bei (Abb.04). Nach dem Haltungswechsel sinkt die Dosis etwas und schwankt zwischen  $1,8 \pm 0,1$  und  $2,2 \pm 0,2$  g/kg KG/d (Abb.04). Nach dem erneuten Wechsel in Einzelhaltung steigt die Dosis wie bei den anderen Gruppen auf einen bis dahin noch nicht erreichten Wert von  $2,5 \pm 0,2$  g/kg KG/d und bleibt, abgesehen von der Vergällungswoche, auf diesem hohen Niveau (Abb.04). In der Vergällungswoche sinkt die Dosis auf  $0,6 \pm 0,2$  g/kg KG/d ab (Abb.04).

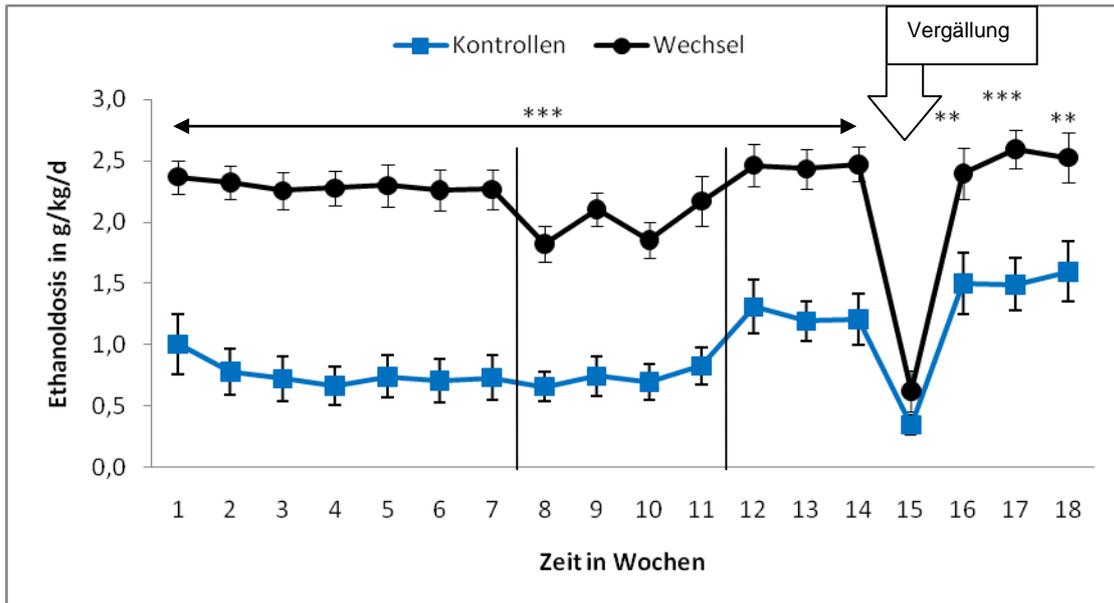


Abb.04: Vergleich der eingenommene Ethanoldosis (Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler) Wechsel-Gruppe (n=32) vs. Kontroll-Gruppe (n=19) über den Verlauf der neuen Langzeit-Wahlphase. In der 15. Woche sind die Alkohollösungen mit 0,1 g/l Chininhydrochlorid versetzt. Die Trennstriche zeigen die Gruppenhaltung an. Signifikanz-Niveau: \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ .

Alle Tiere wurden zu Beginn in Einzelhaltung gehalten und kamen bei gleichbleibenden „Trinkbedingungen“ ab der 15. Halbwoche (8. Woche) in Gruppenhaltung von 3 bis 4 Tieren. Die Gruppenhaltung endete mit der 21. Halbwoche (11. Woche). Danach befanden sich alle Tiere wieder in Einzelhaltung (Abb.05). Betrachtet man diese Wechsel der sozialen Bedingungen genauer, so ist festzustellen, dass beim Wechsel von der Einzel- in die Gruppenhaltung die Ethanoldosis aller Gruppen unter die Ausgangsdosis absinkt und während der Gruppenhaltung wieder auf die Vorwerte ansteigt (Abb.05). Beim Wechsel von der Gruppen- zurück in die Einzelhaltung ist das Gegenteil zu beobachten. Die Ethanoldosis steigt bei allen Gruppen über den Wert vor der Gruppenhaltung (Abb.05). Dieser Dosisanstieg ist bei den Kontroll- und forcierte Gabe-Gruppen am größten. Hier ist ein Anstieg der Dosis von 0,5 g/kg KG/d auszumachen. Bei den beiden anderen Gruppen ist der Anstieg geringer (Abb.05). Demnach nehmen die Tiere beim Wechsel in die Gruppenhaltung weniger Ethanol zu sich als in Einzelhaltung und steigern die Dosis nach einem erneuten Wechsel zurück in Einzelhaltung wieder.

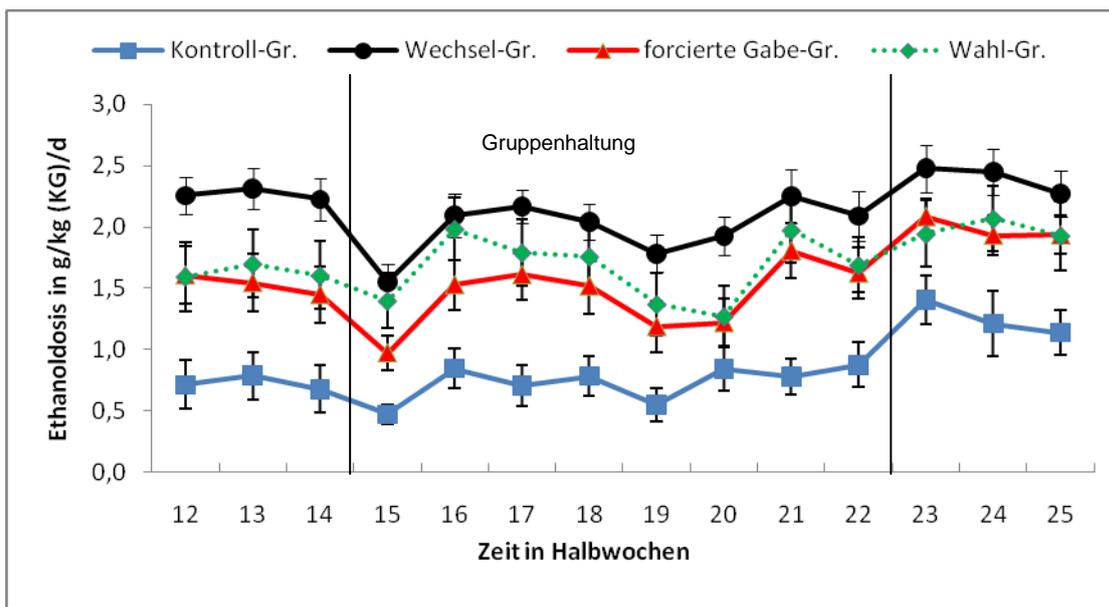


Abb.05: Ethanoldosis (Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler) aller Gruppen (Kontroll-Gruppe n=19; Wechsle-Gruppe n=32; forcierte-Gabe-Gruppe n=25; Wahl-Gruppe n=16) vor, während und nach der Gruppenhaltung, angegeben in Halbwochen. Die Trennstriche markieren die Gruppenhaltung von Halbwoche 15 bis 22.

Die gesamt eingenommene Ethanoldosis setzt sich aus Teildosen der drei verschiedenen Alkohollösungen zusammen. Hieraus lässt sich der Anteil jeder Lösung an der Gesamtdosis errechnen. Betrachtet man die verschiedenen Anteile vor der Gruppenhaltung, so zeigt sich, dass die Kontroll-, forcierte Gabe- und Wahl- Gruppen zu Beginn und bis zum Haltungsverwechsel den größten Anteil ihrer eingenommenen Ethanoldosis aus den 5 % und 20 %igen Ethanollösungen zu etwa gleichen Anteilen zu sich nehmen (Abb.06). Der Anteil der 10 % Lösung macht bei diesen drei Gruppen nur etwa 20 % aus. Bei der Wechsel-Gruppe ist eine andere Zusammensetzung zu beobachten. Diese Gruppe nimmt vor dem ersten Haltungsverwechsel zu 81 % ihre Ethanoldosis aus der 5 % Lösung und zu 13 % aus der 20 % Lösung und zu 6 % aus 10 % Lösung (Abb.06). Dieses Präferenzmuster behält diese Gruppe auch nach dem Wechsel in die Gruppenhaltung bei (Abb.07). Die anderen Gruppen ändern ihre Konzentrationspräferenz und trinken in Gruppenhaltung deutlich weniger von den beiden hochprozentigen Ethanollösungen und steigern den Anteil der 5 % Lösung (Abb.07). Diese veränderte Konzentrationspräferenz bleibt auch nach

einem erneuten Wechsel der Haltungsbedingungen zurück in Einzelhaltung bestehen (Abb.08).

In der Vergällungswoche (Einzelhaltung nach Gruppenhaltung) kommt es nochmal zu einer kurzfristigen Veränderung. Alle vier Gruppen nehmen in dieser Woche etwa 15 % ihrer Dosis aus der 20 % Lösung und zu je ca. 40 % aus den beiden anderen Lösungen zu sich (nicht dargestellt). In dieser Woche sinkt die Dosis bei allen Gruppen unter 1 g/kg KG/d (Abb.02 bis 04). Sofort nachdem der Alkohol nicht mehr mit Chininhydrochlorid versetzt ist, zeigt sich wieder das Präferenzmuster wie vor der Bitterstoff-Vergällung.

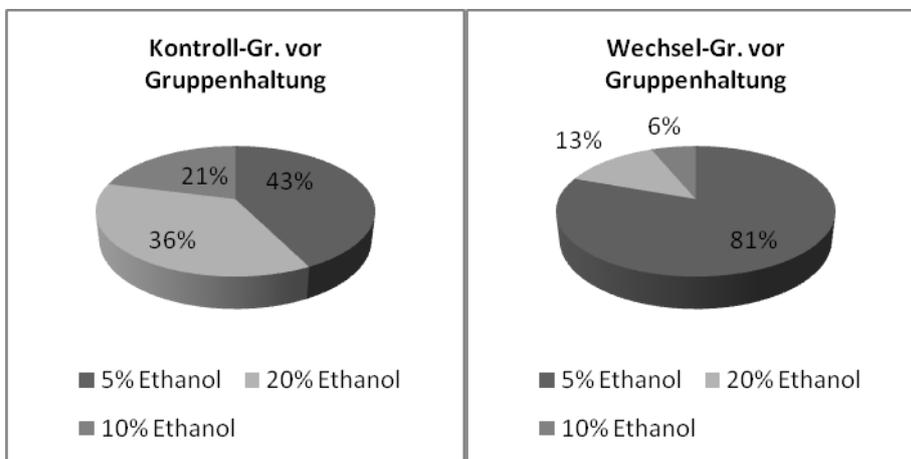


Abb.06: Kuchendiagramm der Konzentrationspräferenz **vor** der Gruppenhaltung. Vergleich Kontroll- (n=19) mit Wechsel-Gruppe (n=32). Prozentualer Anteil der einzelnen Konzentrationen an der Gesamtdosis.

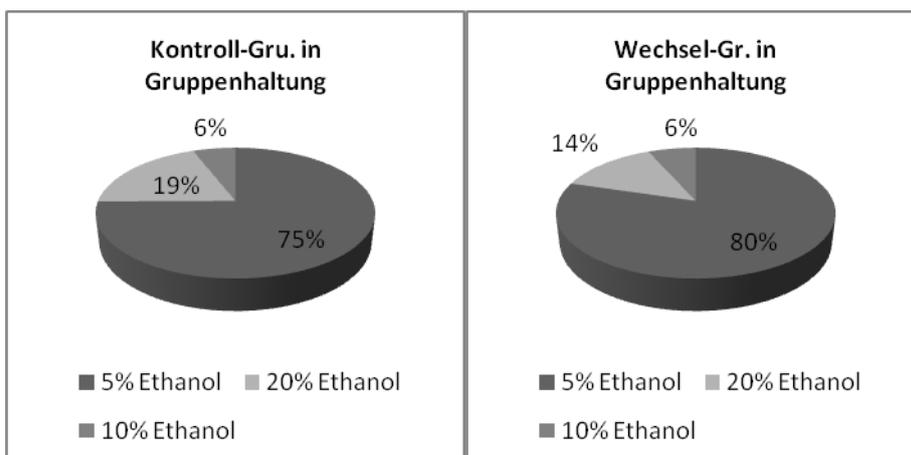


Abb.07: Kuchendiagramm der Konzentrationspräferenz **in** der Gruppenhaltung. Vergleich Kontroll- (n=19) mit Wechsel-Gruppe (n=32). Prozentualer Anteil der einzelnen Konzentrationen an der Gesamtdosis.

## Resultate

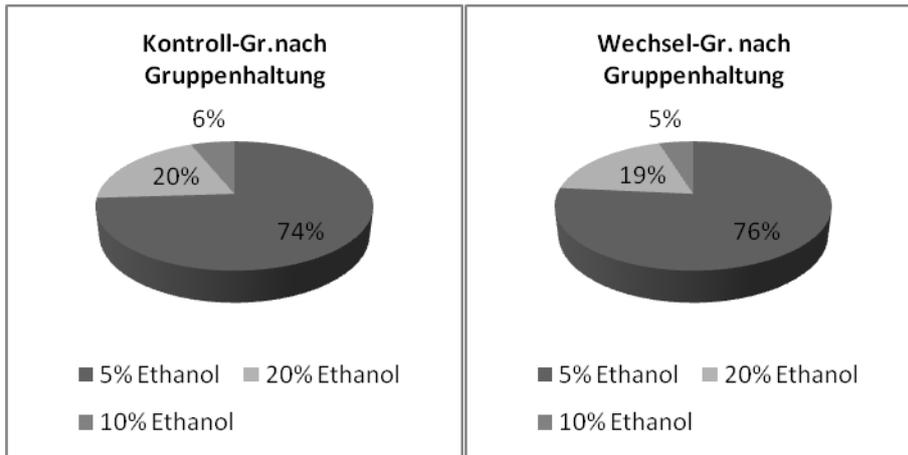


Abb.08: Kuchendiagramm der Konzentrationspräferenz **nach** der Gruppenhaltung. Vergleich Kontroll- (n=19) mit Wechsel-Gruppe (n=32). Prozentualer Anteil der einzelnen Konzentrationen an der Gesamtdosis.

### 3.3. Alkohol-Entzug und erste Wochen der Abstinenz

Ab diesem Ergebnisteil handelt es sich immer um die neu gebildeten Gruppen (siehe Material und Methodenteil, Kapitel 2.4. Versuchsgruppen und zeitlicher Versuchsablauf, Tab. 03).

In der untenstehenden Tabelle (08) sind die Gewichtswerte aller Gruppen über den Zeitraum des Entzuges dargestellt. Die Gewichtswerte der verschiedenen Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant von einander. Bei allen Gruppen ist eine stetige Gewichtsabnahme zu verzeichnen. Nach dem Entzug und in der Abstinenz weist die Alkohol-Kontroll-Gruppe die höchsten Gewichtswerte auf. Dieser Gruppe wurde als einziger Gruppe nicht der Alkohol entzogen. Sie zeigt im Vergleich mit den anderen Gruppen die geringste Gewichtsabnahme (Tab.08).

Tab.08: Gewichtswerte in g vor, im und nach dem Entzug. Aus Praktikabilitätsgründen sind nicht alle Wochenwerte dargestellt.

	20. Woche (vor Entzug)	22. Woche (im Entzug)	24. Woche (nach Entzug)	26. Woche (in Abstinenz)
<b>Wasser-Kontroll- Gruppe</b>	564,2 ± 14	558,2 ± 14,6	552,2 ± 14,4	543,3 ± 14,1
<b>Alkohol-Kontroll- Gruppe</b>	575,4 ± 15,8	570,0 ± 16,3	563,5 ± 17,2	556,9 ± 18,3
<b>Memantin-forciert (beide Gruppen)</b>	581,4 ± 8,4	570,7 ± 7,5	556,9 ± 7,3	551,8 ± 7,8
<b>Memantin-freiwillig (beide Gruppen)</b>	575,1 ± 9,9	567,7 ± 9,6	563,1 ± 9,6	555,7 ± 9,9

Der Futterverbrauch liegt bei allen Gruppen vor dem Entzug bei 22 g/d (Wasser-Kontroll-Gruppe) bis 23 g/d (Memantin-forciert-Gruppe) und unterscheidet sich kaum von einander. In der Abbildung (Abb.09) ist der Vergleich zwischen der Alkohol-Kontroll- und der Wasser-Kontroll-Gruppe dargestellt. In der 22. Woche steigt der Futterverbrauch der Gruppen, welche ab jetzt den Alkohol entzogen bekommen, auf Werte um 26 g/d an. Der

Unterschied zwischen diesen Gruppen und der Alkohol-Kontroll-Gruppe ist nicht signifikant (Abb.09). Beim Wechsel von Einzel- in Gruppenhaltung fällt der Futterverbrauch bei den abstinenten Gruppen leicht ab und steigt eine Woche später auf Werte von über 26 g/d stark an (Abb.09). Der Futterverbrauch der Alkoholkontrollen hingegen bleibt über den gesamten Zeitraum etwa gleich hoch, wobei auch hier ein leichter Anstieg in der zweiten Woche der Gruppenhaltung zu sehen ist (Abb.09).

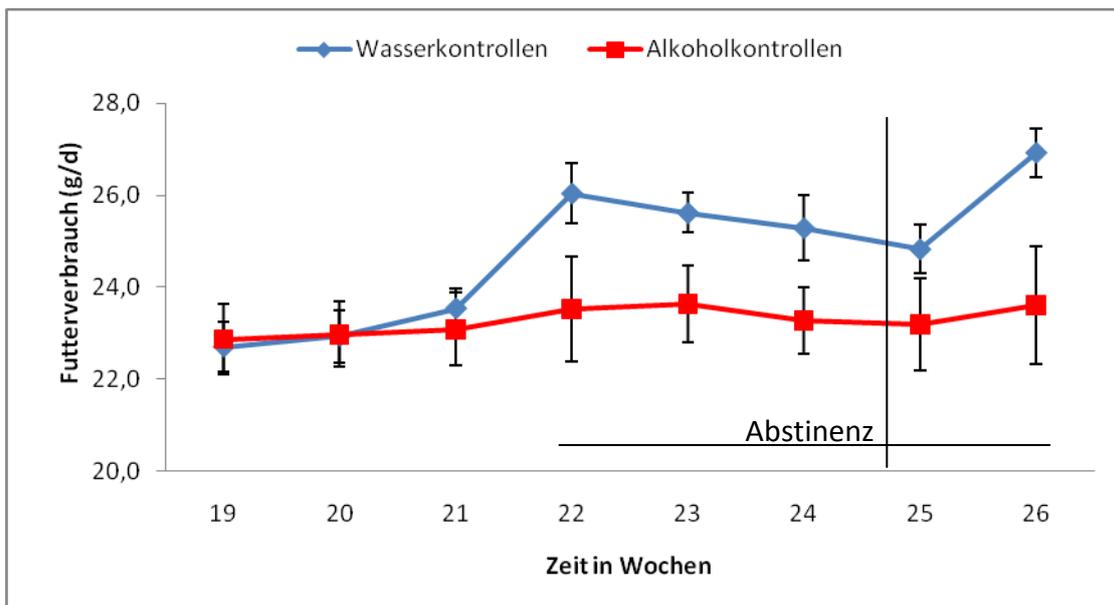


Abb.09: Futterverbrauch in g/d vor, im und nach dem Entzug (Woche 19 bis 26) der Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=12) und der Wasser-Kontroll-Gruppe (n=13). Der vertikale Trennstrich zwischen der 24. und 25. Woche zeigt den Beginn der Gruppenphase an. Der horizontale Strich gibt den Zeitraum der Abstinenz an.

Alle Gruppen verbrauchen vor dem Entzug etwa gleichviel Flüssigkeit (Abb.10 bis 12). Der durchschnittliche Verbrauch liegt bei 38,8 ml/d. Die eingenommene Flüssigkeitsmenge unterscheidet sich nach dem Entzug des Alkohols in der 22. und 23. Woche zwischen den Memantin-forciert-Gruppen und der Alkohol-Kontroll-Gruppe signifikant (**H-Test**: 22. Woche:  $H= 11$ ;  $p< 0,05$ ; 23. Woche:  $H= 8,1$   $p< 0,05$ ; **post-hoc Vergleich im t-Test**: 22. Woche:  $t(69)= 2,4$ ;  $p< 0,05$ ; 23. Woche:  $t(69)= 2,4$ ;  $p< 0,05$ ) (Abb.11). Die Memantin-forciert-Gruppen verringern ab dem Entzug ihren Flüssigkeitsverbrauch um fast 10 ml/d. Erst nach 3 Wochen gleicht sich der Verbrauch wieder an den der anderen Gruppen

an (Abb.11). Die beiden anderen Gruppen, denen der Alkohol entzogen wird, verringern kurz nach dem Entzug etwas den Flüssigkeitsverbrauch und steigern ihn danach wieder (Abb.10 und 12). Die eingenommene Flüssigkeitsmenge unterscheidet sich nicht signifikant zu der der Alkohol-Kontroll-Gruppe (Abb.10 und 12).

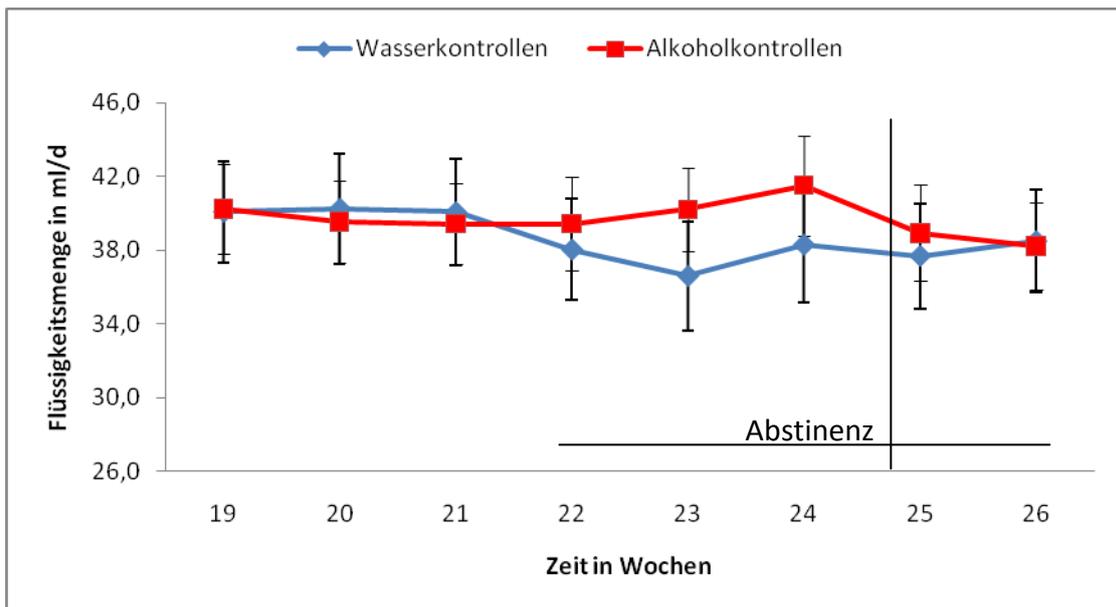


Abb.10: Totale Flüssigkeitsmenge in ml/d kurz vor, im und nach dem Entzug (Woche 19 bis 26) der Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=12) und der Wasser-Kontroll-Gruppe (n=13). Der vertikale Trennstrich zwischen der 24. und 25. Woche zeigt den Beginn der Gruppenphase an. Der horizontale Strich gibt den Zeitraum der Abstinenz an.

## Resultate

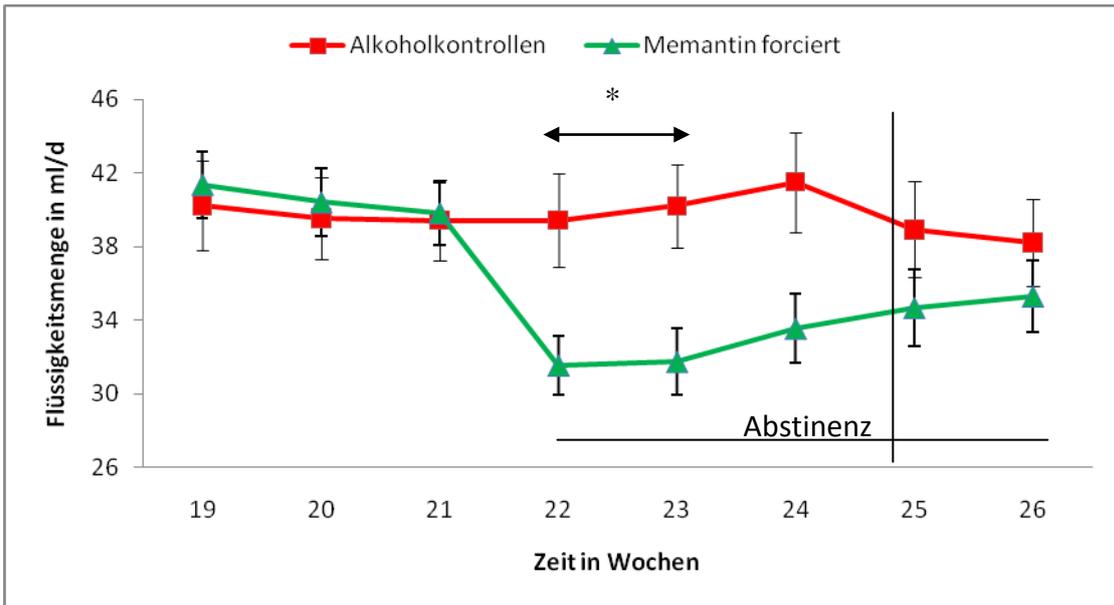


Abb.11: Totale Flüssigkeitseinnahme aller Gruppen kurz vor, im und nach dem Entzug (Woche 19 bis 26) der Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=12) und der Memantin-forciert-Gruppe (n=23). (\*p<0,05; siehe Text). Der vertikale Trennstrich zwischen der 24. und 25. Woche zeigt den Beginn der Gruppenphase an. Der horizontale Strich gibt den Zeitraum der Abstinenz an.

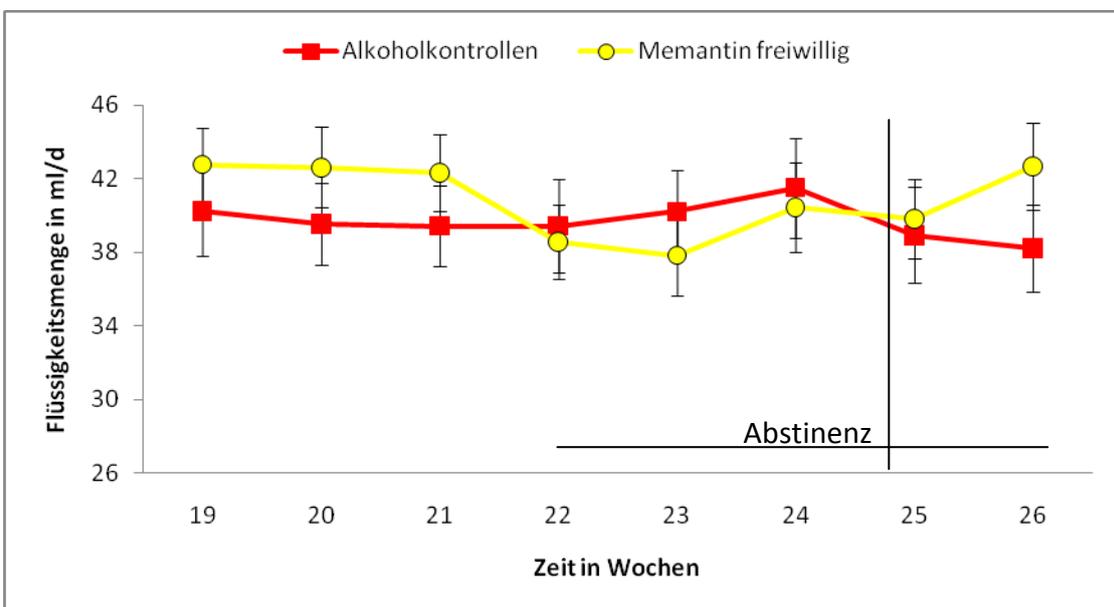


Abb.12: Totale Flüssigkeitseinnahme aller Gruppen kurz vor, im und nach dem Entzug (Woche 19 bis 26) der Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=12) und der Memantin-freiwillig-Gruppe (n=25). Der vertikale Trennstrich zwischen der 24. und 25. Woche zeigt den Beginn der Gruppenphase an. Der horizontale Strich gibt den Zeitraum der Abstinenz an.

Die Ethanoldosen der vier Gruppen zeigen in der 19. Woche keinen signifikanten Unterschied (Abb.13). Die Wasser-Kontroll-Gruppe hat eine Dosis von  $1,9 \pm 0,3$  g/kg KG/d, die Alkohol-Kontroll-Gruppe und die Memantin-freiwillig-Gruppen von  $2,0 \pm 0,2$  g/kg KG/d und die Memantin-forciert-Gruppen von  $2,4 \pm 0,1$  g/kg KG/d (Abb.13). Die Ethanoldosis der Alkohol-Kontroll-Gruppe - sie ist keinem Entzug ausgesetzt - bleibt bis zum Wechsel von Einzel- in Gruppenhaltung (Woche 24 auf 25) etwa gleich. Danach sinkt die Ethanoldosis von zuvor  $2,3 \pm 0,2$  g/kg/d (Woche 23 und 24) auf  $1,7 \pm 0,2$  ab (Woche 25 und 26). Die Ethanoldosis der Memantin-freiwillig-Gruppe und der Wasser-Kontroll-Gruppe unterscheidet sich in den Wochen 20 und 21 nicht signifikant von der Dosis der Alkohol-Kontroll-Gruppe. Die Dosis bleibt auch bei diesen Gruppen bis zum Entzug stabil (Abb.13). In den beiden Wochen vor dem Entzug (Woche 20 und 21) steigt die Ethanoldosis der Memantin-forciert-Gruppen signifikant über den der anderen Gruppen (**H-Test**: Woche 20:  $H= 13,5$ ;  $p < 0,01$ ; **post-hoc Vergleich im t-Test**: Memantin-forciert-Gruppen mit allen anderen Gruppen:  $t(69)= 2,6$ ;  $p < 0,05$ ) (Abb.13). In diesen beiden Wochen wird allen Memantin-Gruppen schon das Memantin angeboten.

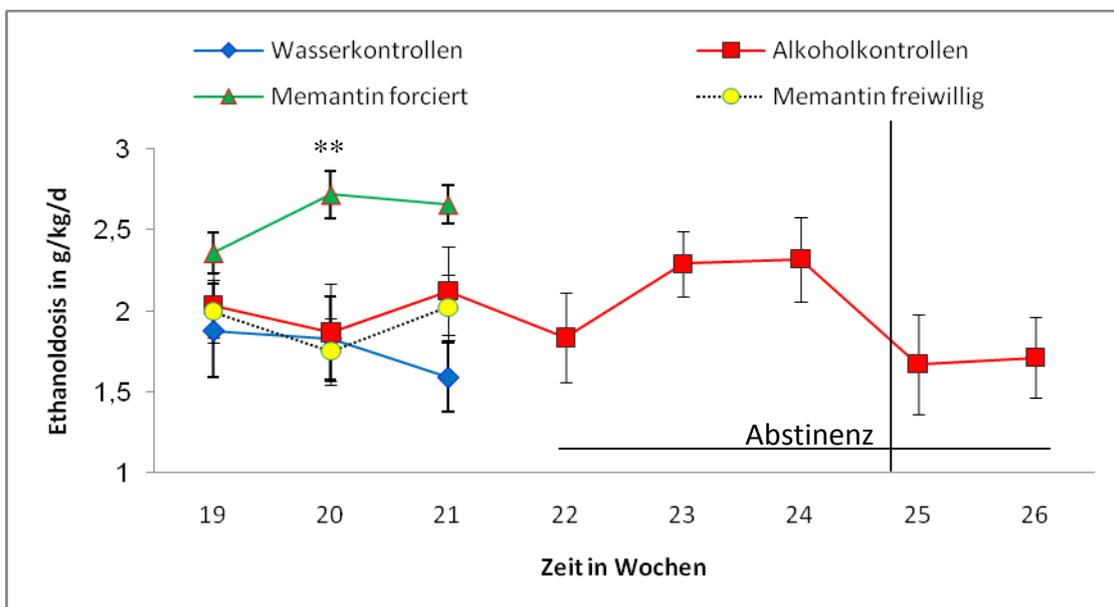


Abb.13: Zeitverlauf der Ethanoldosen aller vier Gruppen. Dargestellt sind Wochen 19 - 26. Der vertikale Trennstrich zwischen der 24. und 25. Woche zeigt den Beginn der Gruppenphase an. Der horizontale Strich gibt den Zeitraum der Abstinenz an.

In Abbildung (Abb.14) ist der Alkoholverbrauch der beiden Memantingruppen gegen einander dargestellt. Die Ethandosis liegt in der 19. Woche für beide Gruppen bei ca. 2,0 g/kg/d und steigt in den Wochen 20 und 21 bei den Memantin-forciert-Gruppen auf über 2,5 g/kg/d an. Die Dosis unterscheidet sich dann deutlich von der Dosis der Memantin-freiwillig-Gruppen (**post-hoc Vergleich im t-Test:  $t(69) = 3,12; p < 0,01$** ). Die Memantin-forciert-Gruppen nehmen in den beiden Wochen vor dem Entzug mehr Alkohol zu sich als die Memantin-freiwillig-Gruppen.

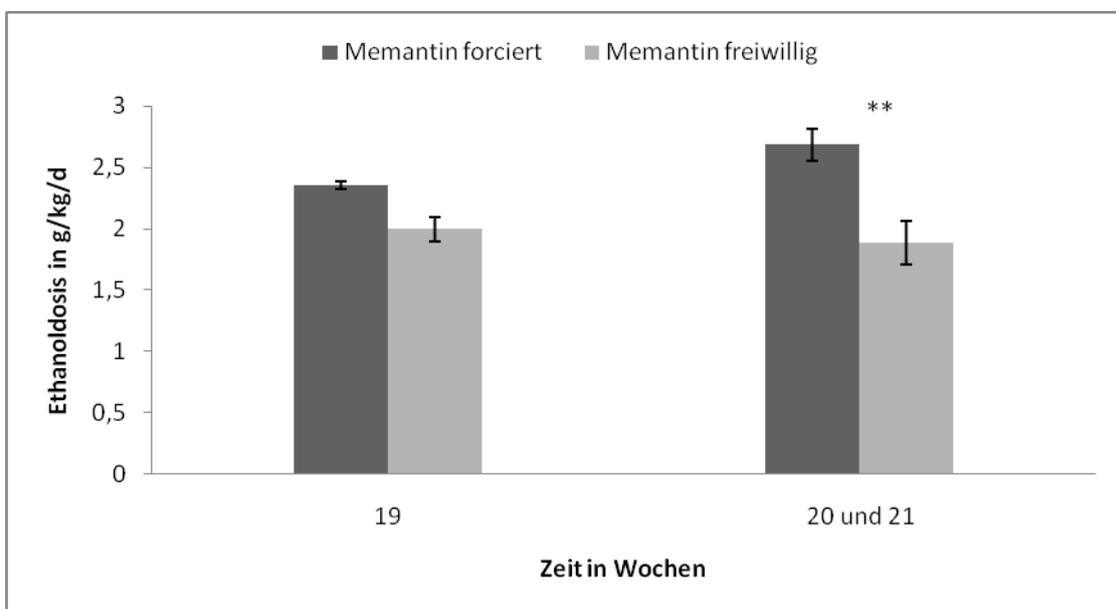


Abb.14: Histogramm der Ethandosis in g/kg KG/d. Memantingruppen vor Zugriff auf Memantin (Woche 19) und während des Zugriffs auf Memantin (Woche 20 und 21), (\*\*  $p < 0,01$ ). Memantin forciert  $n=23$ ; Memantin freiwillig  $n=25$ .

Der Anteil der Alkoholeinnahme aus der 5 % EthanolLösung an der Gesamtdosis ist bei allen Gruppen hoch (ca. 85 %). Die restlichen 15 % verteilen sich zu etwa 10 % auf die 20 % Lösung und zu 5 % auf die 10 % Lösung. Zu berücksichtigen ist dabei, dass die Memantin-freiwillig-Gruppen ab der 20. Woche keine 10 %ige Alkohollösung mehr erhalten. Diese Gruppen nehmen dann etwa 15 % aus der 20 % Lösung zu sich, sie steigern ihren Konsum nicht aus der 5 % Lösung.

Die Memantindosis ist zwischen den Gruppen der forcierten Gabe und der freiwilligen Gabe deutlich unterschiedlich. Die Memantin-forciert-Gruppen nehmen in den ersten beiden Wochen vor dem Entzug eine Memantindosis von durchschnittlich  $0,9 \pm 0,3$  mg/kg/d ein (Abb.15). Nach dem Entzug, wenn sie nur noch die Möglichkeit haben, die Memantinlösung zu trinken, steigt die eingenommene Dosis auf ca. 7 mg/kg/d an (Abb.15). Im weiteren Verlauf kommt es zu einem langsamen, leichten Anstieg auf bis  $8,0 \pm 0,2$  mg/kg/d in der 26. Woche. Der Wechsel von Einzelhaltung in Gruppenhaltung führt bei diesen Tieren zu keiner Änderung des Einnahmeverhaltens von Memantin (Abb.15). Die Memantin-freiwillig-Gruppen nehmen in den ersten beiden Wochen im Mittel  $0,035 \pm 0,01$  mg/kg/d zu sich (Abb.16). Der Entzug selbst hat bei diesen Tieren keinen Einfluss auf die eingenommene Memantindosis (Abb.16). Nach dem Entzug kommt es zu einem minimalen Anstieg auf  $0,1 \pm 0,04$  mg/kg/d. Im weiteren Verlauf bleibt die Dosis auf einem niedrigen Niveau und steigt noch einmal vor dem Wechsel in Gruppenhaltung leicht an (Abb.16). Anders als die Tiere der Memantin-forciert-Gruppen zeigen die Tiere der Memantin-freiwillig-Gruppen einen massiven Anstieg ihrer eingenommenen Dosis beim Wechsel von Einzel- in Gruppenhaltung (Abb.16). Sie steigern ihren Konsum in der ersten Wochenhälfte nach dem Haltungsverwechsel auf  $1,3 \pm 0,2$  mg/kg/d (Abb.16). In der zweiten Wochenhälfte sinkt der Konsum wieder auf unter 0,5 g/kg/d und bleibt dann im Mittel bei 0,3 g/kg/d (Abb.16). Die Memantin-freiwillig-Gruppen nehmen in den ersten Tagen nach dem Haltungsverwechsel viel mehr Memantin zu sich als jemals davor und danach.

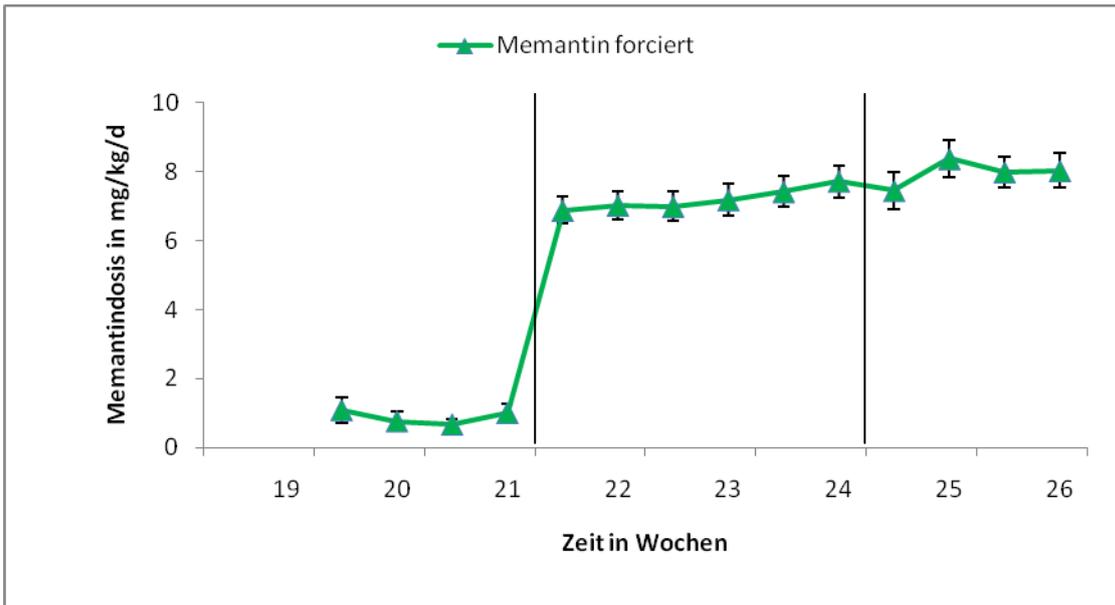


Abb.15: Memantindosis in mg/kg/d vor, im und nach dem Entzug für die Memantin-forciert-Gruppen (n=23) über den Zeitverlauf der 8 Wochen in Halbwochenwerten dargestellt. Der Trennstrich zwischen Woche 21 und 22 zeigt den Beginn des Entzuges an, der Trennstrich zwischen der 24. und 25. Woche zeigt den Beginn der Gruppenphase an.

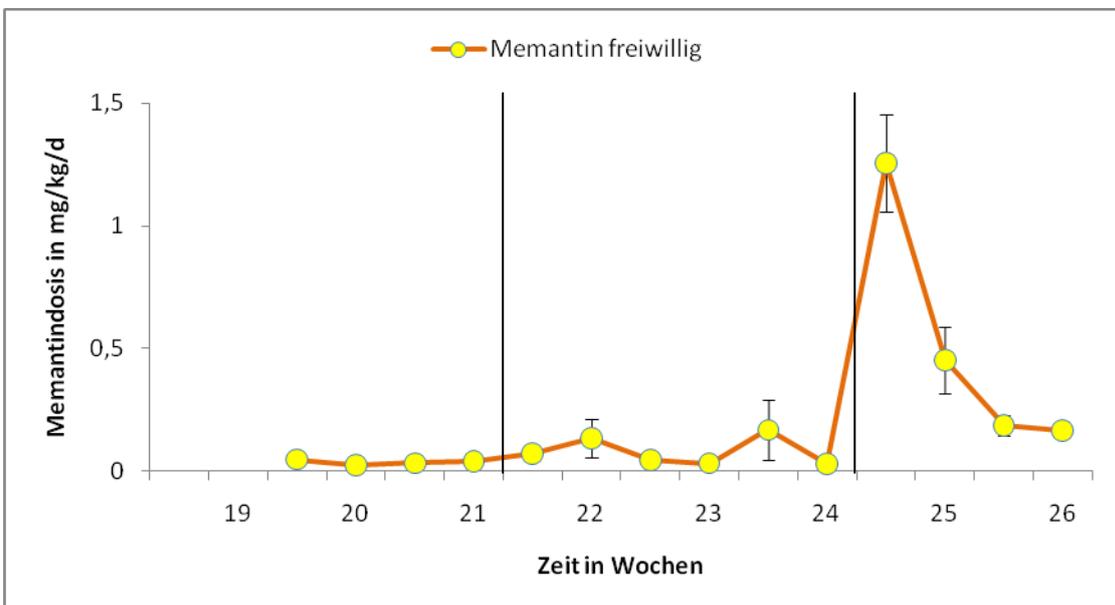


Abb.16: Memantindosis in mg/kg/d vor, im und nach dem Entzug für die der Memantin-forciert-Gruppen (n=25) über den Zeitverlauf der 8 Wochen in Halbwochenwerten dargestellt. Der Trennstrich zwischen Woche 21 und 22 zeigt den Beginn des Entzuges an, der Trennstrich zwischen der 24. und 25. Woche zeigt den Beginn der Gruppenphase an.

### **3.4. Entzugsbegleitende Tests (circadiane Aktivität und Schmerzschwelle)**

#### **3.4.1. Verhalten vor Beginn des Entzuges**

##### **3.4.1.1 Bewegungsunruhe und Weg**

Um die Lokomotion und Aktivität der Tiere in den Lichtschrankensystemen zu beobachten, werden die Zeitverläufe der Bewegungsunruhe (cm/min) und des zurückgelegten Weges (cm/min) aufgezeichnet. Da die Alkohol- und die Wasser-Kontroll-Gruppen vor dem Entzug denselben Bedingungen ausgesetzt sind, werden ihre Daten hier zusammengefasst dargestellt.

Die Bewegungsunruhe ist beschrieben als zurückgelegter Weg innerhalb eines „Standortkreises“ um den momentanen Standort herum (siehe Material und Methodenteil S.21). Alle drei Gruppen sind in der Dunkelphase unruhiger, aktiver als in den Hellphasen (Abb.17). Bei allen Gruppen gibt es zwei Gipfel der gemessenen Bewegungsunruhe, der erste Gipfel in den ersten 3 Stunden der Dunkelphase, der zweite am Ende der 12 Stunden dauernden Dunkelphase (Abb.17). Es sind keine signifikanten Unterschiede in der Bewegungsunruhe zwischen den Gruppen feststellbar (Abb.17).

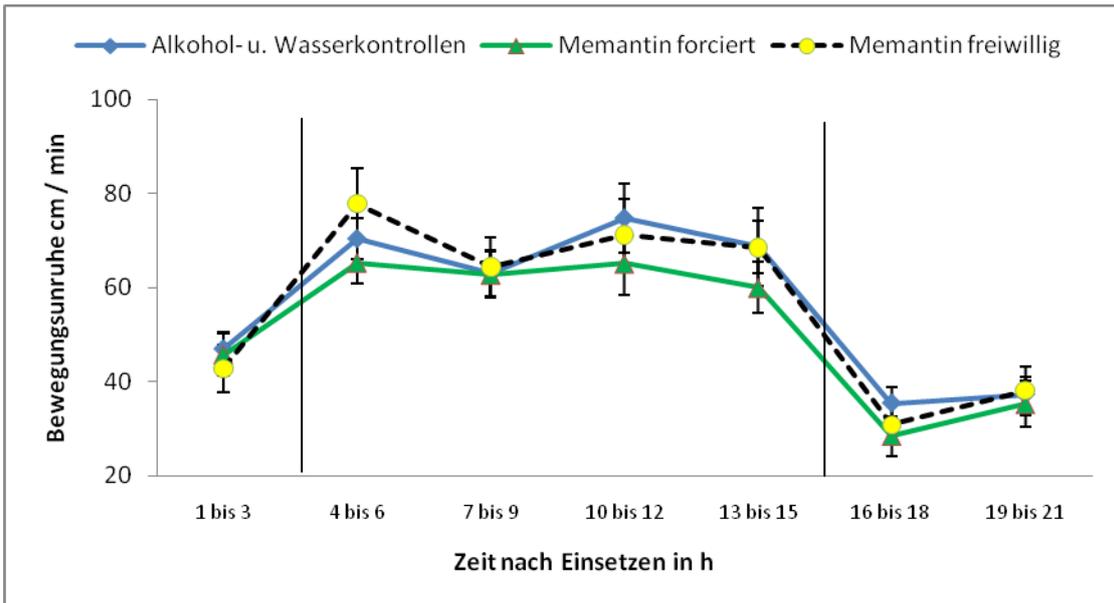


Abb.17: Bewegungsunruhe aufgetragen gegen die Zeit nach Einsetzen in 3-h-Werten der Alkohol- und Wasser-Kontroll-Gruppen zusammen (n=12+13) gegen beide Memantingruppen (Memantin forciert n=12; Memantin freiwillig n=13). Die Trennstriche zeigen den Beginn und das Ende der 12 h dauernden Dunkelphase an.

Ein Tier hat definitionsgemäß eine Wegstrecke zurückgelegt, wenn es seinen Standortkreis verlassen hat. Alle Gruppen sind nach dem Einsetzen und in der Dunkelphase aktiver als in der zweiten Hellphase (Abb.18). Ebenso legen alle Gruppen zu Beginn der Dunkelphase mehr Weg zurück als am Ende der Dunkelphase (Abb.18). Wie unten in der Abbildung (18) zu sehen ist, legen die Memantin-forciert-Gruppen in den ersten 3 Stunden der Dunkelphase (4. bis 6. Stunde, Aktivitätsphase der Tiere) weniger Weg zurück als die beiden anderen Gruppen, der Unterschied ist jedoch nicht signifikant (Abb.18).

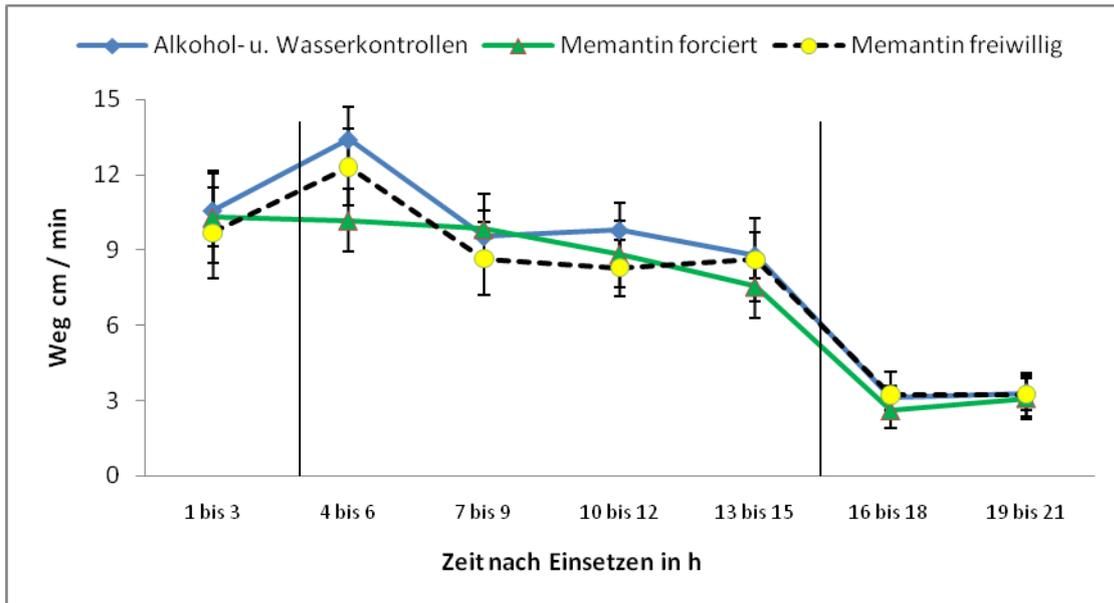


Abb.18: Weg in cm/min nach Einsetzen in 3-h-Werten der Alkohol- und Wasser-Kontroll-Gruppen (n=25) und beider Memantingruppen (Memantin forciert n=12; Memantin freiwillig n=13). Die Trennstriche zeigen den Beginn und das Ende der 12 h dauernden Dunkelphase an.

### 3.4.1.2 Aufrichthandlungen

Die Anzahl an Aufrichthandlungen (*im gesamten Käfig*) und an Flüssigkeiten (*alle angebotenen Trinkflaschen*) ist in den ersten 3 Stunden der Dunkelphase zwischen der Memantin-forciert-Gruppe und der Alkohol- und Wasser-Kontroll-Gruppe unterschiedlich (Aufrichten generell: **H-Test**: 3. bis 6. h:  $H = 9,1$   $p < 0,05$ ; **post-hoc Vergleich im t-Test**: 3. bis 6. h:  $t(51) = 2,9$   $p < 0,01$ . Aufrichten Flüssigkeiten: **H-Test**: 3 bis 6. h:  $H = 9,2$   $p < 0,05$ ; **post-hoc Vergleich im t-Test**:  $t(51) = 3,1$   $p < 0,01$ ) (Abb.19). Die Memantin-forciert-Gruppe zeigt hier weniger Aufrichthandlungen (Abb.19). In den anderen Zeitabschnitten ist kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festzustellen. Alle Tiere richteten sich nach dem Einsetzen und in der Dunkelphase häufiger auf als in der zweiten Hellphase (16. - 21. Stunde) (Abb.19).

Für die Parameter Aufrichten für Futter, Wasser/Memantin und Aufrichten für Alkohol (5 % und 20 % Ethanol zusammen oder 5% und 20% alleine) ergeben sich zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede. Sie alle zeigen nach dem Einsetzen und zu Beginn der Dunkelphase für diese Parameter mehr Aufrichthandlungen als in der zweiten Hellphase. Futter nehmen die Tiere

häufiger zu Beginn der Dunkelphase als am Ende der Dunkelphase auf. Dahingegen trinken sie die 5 % ige Ethanolösung eher am Ende als zu Beginn der Dunkelphase.

Der zeitliche Anteil in Prozent an der Gesamtzeit der einzelnen Aufrichthandlungen ist nur für die Aufrichthandlungen an der Wasser- bzw. Memantinflasche (forcierte Memantingabe) unterschiedlich. Die Gruppe der forcierten Memantingabe richtet sich insgesamt kürzer in diesem Sonderbereich auf als alle anderen Gruppen.

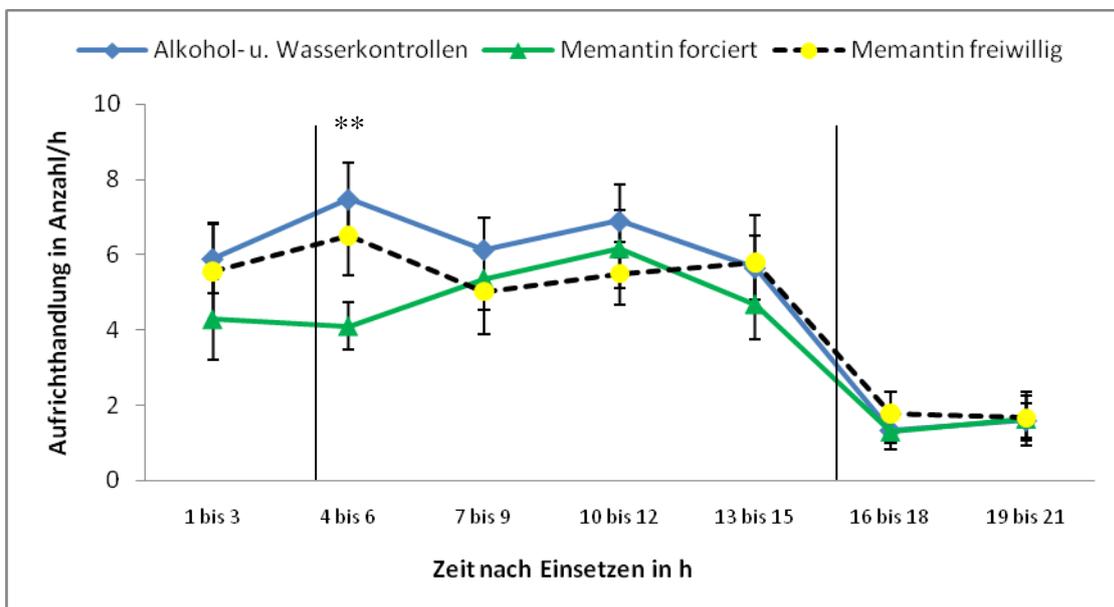


Abb.19: Anzahl der Aufrichthandlungen für Flüssigkeiten der Alkohol- und Wasser-Kontroll-Gruppen (n=25) und der beiden Memantingruppen (Memantin forciert n=12; Memantin freiwillig n=13). Die Trennstriche zeigen den Beginn und das Ende der 12 h dauernden Dunkelphase an. (\*\*  $p < 0,01$ , siehe Text).

### 3.4.1.3. Musterbeginn-bezogene Analysen (Peri-event-time-Analysen)

Bezüglich der Aufenthaltswahrscheinlichkeit in den Sonderbereichen aller vier angebotenen Trinkflaschen (Flüssigkeiten) zeigen sich zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede nach dem Beginn einer Aufrichthandlung. Das heißt, die Trinkdauer an allen Flüssigkeiten der verschiedenen Gruppen ist nicht unterschiedlich. Eine Minute nach Beginn einer Trinkhandlung liegt für alle Gruppen die Aufenthaltswahrscheinlichkeit in einem der Sonderbereiche der

vier Trinkflaschen etwa bei 32 % und fällt ab der zweiten Minute deutlich unter 10 % ab.

Die Memantin-forciert-Gruppe hat eine niedrigere Aufenthaltswahrscheinlichkeit im Sonderbereich Wasser / Memantin kurz nach dem Beginn einer Trinkhandlung als alle anderen Gruppen (Abb.20). Zwischen den Gruppen ergibt sich in der ersten Minute nach Beginn ein deutlicher Unterschied (**H-Test**: 1. Minute:  $p < 0,05$ ;  $H = 8,22$ ). Die Trinkdauer an dieser Flasche ist für diese Gruppe kürzer als die der anderen Gruppen (Abb.20). Es ist jedoch zu beachten, dass diese Gruppe an dieser Flasche Memantinlösung und nicht Wasser trinken kann.

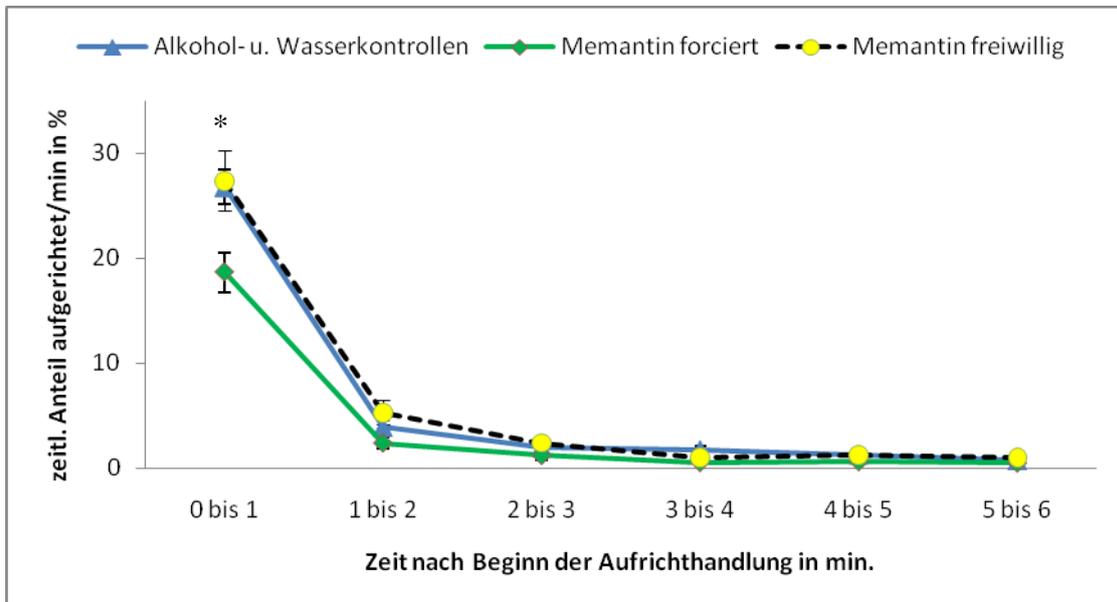


Abb.20: An der Trinkflasche verbrachter Zeitanteil pro Zeiteinheit nach Beginn einer Wasser- / Memantin-Trinkhandlung. Dargestellt für Wasser- u. Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=25) zusammen im Vergleich mit beiden Memantingruppen (Memantin forciert n=12; Memantin freiwillig n=13) (\* $p < 0,05$ , siehe Text).

Die Aufenthaltswahrscheinlichkeit in den Bereichen der Alkoholflaschen ist für die Memantin-forciert-Gruppe in der ersten Minute nach Beginn einer Trinkhandlung für Alkohol höher als die der anderen Gruppen (**H-Test**: 1. Minute:  $p < 0,05$ ;  $H = 6,8$ ) (Abb.21). Demnach sind Trinkhandlungen der Memantin-forciert-Gruppe an den Alkoholflaschen länger als die

Trinkhandlungen der anderen Tiere. Ab der 2. Minute sind zwischen den Gruppen keine Unterschiede mehr festzustellen (Abb. 21).

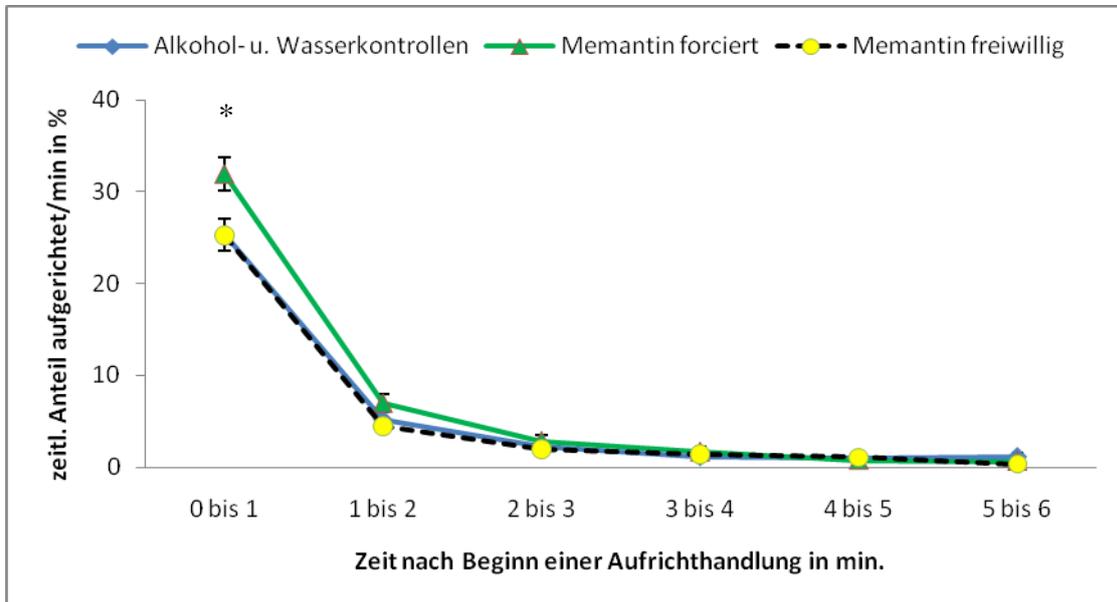


Abb.21: An den Trinkflaschen verbrachter Zeitanteil pro Zeiteinheit nach Beginn einer Alkohol- Trinkhandlung. Dargestellt für Wasser- u. Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=25) zusammen im Vergleich mit beiden Memantingruppen (Memantin forciert n=12; Memantin freiwillig n=13) (\*  $p < 0,05$ , siehe Text).

Die Aufenthaltswahrscheinlichkeit im Sonderbereich Futter ist für alle Gruppen nach Beginn einer Aufrichthandlung zu keinem Zeitpunkt unterschiedlich. Die Tiere der verschiedenen Gruppen sind nach dem Beginn einer Aufrichthandlung für Futter gleich lange dort aufgerichtet.

### 3.4.1.4. Musterende-bezogene Analysen (Peri-event-time-Analysen)

Die Aufenthaltswahrscheinlichkeit in einem der Sonderbereiche aller vier angebotenen Trinkflaschen (Flüssigkeit) ist in der ersten halben Stunde nach dem Ende einer Trinkhandlung für die Memantin-forciert-Gruppe deutlich niedriger als die der anderen Gruppen (**H-Test**: 10. bis 20. Minute:  $H= 7,15$ ;  $p < 0,05$ ). Das heißt, diese Gruppe macht längere Pausen zwischen den Trinkhandlungen (Abb.22). Danach zeigen sich zwischen den Gruppen keine Unterschiede mehr (Abb.22).

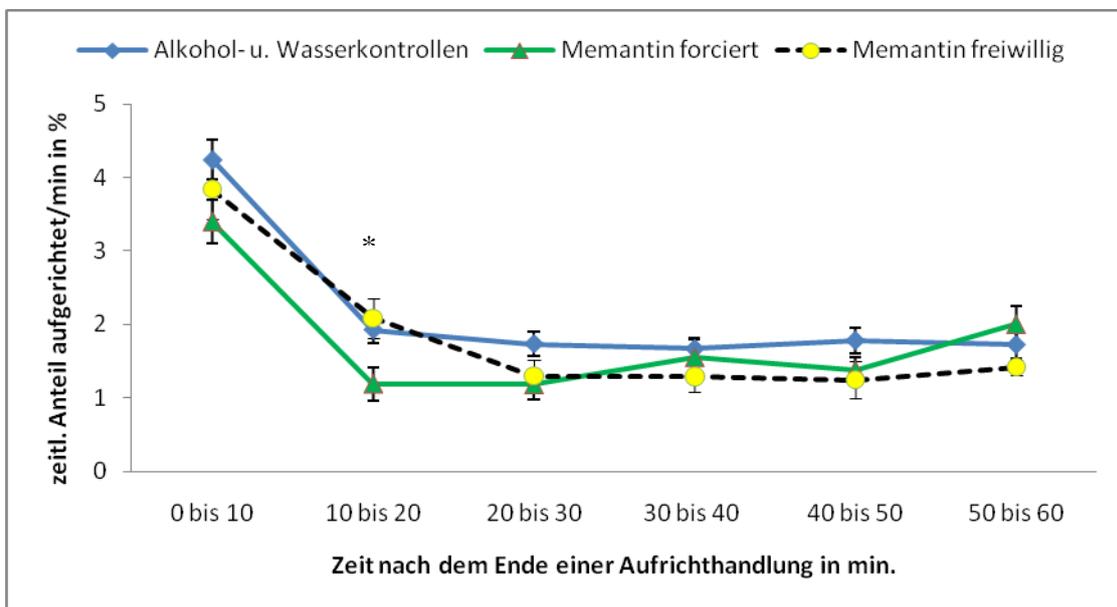


Abb.22: An den Trinkflaschen verbrachter Zeitanteil pro Zeiteinheit nach dem Ende einer Flüssigkeits-Trinkhandlung. Dargestellt für Wasser- u. Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=25) zusammen im Vergleich mit beiden Memantingruppen (Memantin gezwungen n=12; Memantin freiwillig n=13) (\*  $p < 0,05$ , siehe Text).

Nach dem Ende einer Trinkhandlung hält sich die Memantin-gezwungen-Gruppe durchgehend seltener im Bereich der Wasser- / Memantin-Flasche auf als die anderen Gruppen. Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind bis zur 20. Minute signifikant (**H-Test**: 0. bis 10. Minute:  $H= 9,9$ ;  $p < 0,01$ ; 10. bis 20. Minute:  $H= 7,2$ ;  $p < 0,05$ ) (Abb.23). In den darauf folgenden Minuten bleibt die Aufenthaltswahrscheinlichkeit bei der Memantin-gezwungen-Gruppe weiterhin niedriger (Abb.23). Die Tiere der Memantin-gezwungen-Gruppe kehren erst nach längeren Pausen wieder an diese Trinkflasche zurück.

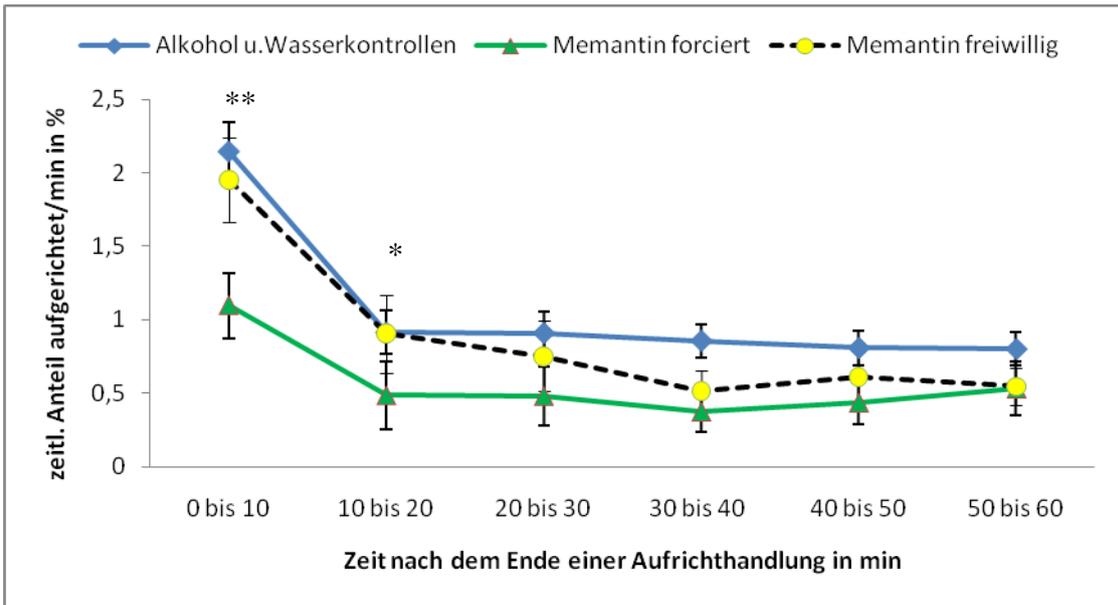


Abb.23: An der Trinkflasche verbrachter Zeitanteil pro Zeiteinheit nach dem Ende einer Wasser-/Memantin-Trinkhandlung. Dargestellt für Wasser- u. Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=25) zusammen im Vergleich mit beiden Memantingruppen (Memantin gezwungen n=12; Memantin freiwillig n=13) (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; siehe Text).

Die Pausenlänge zwischen den Trinkhandlungen an den Alkoholflaschen unterscheidet sich zu keinem Zeitpunkt zwischen den verschiedenen Gruppen (Abb.24).

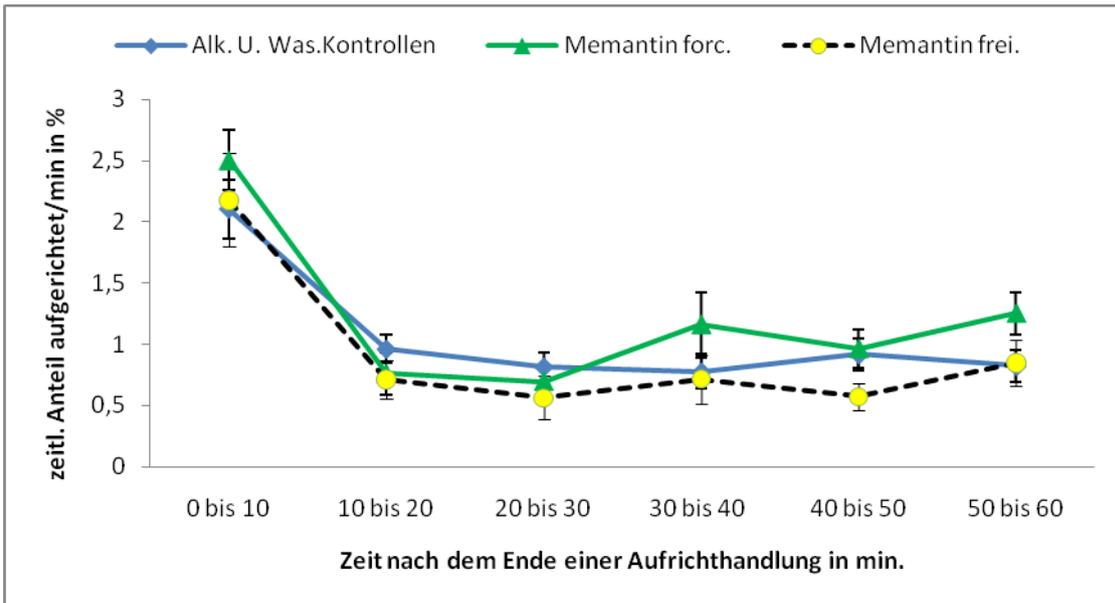


Abb.24: An den Trinkflaschen verbrachter Zeitanteil pro Zeiteinheit nach dem Ende einer Alkohol-Trinkhandlung. Dargestellt für Wasser- u. Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=25) zusammen im Vergleich mit beiden Memantingruppen (Memantin forciert n=23; Memantin freiwillig n=25).

Die Alkohol-Kontroll-Gruppe richtet sich schneller in den ersten 20 bis 40 Minuten nach dem Ende eines Futteraktes wieder in diesem Bereich auf als die anderen Gruppen (**H-Test**: 10. bis 20. Minute:  $H=10$ ;  $p < 0,01$ ). Danach sind keine Unterschiede mehr zwischen den Gruppen festzustellen. Die Gruppen, welche Memantin erhalten, machen demnach längere Pausen zwischen den Fresshandlungen.

### 3.4.2. Verhalten über den Entzugsverlauf

#### 3.4.2.1. Bewegungsunruhe und Weg

Die Bewegungsunruhe ist in allen drei Durchgängen und bei allen vier Gruppen zu keinem Zeitpunkt signifikant unterschiedlich. Alle Gruppen sind in der ersten Stunde nach dem Einsetzen und zu Beginn der Dunkelphase am unruhigsten. Der zurückgelegte Weg ist bei allen vier Gruppen im ersten Durchgang (Vor Entzug) in der ersten Stunde nach dem Einsetzen am höchsten. Die Unterschiede zwischen den Durchgängen sind bei allen Gruppen signifikant (**H-Test**: 1. h: H-Wert bei allen Vergleichen  $> 6$ ;  $p < 0,05$ ) (Abb.25 bis 28). Alle Gruppen legen in Durchgang 2 und 3 in der ersten Stunde der Dunkelphase, also der Aktivitätsphase der Tiere, kürzere Wege zurück als im 1. Durchgang. Am deutlichsten sind die Unterschiede bei der Wasser-Kontroll-, Memantin-forciert- und Memantin-freiwillig-Gruppe (**H-Test**: *Wasserkontrollen* 4 h:  $H = 13,6$ ;  $p < 0,01$ ; *Memantin forciert* 4 h:  $H = 7,1$ ;  $p < 0,05$ ; und 5 h:  $H = 9,3$ ;  $p < 0,01$ ; *Memantin freiwillig* 4 h:  $H = 10,1$ ;  $p < 0,01$ ) (Abb.26 bis 28). Die Alkohol-Kontroll-Gruppe zeigt zwischen den drei Durchgängen nur geringe Unterschiede. In allen 3 Durchgängen legt sie in der Dunkelphase den meisten Weg in der 1. Stunde zurück (Abb.25), wohingegen vor allem die Wasser-Kontroll- und tendenziell die Memantin-freiwillig-Gruppe ihre Wegstrecke im Entzug und danach erst im Verlauf der Dunkelphase steigern und nicht wie vor dem Entzug in der 1. Stunde der Dunkelphase die größte Wegstrecke zurücklegen (Abb.26 und 28). Bei der Memantin-forciert-Gruppe ist dies nicht zu beobachten (Abb.27).

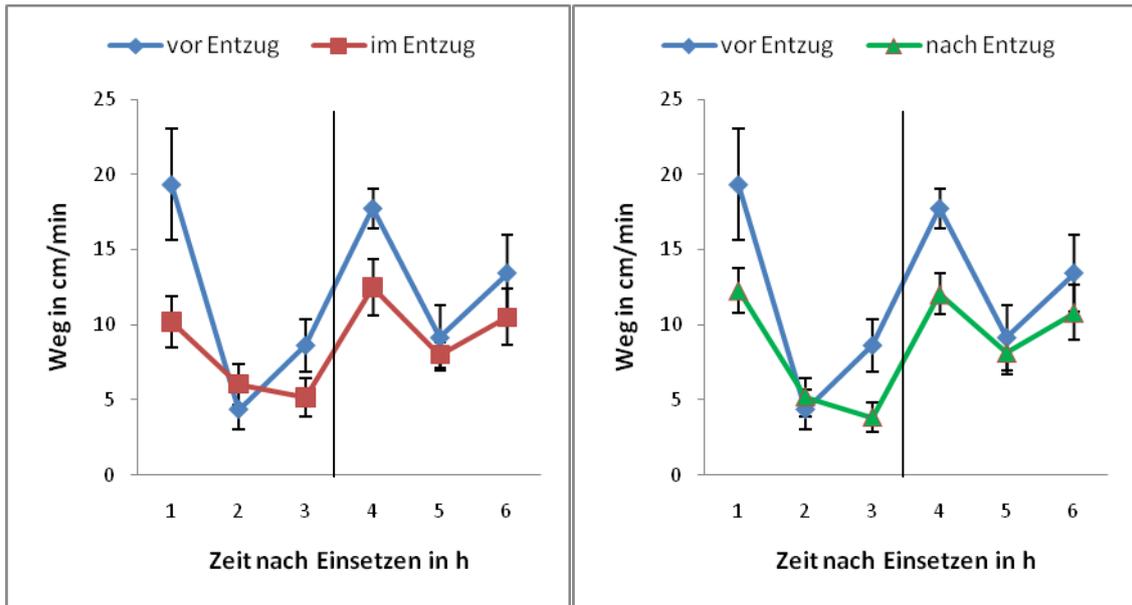


Abb.25: Durchschnittlich zurückgelegte Wegstrecke pro h angegeben in cm/Minute der Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=12). Der Trennstrich zeigt den Beginn der Dunkelphase an. Jeweils 7 Tage vor Entzug (vor Entzug) mit 2 Tage nach Entzug (im Entzug), bzw. mit 7 Tage nach Entzug (nach Entzug) verglichen.

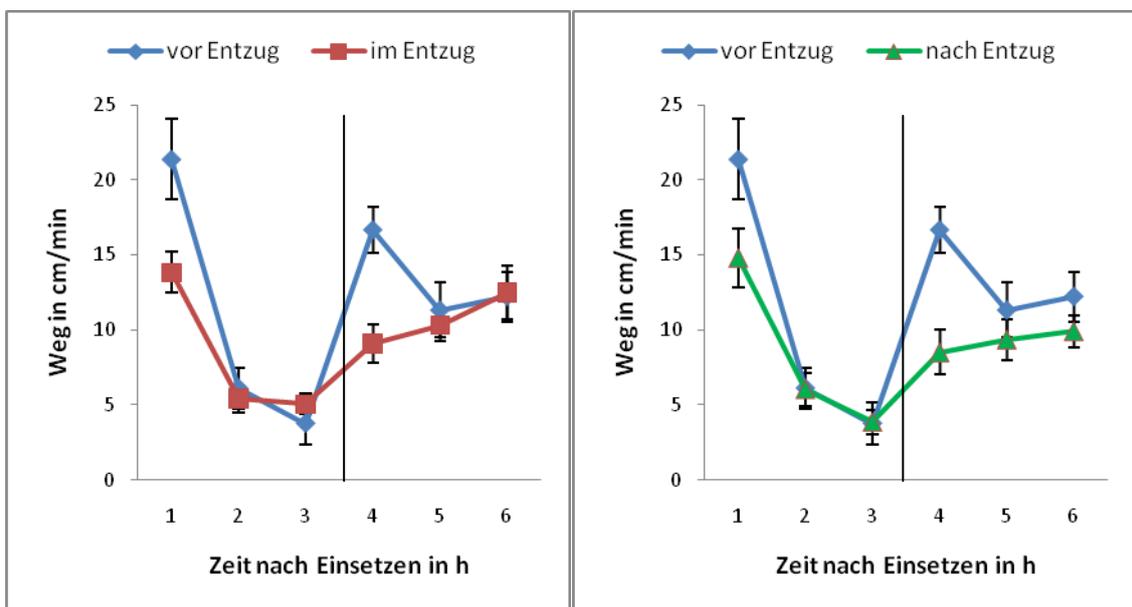


Abb.26: Durchschnittlich zurückgelegte Wegstrecke pro h angegeben in cm/Minute der Wasser-Kontroll-Gruppe (n=13). Der Trennstrich zeigt den Beginn der Dunkelphase an. Jeweils 7 Tage vor Entzug (vor Entzug) mit 2 Tage nach Entzug (im Entzug), bzw. mit 7 Tage nach Entzug (nach Entzug) verglichen.

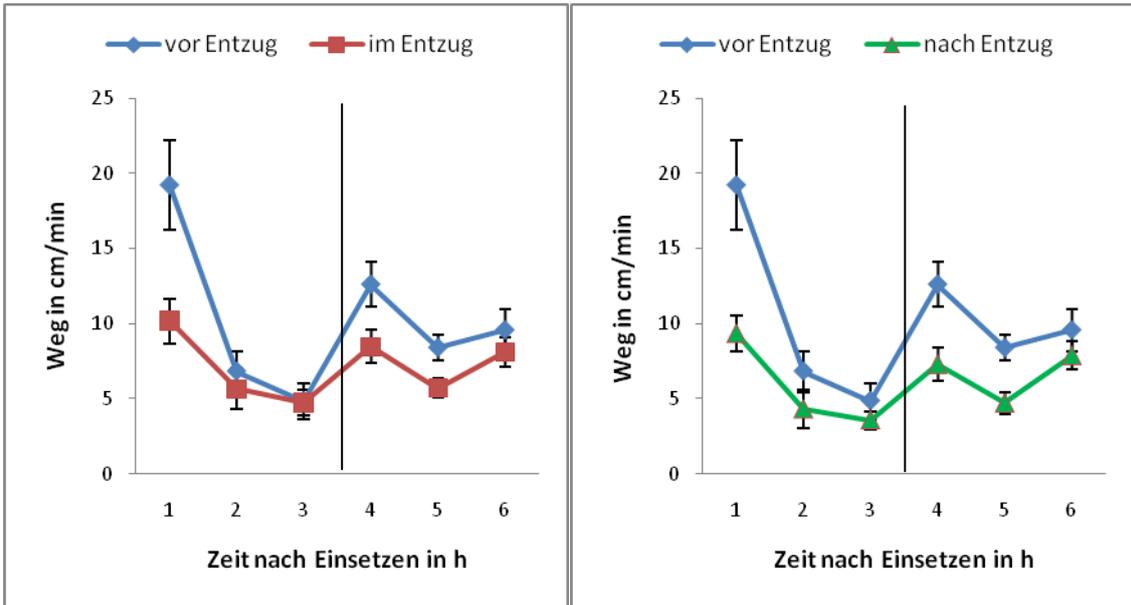


Abb.27: Durchschnittlich zurückgelegte Wegstrecke pro h angegeben in cm/Minute der Memantin-forciert-Gruppe (n=12). Der Trennstrich zeigt den Beginn der Dunkelphase an. Jeweils 7 Tage vor Entzug (vor Entzug) mit 2 Tage nach Entzug (im Entzug), bzw. mit 7 Tage nach Entzug (nach Entzug) verglichen.

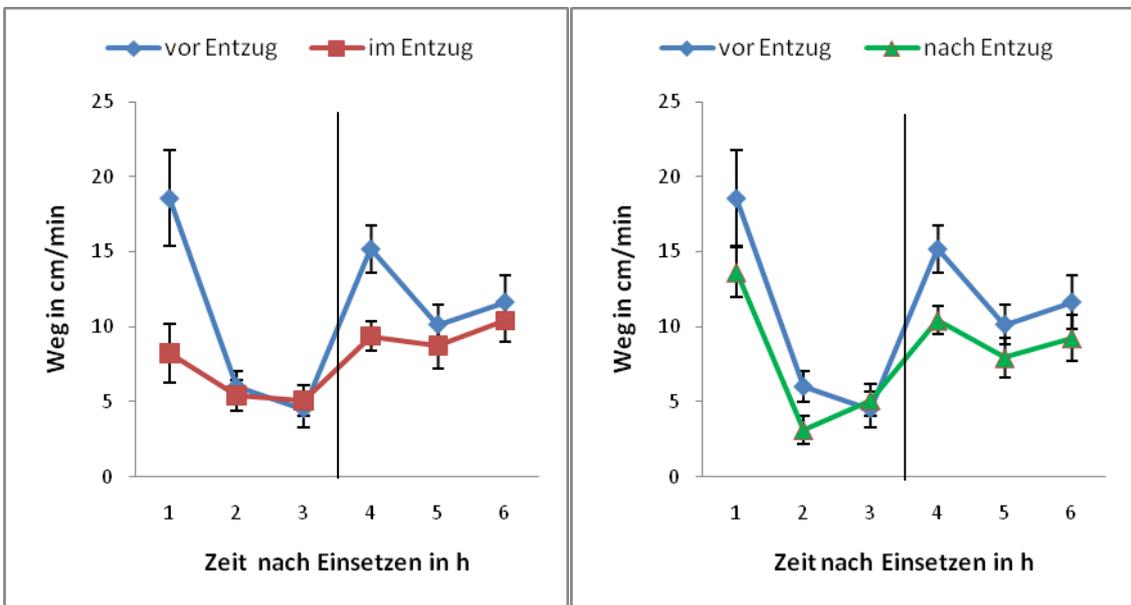


Abb.28: Durchschnittlich zurückgelegte Wegstrecke pro h angegeben in cm/Minute der Memantin-freiwillig-Gruppe (n=13). Der Trennstrich zeigt den Beginn der Dunkelphase an. Jeweils 7 Tage vor Entzug (vor Entzug) mit 2 Tage nach Entzug (im Entzug), bzw. mit 7 Tage nach Entzug (nach Entzug) verglichen.

### 3.4.2.2. Aufrichthandlungen

Bei der Alkohol-Kontroll-Gruppe zeigt sich in allen drei Durchgängen ein ähnliches Verhaltens-Muster. Die Tiere richten sich in den ersten Stunden nach dem Einsetzen und in der ersten Zeit der Dunkelphase am häufigsten und in der zweiten Hellphase am seltensten auf (Abb.29 und 30). Im 1. Durchgang ist die Anzahl der Aufrichthandlungen in der 1. bis zur 6. Stunde und in der 16. bis zur 18. Stunde signifikant höher als im 2. und 3. Durchgang (**H-Test**: 1. bis 3. h:  $H=7,5$   $p<0,05$ ; 4. bis 6. h:  $H=7,4$   $p<0,05$ ; 16. bis 18. h:  $H=10,5$   $p<0,01$ . **post-hoc Vergleich im t-Test**: *Durchgang 1 vs. 2*: 1. bis 3. h  $t(36)=3,2$   $p<0,01$  und 4. bis 6. h  $t(36)=2,7$   $p<0,05$ ; 16. bis 18. h  $t(36)=3,4$   $p<0,01$ ; *Durchgang 1 vs. 3*: 1. bis 3. h  $t(36)=2,3$   $p<0,05$  und 4. bis 6. h  $t(36)=2,6$   $p<0,05$ ; 16. bis 18. h  $t(36)=3,5$   $p<0,01$ ) (Abb.29 und 30).

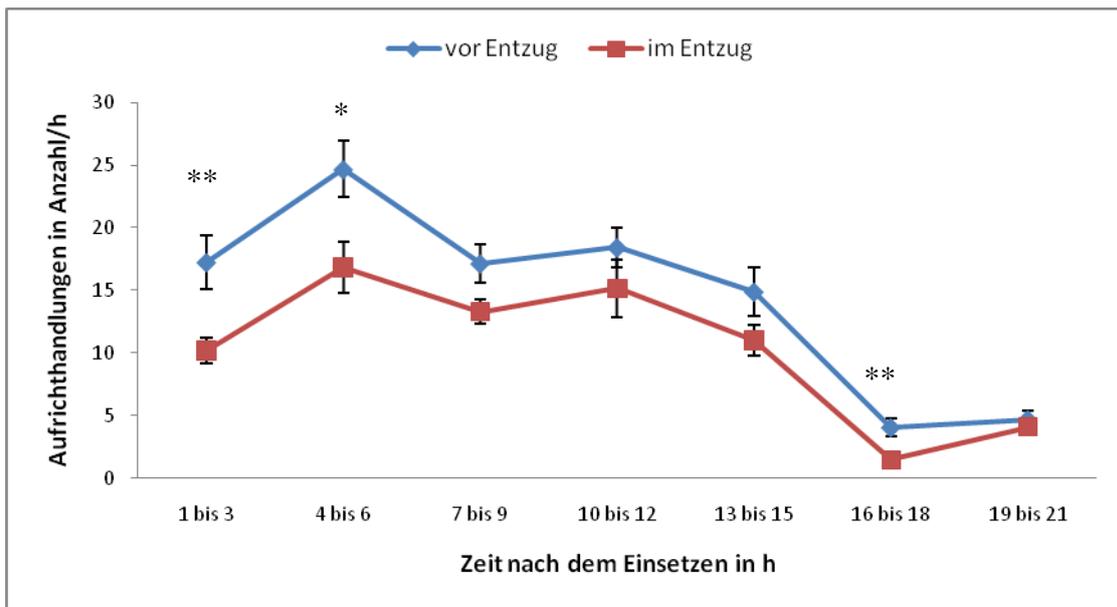


Abb.29: Anzahl aller Aufrichthandlungen pro h aufgetragen gegen die Zeit nach Einsetzen in 3-h-Werten für die Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=12) im Vergleich 7 Tage vor Entzug (vor Entzug) vs. 2 Tage nach Entzug (im Entzug), (\*  $p<0,05$ , \*\*  $p<0,01$ ; \*\*\*  $p<0,001$ ; Signifikanzen siehe Text).

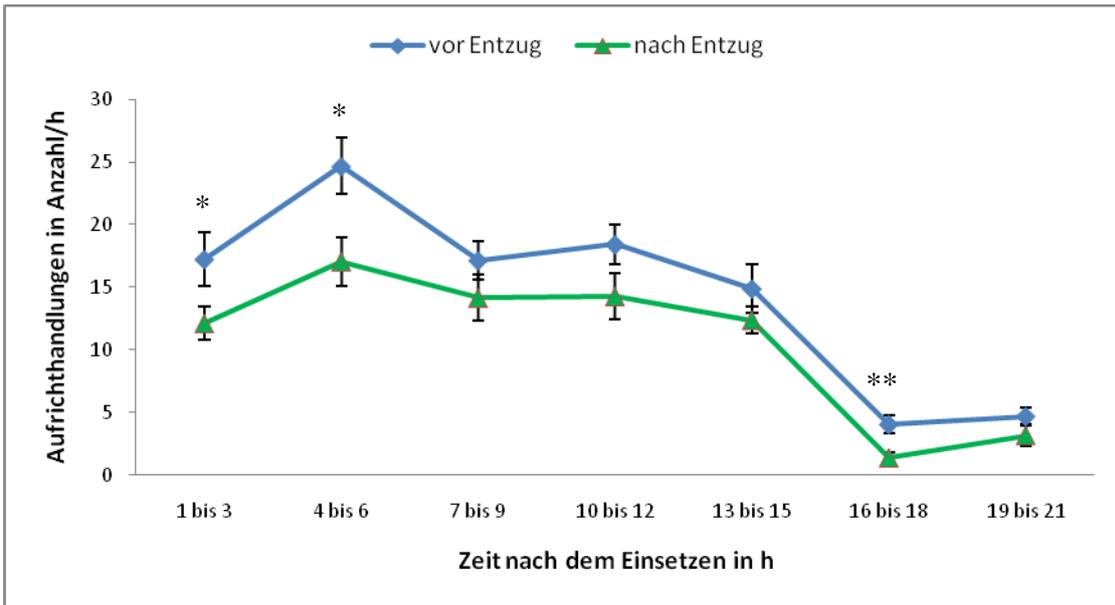


Abb.30: Anzahl aller Aufrichthandlungen pro h aufgetragen gegen die Zeit nach Einsetzen in 3-h-Werten für die Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=12) im Vergleich 7 Tage vor Entzug (vor Entzug) vs. 7 Tage nach Entzug (nach Entzug), (\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; Signifikanzen siehe Text).

Die Wasser-Kontroll-Gruppe richtet sich zu Beginn der Dunkelphase in der Abstinenz deutlich weniger auf als vor dem Entzug (Abb.32). Die Anzahl an Aufrichthandlungen ist zu diesem Zeitpunkt nach dem Entzug geringer als vor dem Entzug (**H-Test**: 3. bis 6. h:  $H=8,6$   $p < 0,05$ ; **post-hoc Vergleich im t-Test**: *Durchgang 1 vs. 3*: 3. bis 6. h  $t(37)= 3,3$   $p < 0,01$ ) (Abb.32). Ansonsten ergeben sich für die 3 Durchgänge zu keinem weiteren Zeitpunkt Unterschiede (Abb.31 und 32). In allen Durchgängen finden in den ersten Stunden nach dem Einsetzen und in der ersten Zeit der Dunkelphase die meisten Aufrichthandlungen statt (Abb.31 und 32).

## Resultate

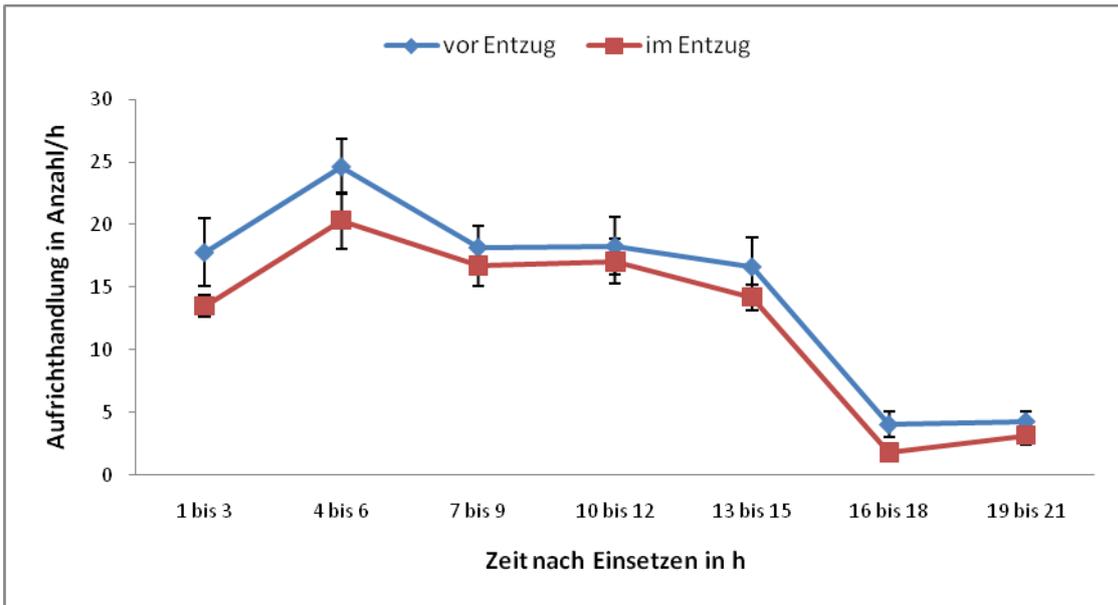


Abb.31: Anzahl aller Aufrichthandlungen pro h aufgetragen gegen die Zeit nach Einsetzen in 3-h-Werten für die Wasser-Kontroll-Gruppe (n=13) im Vergleich 7 Tage vor Entzug (vor Entzug) vs. 2 Tage nach Entzug (im Entzug), (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; Signifikanzen siehe Text).

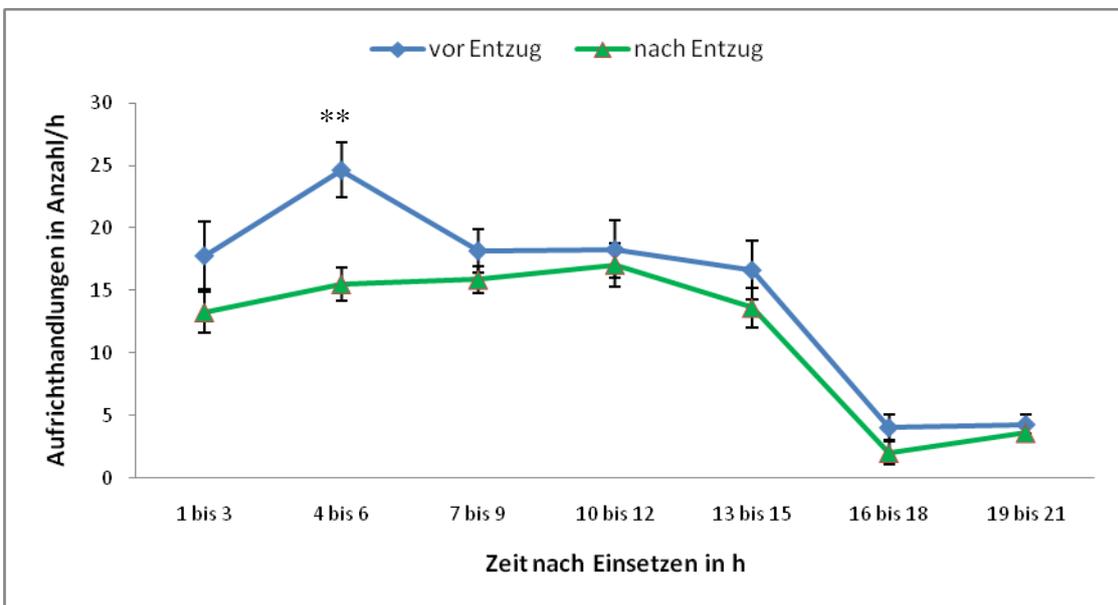


Abb.32: Anzahl aller Aufrichthandlungen pro h aufgetragen gegen die Zeit nach Einsetzen in 3-h-Werten für die Wasser-Kontroll-Gruppe (n=13) im Vergleich 7 Tage vor Entzug (vor Entzug) vs. 7 Tage nach Entzug (nach Entzug), (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; Signifikanzen siehe Text).

Die Anzahl der Aufrichthandlungen pro Stunde der Memantin-forciert-Gruppe ist kurz nach dem Einsetzen und zu Beginn der Dunkelphase vor dem Entzug höher als im und nach dem Entzug (Abb.33 und 34). Eine Signifikanz zeigt sich sowohl zwischen dem 1. und dem 2. als auch zwischen dem 1. und dem 3. Durchgang in den Stunden 4 bis 6 (**H-Test**: 4. bis 6. h:  $H=8,4$   $p<0,05$ ; **post-hoc Vergleich im t-Test**: *Durchgang 1 vs. 2*: 4. bis 6. h  $t(38)= 2,2$   $p<0,05$ ; *Durchgang 1 vs. 3*: 4. bis 6. h  $t(38)= 3,1$   $p<0,01$ ). Die Tiere richteten sich zudem nach dem Entzug erst gegen Ende der Dunkelphase am häufigsten auf, was sie vor und im Entzug nicht tun (Abb.33 und 34).

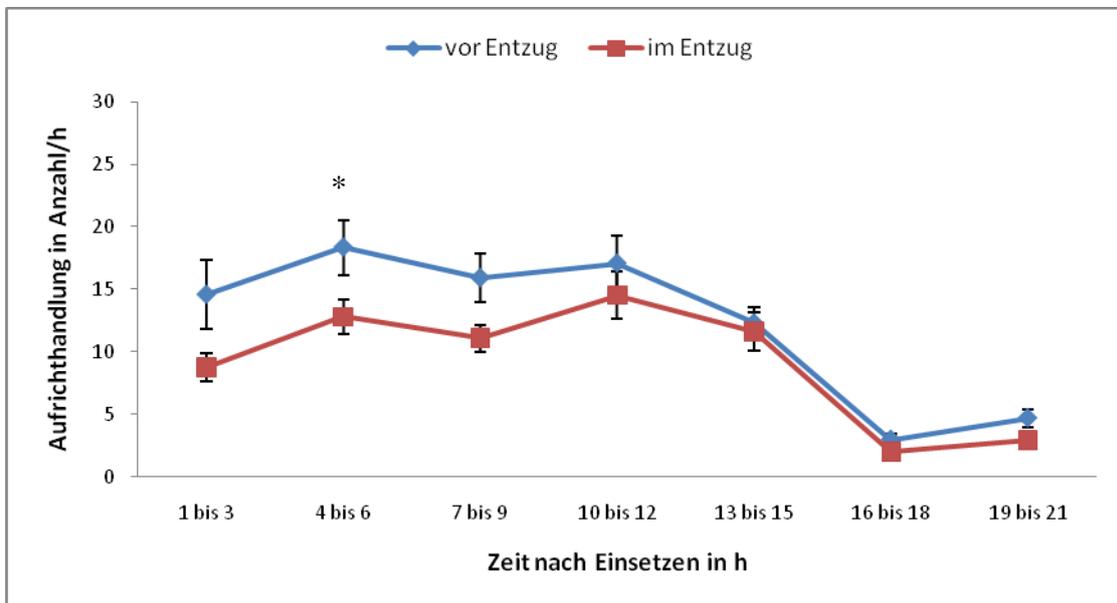


Abb.33: Anzahl aller Aufrichthandlungen pro h aufgetragen gegen die Zeit nach Einsetzen in 3-h-Werten für die Memantin-forciert-Gruppe (n=12) im Vergleich 7 Tage vor Entzug (vor Entzug) vs. 2 Tage nach Entzug (im Entzug), (\*  $p< 0,05$ ; \*\*  $p< 0,01$ ; \*\*\*  $p< 0,001$ ; Signifikanzen siehe Text).

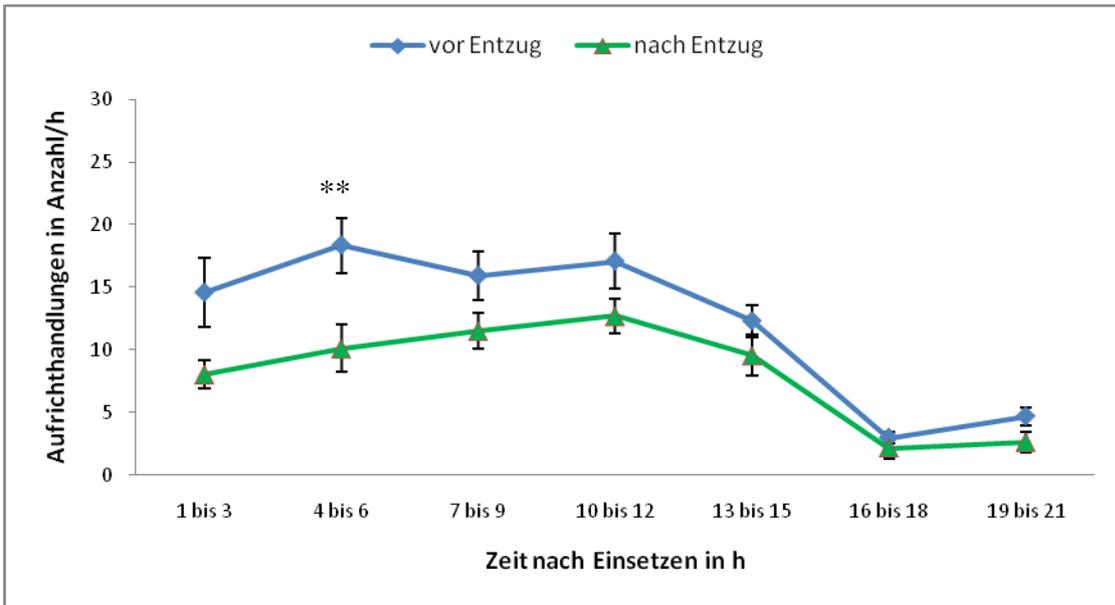


Abb.34: Anzahl aller Aufrichthandlungen pro h aufgetragen gegen die Zeit nach Einsetzen in 3-h-Werten für die Memantin-forciert-Gruppe (n=12) im Vergleich 7 Tage vor Entzug (vor Entzug) vs. 7 Tage nach Entzug (nach Entzug), (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; Signifikanzen siehe Text).

Die Memantin-freiwillig-Gruppe richtet sich im Entzug und in der Abstinenz in den ersten Stunden der Dunkelphase und zu Beginn der Hellphase weniger häufig auf als vor dem Entzug (Abb.35 und 36). In den Stunden 4 bis 6 und 16 bis 18 zeigen sich deutliche Unterschiede zwischen den Durchgängen (**H-Test**: 4. bis 6. h:  $H=8,3$   $p < 0,05$  und 16. bis 18. h:  $H= 16,3$   $p < 0,001$ . **post-hoc Vergleich im t-Test**: *Durchgang 1 vs. 2*: 4. bis 6. h  $t(36)= 3,3$   $p < 0,01$ ; 16. bis 18. h  $t(36)= 4,0$   $p < 0,001$ ; *Durchgang 1 vs. 3*: 4. bis 6. h  $t(36)= 3,1$   $p < 0,01$ ; 16. bis 18. h  $t(36)= 5,2$   $p < 0,001$ ).

## Resultate

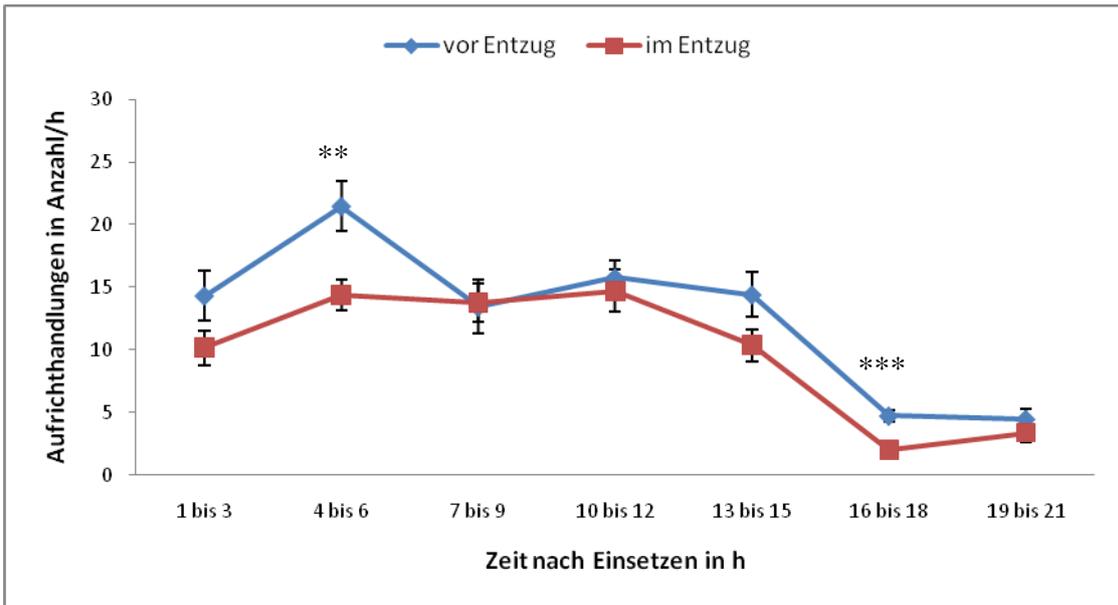


Abb.35: Anzahl aller Aufrichthandlungen pro h aufgetragen gegen die Zeit nach Einsetzen in 3-h-Werten für die Memantin-freiwillig-Gruppe (n=13) im Vergleich 7 Tage vor Entzug (vor Entzug) vs. 2 Tage nach Entzug (im Entzug), (\* p < 0,05; \*\* p < 0,01; \*\*\* p < 0,001; Signifikanzen siehe Text).

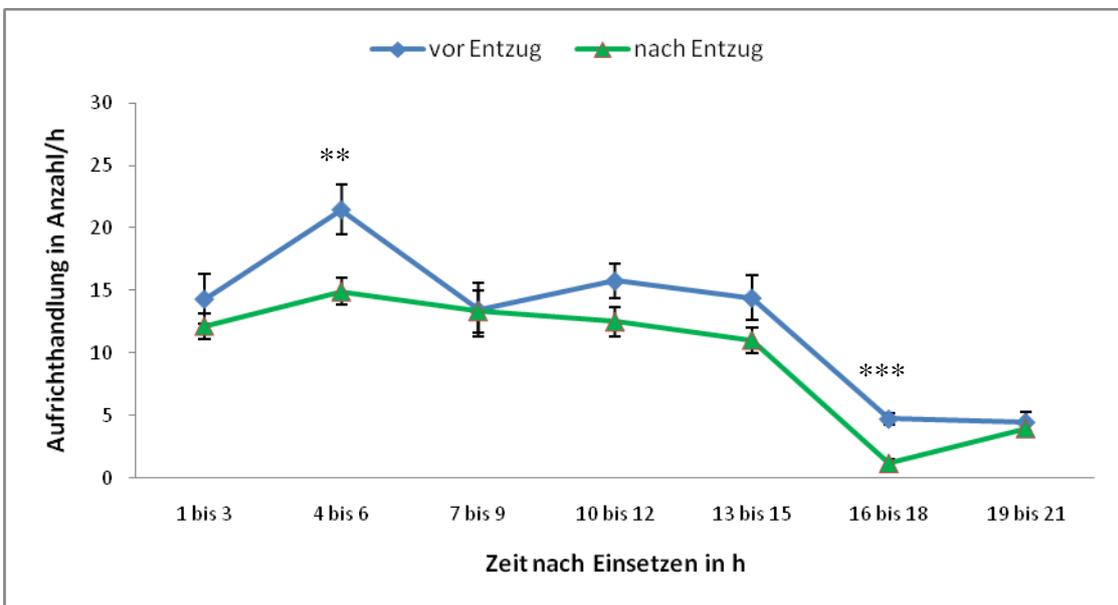


Abb.36: Anzahl aller Aufrichthandlungen pro h aufgetragen gegen die Zeit nach Einsetzen in 3-h-Werten für die Memantin-freiwillig-Gruppe (n=13) im Vergleich 7 Tage vor Entzug (vor Entzug) vs. 7 Tage nach Entzug (nach Entzug), (\* p < 0,05; \*\* p < 0,01; \*\*\* p < 0,001; Signifikanzen siehe Text).

In den Analysen des zeitlichen Anteils der Aufrichthandlungen an einer Stunde ergeben sich nur in der 1. Stunde der Dunkelphase deutliche Unterschiede zwischen den Durchgängen. Alle Gruppen sind vor dem Entzug längere Zeit aufgerichtet als im Entzug und danach. Für die Alkohol-Kontroll-Gruppe sinkt der prozentuale Anteil in der 4. Stunde von 8,9 % im 1. Durchgang auf 5,8 % im 2. Durchgang und 5,6 % im 3. Durchgang (**H-Test**: 4. h:  $H= 10,6$   $p < 0,01$ ). Bei der Wasser-Kontroll-Gruppe fällt der prozentuale Anteil in dieser Stunde von 8 % vor Entzug auf 6 % im Entzug und erreicht nach Entzug 3,2 % (**H-Test**: 4. h:  $H= 10,2$   $p < 0,01$ ). Die Memantin-forciert-Gruppe ist vor Entzug in der 1. Stunde der Dunkelphase 5,5 % der gesamten Zeit aufgerichtet, im Entzug noch 3,4 % und nach Entzug 2,7 % (**H-Test**: 4. h:  $H= 8,5$   $p < 0,05$ ). Für die Memantin-freiwillig-Gruppe ergibt sich ein Anteil von 6,8 % vor Entzug, 3,6 % im Entzug und 5 % nach Entzug (**H-Test**: 4. h:  $H= 8,9$   $p < 0,05$ ).

Die Anzahl der Aufrichthandlungen an den Trinkflaschen (Flüssigkeit-Trinken) ist bei der Alkohol-Kontroll-Gruppe in der 4. Stunde im 2. und 3. Durchgang niedriger als im 1. Durchgang (**H-Test**: 4. h:  $p < 0,05$ ;  $H= 6,3$ ). Die Wasser-Kontroll-Gruppe ist in dieser Stunde ebenfalls vor dem Entzug häufiger in den Bereichen der Trinkflaschen aufgerichtet als im Entzug und danach (**H-Test**: 4. h:  $p < 0,05$ ;  $H= 9,1$ ). Für die beiden anderen Gruppen ergibt sich zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied in der Anzahl der Aufrichthandlungen an den verschiedenen Trinkflaschen. Der zeitliche Anteil der Aufrichthandlungen an allen Flaschen pro Stunde zeigt bei allen Gruppen zu keiner Zeit einen signifikanten Unterschied.

Die Aufrichthandlungen an der Wasserflasche, bzw. an der Memantinflasche (Memantin-forciert-Gruppe) zeigen für alle Gruppen mit Entzug eine leichte Zunahme der Anzahl und des zeitlichen Anteils der Aufrichthandlungen an der Gesamtzeit. Diese Zunahme ist aber zu keinem Zeitpunkt signifikant.

Die Memantin-freiwillig-Gruppe richtet sich nach dem Entzug vor allem zu Beginn der Dunkelphase seltener an der Memantinflasche auf (Abb.37 und 38). Zu diesem Zeitpunkt ist zwischen dem 1. und 2. Durchgang kein Unterschied festzustellen, jedoch ein signifikanter Unterschied im Vergleich vor Entzug mit nach Entzug (**H-Test:** 4. bis 6. h:  $H=5,6$ ; n. s.; **post-hoc Vergleich im t-Test:** *Durchgang 1 vs. 2:* 4. bis 6. h:  $t(36)=1,9$ ; n. s.; *Durchgang 1 vs. 3:* 4. bis 6. h:  $t(36)=2,9$ ;  $p<0,01$ ) (Abb.37 und 38). In der zweiten Hellphase richten sich die Tiere ebenfalls seltener für Memantin auf (**H-Test:** 13. bis 15 h:  $H=6,3$ ;  $p<0,05$  **post-hoc Vergleich im t-Test:** *Durchgang 1 vs. 2:* 13. bis 15. h:  $t(36)=2,8$ ;  $p<0,01$ ; *Durchgang 1 vs. 3:* 13. bis 15. h:  $t(36)=2,3$ ;  $p<0,05$ ) (Abb.37 und 38). In der Analyse des zeitlichen Anteils der Aufrichthandlungen an der Gesamtzeit ergeben sich zu keiner Stunde signifikante Unterschiede.

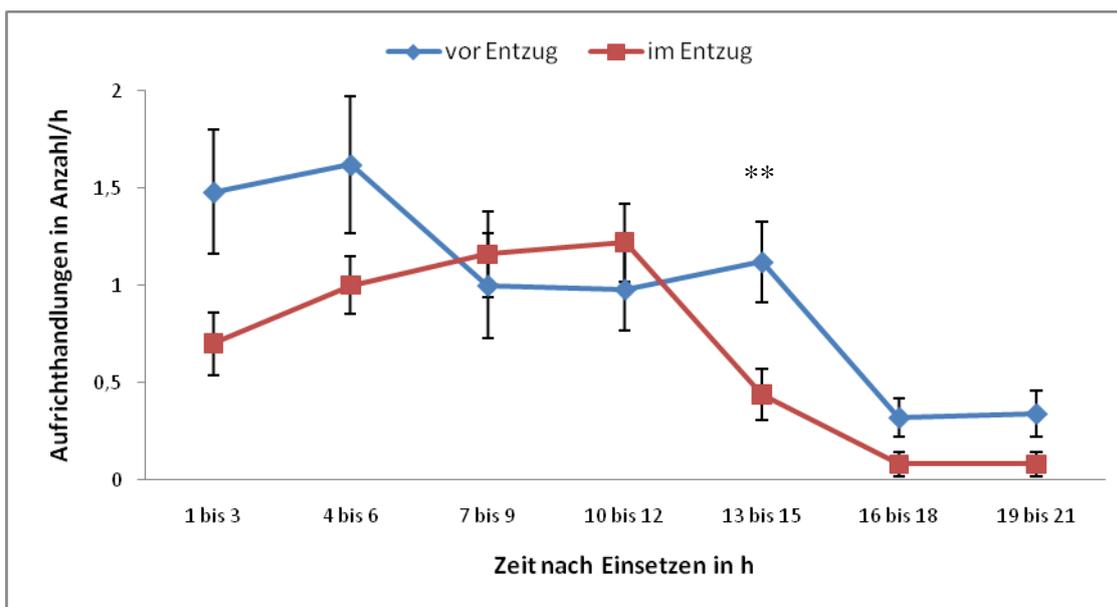


Abb.37: Anzahl der Aufrichthandlungen für Memantin pro h aufgetragen gegen die Zeit nach Einsetzen in 3-h-Werten für die Memantin-freiwillig-Gruppe (n=25) im Vergleich 7 Tage vor Entzug (vor Entzug) vs. 2 Tage nach Entzug (im Entzug), (\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ ; \*\*\*  $p<0,001$ ; Signifikanzen siehe Text).

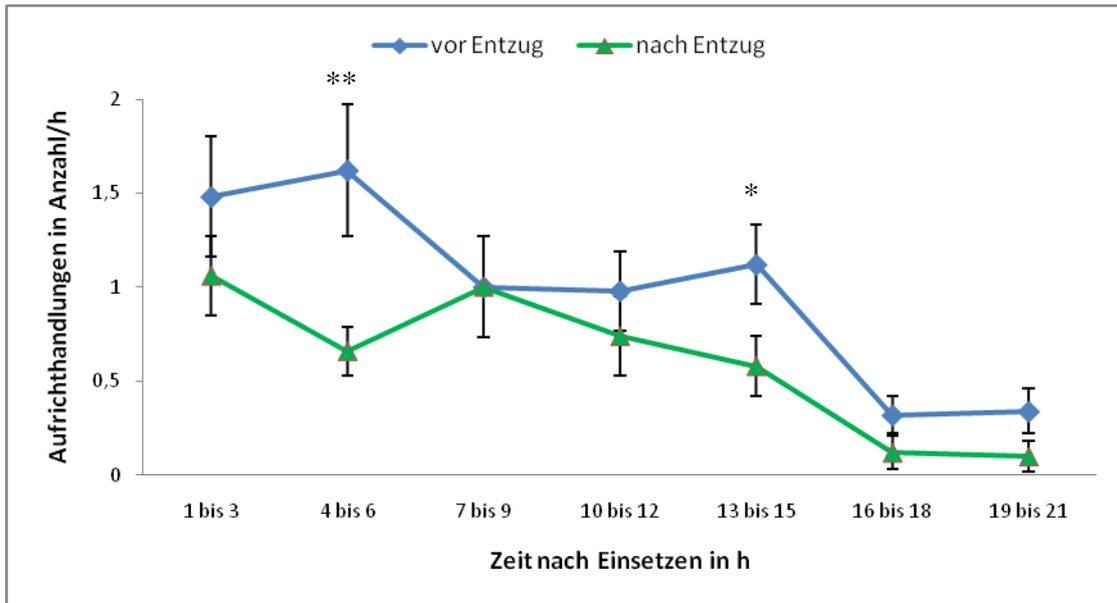


Abb.38: Anzahl der Aufrichthandlungen für Memantin pro h aufgetragen gegen die Zeit nach Einsetzen in 3-h-Werten für die Memantin-freiwillig-Gruppe (n=25) im Vergleich 7 Tage vor Entzug (vor Entzug) vs. 7 Tage nach Entzug (nach Entzug), (\* p< 0,05; \*\* p< 0,01; \*\*\* p< 0,001; Signifikanzen siehe Text).

Die Alkohol-Kontroll-Gruppe richtet sich im 2. und 3. Durchgang zu Beginn der Dunkelphase deutlich seltener für Futter auf als im 1. Durchgang. (**H-Test:** 4. bis 6. h:  $H= 14,2$ ;  $p< 0,001$ ; **post-hoc Vergleich im t-Test:** *Durchgang 1 vs. Durchgang 2:* 4. bis 6. h:  $t(36)= 4,2$ ;  $p<0,001$ ; *Durchgang 1 vs. 3:* 4. bis 6. h:  $t(36)= 3,8$ ;  $p<0,001$ ). Außerdem lässt sich feststellen, dass sich die Tiere in der Dunkelphase häufiger zum Fressen aufrichten als in den Hellphasen. Die aufrichtete Zeit ist zumindest für die 4. Stunde ebenfalls zwischen den Durchgängen unterschiedlich (**H-Test:** 4. h:  $H= 10,3$ ;  $p< 0,01$ ). In der restlichen Zeit ergeben sich keine Signifikanzen.

Die Anzahl an Aufrichthandlungen am Futterkorb ist für die Wasser-Kontroll-Gruppe zu keinem Zeitpunkt zwischen den Durchgängen signifikant unterschiedlich. Es zeigt sich aber ein etwas verändertes Einnahmemuster, denn vor und im Entzug ist die Gruppe in der ersten Hälfte der Dunkelphase häufiger dort aufrichtet, nach Entzug dagegen in der zweiten Hälfte der Dunkelphase. In der Analyse des zeitlichen Anteils ergeben sich nur in der 4.

Stunde signifikante Unterschiede zwischen den Durchgängen (**H-Test** 4. h:  $H=8,2$ ;  $p<0,05$ ).

Die Memantin-forciert-Gruppe richtet sich im Entzug in den ersten Stunden der Dunkelphase seltener für Futter auf als vor dem Entzug (**H-Test**: 4. bis 6. h:  $H=9,0$ ;  $p<0,05$ ; **post-hoc Vergleich im t-Test**: *Durchgang 1 vs. Durchgang 2*: 4. bis 6. h:  $t(38)=2,5$ ;  $p<0,05$ ). Dieser Unterschied wird in der Woche nach dem Entzug noch deutlicher (**H-Test**: 4. bis 6. h:  $H=9,0$ ;  $p<0,05$ ; **post-hoc Vergleich im t-Test**: *Durchgang 1 vs. Durchgang 3*: 4. bis 6. h:  $t(38)=3,3$ ;  $p<0,01$ ). Auch für den zeitlichen Anteil ergibt sich zu Beginn der Dunkelphase zwischen den Durchgängen ein deutlicher Unterschied (**H-Test**: 4. h:  $H=10,4$ ;  $p<0,01$ ; 5. h:  $H=8,2$ ;  $p<0,01$ ). In den anderen Stunden ergeben sich keine signifikanten Unterschiede.

Die Memantin-freiwillig-Gruppe ist ebenfalls zu Beginn der Dunkelphase am häufigsten vor Entzug am Futterkorb aufgerichtet. Ausserdem ergibt sich ein Unterschied in den ersten Stunden der Hellphase (**H-Test**: 4. bis 6. h:  $H=9,0$ ;  $p<0,05$ ; 16. bis 18. h:  $H=8,9$ ;  $p<0,05$ ; **post-hoc Vergleich im t-Test**: *Durchgang 1 vs. 2*: 4. bis 6. h:  $t(36)=3,6$ ;  $p<0,001$ ; *Durchgang 1 vs. 3*: 4. bis 6. h:  $t(36)=2,2$ ;  $p<0,05$ ; 16. bis 18. h:  $t(36)=3,0$ ;  $p<0,01$ ). Bezüglich des zeitlichen Anteils ergibt sich nur für die 4. Stunde ein signifikanter Unterschied zwischen den Durchgängen (**H-Test**: 4. h:  $H=10,8$ ;  $p<0,01$ ).

### 3.4.2.3. Musterbeginn-bezogene Analysen (Peri-event-time-Analysen)

Für die Aufenthaltswahrscheinlichkeit im Bereich der vier Trinkflaschen (Flüssigkeiten) nach dem Beginn einer Trinkhandlung ergibt sich nur für die Memantin-forciert-Gruppe zwischen den drei Durchgängen ein deutlicher Unterschied (Abb.39). Diese Gruppe zeigt nach dem Entzug deutlich kürzere Aufrichthandlungen in diesen Bereichen. Insbesondere drei Minuten nach Aufricht-Beginn, sinkt die Aufenthaltswahrscheinlichkeit auf unter 2 % ab (**H-Test**: 3. Minute:  $H=7,2$ ;  $p<0,05$ ) (Abb.39). Die anderen Gruppen zeigen in allen Durchgängen in den gemessenen Zeitintervallen ähnliche Zeitanteile, das

heißt die Aufrichtdauer ist in allen Durchgängen etwa gleich. In der 1. Minute nach Beginn einer Aufrichthandlung liegt die Aufenthaltswahrscheinlichkeit dieser Gruppen bei ca. 30 % und nach der 2. Minute sinkt sie auf etwa 10 % ab.

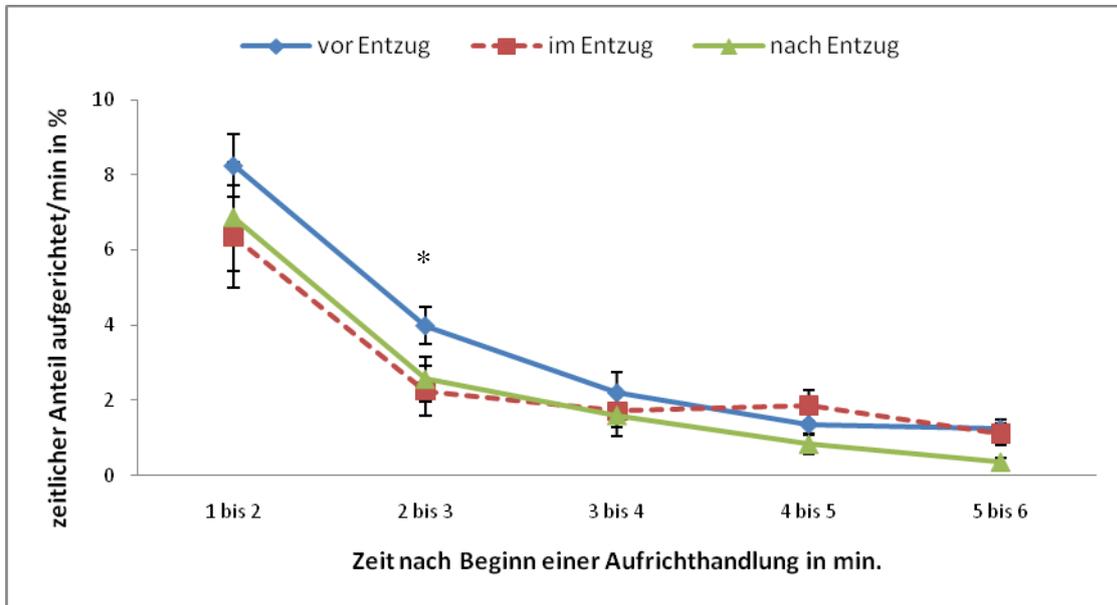


Abb.39: An den Trinkflaschen verbrachter Zeitanteil pro Zeiteinheit der Memantin-forciert-Gruppe (n=23) nach Beginn einer Trinkhandlung für Flüssigkeiten. Dargestellt für alle drei Durchgänge (\*  $p < 0,05$ , siehe Text).

Die Alkohol-Kontroll-Gruppe zeigt in allen drei Durchgängen nach Beginn einer Wassertrinkhandlung ähnliche Aufenthaltswahrscheinlichkeiten im Bereich der Wasserflasche. In der 1. Minute nach Beginn einer Aufrichthandlung sind die Tiere mit einer Wahrscheinlichkeit von etwa 26 % dort anzutreffen und ab der 3. Minute sinkt die Wahrscheinlichkeit auf unter 1 % ab.

Die Wasser-Kontroll-Gruppe ist im und nach Entzug in den ersten 3 Minuten nach Beginn einer Aufrichthandlung an der Wasserflasche länger dort aufgerichtet als vor Entzug (**H-Test**: 1. Minute:  $H = 7,2$ ;  $p < 0,05$ ; 2. Minute:  $H = 6,9$ ;  $p < 0,05$ ; 3. Minute:  $H = 8,3$ ;  $p < 0,05$ ).

Die Memantin-freiwillig-Gruppe dagegen zeigt keine Unterschiede zwischen den Durchgängen. Hier liegen die Werte in der 1 Minute bei  $27,4 \pm 2,9$  % vor Entzug,  $33,9 \pm 1,6$  % im Entzug und  $36,0 \pm 2,1$  % nach Entzug und sinken nach der 3. Minute auf Werte unter 1 %.

Auch die Memantin-forciert-Gruppe zeigt in den beiden letzten Durchgängen deutlich längere Trinkhandlungen an dieser Flasche, wobei die Flasche für diese Gruppe Memantin enthält. Hier steigt der Prozentanteil in der ersten Minute nach Beginn einer Aufrichthandlung von  $18,7 \pm 1,9$  % vor Entzug auf  $34,3 \pm 2,3$  % im Entzug bzw.  $36,5 \pm 3,5$  % nach Entzug (**H-Test**: 1. Minute:  $H=22,7$ ;  $p < 0,001$ ). Danach sinkt er auf unter 1 % ab der 3. Minute und ist dann nicht mehr signifikant unterschiedlich.

Für die Alkohol-Kontroll-Gruppe ergeben sich auch an den Alkohol-Flaschen (alle zusammen, oder einzeln) bezgl. der Trinkdauer keine Unterschiede zwischen den Durchgängen. Die Aufenthaltswahrscheinlichkeit nach Beginn einer Aufrichthandlung in den entsprechenden Sonderbereichen ist bei allen Durchgängen zu allen gemessenen Zeitpunkten etwa gleich. Für die Memantin-freiwillig-Gruppe zeigt sich an der Memantin-Flasche ebenfalls kein Unterschied. Zu allen drei Durchgängen sind die Tiere dieser Gruppe gleich lang nach Beginn einer Aufrichthandlung dort aufgerichtet.

Die Dauer der Fresshandlungen ist bei den Gruppen, welche einen Alkoholentzug machen, vor dem Entzug kürzer als im und nach dem Entzug. Bei der Wasser-Kontroll-Gruppe ist die Aufenthaltswahrscheinlichkeit in den ersten beiden Minuten nach Beginn einer Aufrichthandlung im und nach Entzug geringer als vor Entzug (**H-Test**: 1. Minute:  $H=11,6$ ;  $p < 0,01$ ; 2. Minute:  $H=6,2$ ;  $p < 0,05$ ). Für die Gruppe der forcierten Memantingabe zeigt sich in den ersten 3 Minuten ein noch deutlicher Unterschied zwischen den Durchgängen (**H-Test**: 1. Minute:  $H=12,9$ ;  $p < 0,01$ ; 2. Minute:  $H=14,1$ ;  $p < 0,001$ ; 3. Minute:  $H=6,9$ ;  $p < 0,05$ ). Der Unterschied zeigt sich bei der Memantin-freiwillig-Gruppe nur in der ersten Minute nach Beginn einer Aufrichthandlung (**H-Test**: 1. Minute:  $H=10,1$ ;  $p < 0,05$ ). Danach sind keine signifikanten Unterschiede mehr festzustellen.

### 3.4.2.4. Musterende-bezogene Analysen (Peri-event-time-Analysen)

Die Pausenlänge zwischen den Trinkhandlungen an den vier Trinkflaschen (Flüssigkeiten) ist nur bei der Memantin-forciert-Gruppe zwischen den Durchgängen unterschiedlich (**H-Test**: 1. bis 10. min:  $H=6,6$ ;  $p < 0,05$ ) (Abb.40). In den ersten 10 Minuten nach dem Ende einer Trinkhandlung befinden sich die Tiere dieser Gruppe insbesondere nach Entzug seltener an den Trinkflaschen (Abb.40). Bei allen anderen Gruppen sind die Durchgänge bezüglich der Aufenthaltswahrscheinlichkeit an den Trinkflaschen nach dem Ende einer Trinkhandlung nicht unterschiedlich.

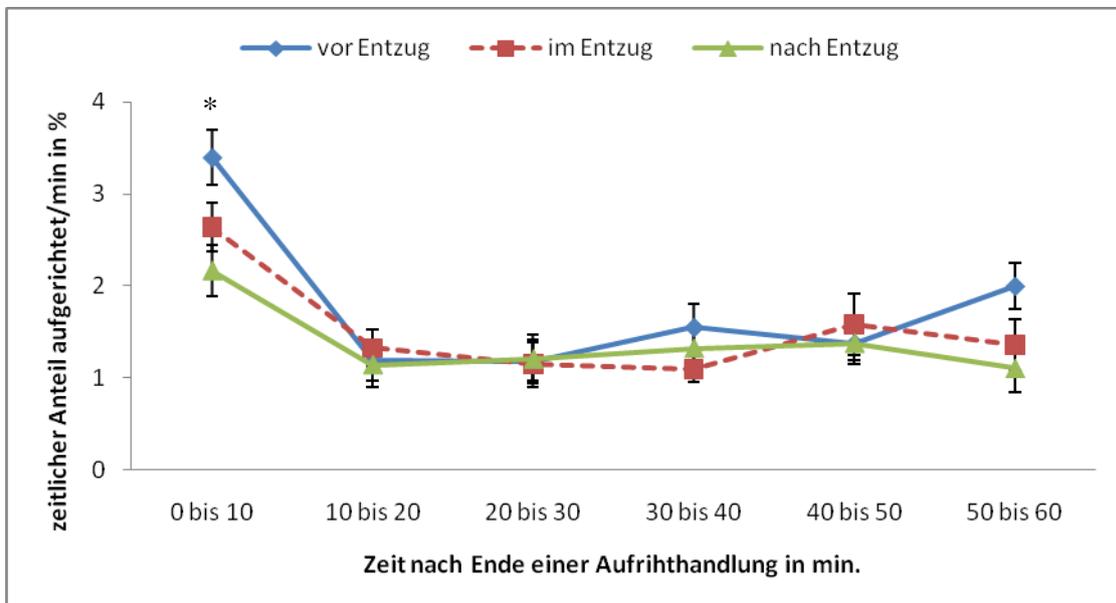


Abb.40: An den Trinkflaschen verbrachter Zeitanteil pro Zeiteinheit der Memantin-forciert-Gruppe (n=23) nach Ende einer Trinkhandlung für Flüssigkeiten. Dargestellt für alle drei Durchgänge in 10 Minuten-Intervallen (\*  $p < 0,05$ , siehe Text).

An der Wasserflasche ist die Aufenthaltswahrscheinlichkeit nach dem Ende einer Aufrichthandlung für die Gruppen mit Entzug zwischen den Durchgängen unterschiedlich. Für die Alkohol-Kontroll-Gruppe ergibt sich zwischen den Durchgängen zu keinem Zeitpunkt ein Unterschied. Für die Wasser-Kontrollgruppe ergeben sich ab dem zweiten 10-Minuten-Intervall bis eine Stunde nach dem Ende einer Aufrichthandlung an der Wasserflasche unterschiedliche Aufenthaltswahrscheinlichkeiten zwischen den Durchgängen

(**H-Test:** ab der 20. Minute pro Intervall  $H > 6,5$ ;  $p < 0,05$ ). Wobei die Tiere in den Durchgängen nach dem Entzug häufiger im Bereich der Wasserflasche anzutreffen sind, ihre Wahrscheinlichkeitswerte im und nach Entzug sind für die entsprechenden Intervalle höher als vor Entzug. Die Ergebnisse der Memantin-freiwillig-Gruppe sind ähnlich. Auch diese Gruppe weist in den beiden Durchgängen nach dem Entzug höhere Wahrscheinlichkeitswerte auf als vor Entzug. Die Unterschiede sind jedoch nur im 2., 5. und 6. 10-Minuten-Intervall signifikant (**H-Test:** 10. bis 20. Minute:  $H = 8,3$ ;  $p < 0,05$ ; 40. bis 50. Minute:  $H = 6,7$ ;  $p < 0,05$ ; 50. bis 60. Minute:  $H = 11,3$ ;  $p < 0,01$ ).

Die Memantin-forciert-Gruppe ist in den beiden Durchgängen nach dem Entzug in der ersten Stunde nach dem Ende einer Trinkhandlung an der Memantinflasche häufiger anzutreffen als vor dem Entzug. Die Durchgänge unterscheiden sich in den ersten 20. Minuten und wieder ab der 30. Minute signifikant von einander (**H-Test:** 1. und 2. 10-Minuten-Intervall:  $H = 6,6$ ;  $p < 0,05$  und  $H = 6,4$ ;  $p < 0,05$ ; 4. und 5. Intervall:  $H = 9,6$ ;  $p < 0,01$  und  $H = 10,6$ ;  $p < 0,01$ ). In den beiden anderen 10-Minuten-Intervallen sind die Unterschiede nicht signifikant.

Für die Alkohol-Kontroll-Gruppe ergeben sich an den Alkohol-Flaschen (alle zusammen, oder einzeln) für die Aufenthaltswahrscheinlichkeit nach dem Ende einer Trinkhandlung keine Unterschiede zwischen den Durchgängen. Die Aufenthaltswahrscheinlichkeit nach Ende einer Aufrichthandlung in den entsprechenden Sonderbereichen ist bei allen Durchgängen zu allen gemessenen Zeitpunkten etwa gleich. Für die Memantin-freiwillig-Gruppe zeigt sich an der Memantin-Flasche ebenfalls kein Unterschied. Zu allen drei Durchgängen sind die Tiere dieser Gruppe gleich lang nach dem Ende einer Aufrichthandlung dort aufgerichtet.

Die Ergebnisse der Auswertung des Bereichs um den Futterkorb zeigen, dass sich alle Gruppen vor Entzug in den ersten Minuten nach einem Ende einer Aufrichthandlung häufiger dort aufhalten als im Entzug und danach. Die Unterschiede sind bei allen Gruppen für die ersten 10 Minuten zwischen den Durchgängen im H-Test signifikant.

### 3.5. Schmerzschwellentestung

Für alle Gruppen steigt die Schmerzschwelle im Verlauf der drei Durchgänge an. Vor dem Entzug zeigen alle Tiere bei einer mA Zahl von 0,23 mA (Alkoholkontrollen) bis 0,28 mA (Wasserkontrollen) eine deutliche Reaktion (Tab.09). Im Entzug steigt die Schmerzschwelle bei allen Gruppen an, auch bei der Alkohol-Kontroll-Gruppe, welche im Grunde denselben Bedingungen wie im 1. Durchgang ausgesetzt ist und keinen Unterschied aufweisen sollte. Der Wert nach Entzug steigt nochmals an und liegt bei der Alkohol-Kontroll-Gruppe bei 0,42 mA, bei der Wasser-Kontroll-Gruppe bei 0,41 mA, bei den Memantin-forciert-Gruppen bei 0,41 mA und bei den Memantin-freiwillig-Gruppen bei 0,38 mA (Tab.09).

Es ist wahrscheinlich, dass die Mess-Methodik nicht adäquat war und / oder die Hardware nicht zu jedem Zeitpunkt gleich gut funktioniert hat und die vor jedem Durchgang durchgeführte Kalibrierung unterschiedlich ausfiel. Spätere Messungen mit den gleichen Geräten in anderen Studien zeigten, dass die Schockgeräte für Schmerzschwellenmessungen nicht hinreichend geeignet sind. Dies liegt wahrscheinlich einerseits an der Wellenform der Reizung (zu lange Stromstöße) und zum anderen an der mangelhaften Einstellbarkeit der Zielspannung (zu große Schritte zwischen den Teststromstärken) und einem unzureichenden Signal-Rauschverhältnis. Inwieweit diese Unzulänglichkeiten für das negative Ergebnis der Messungen verantwortlich sind, lässt sich schwer abschätzen. Eine Korrektur war nicht möglich, zumal die Schwächen der Messung erst nach Ende der Studie festgestellt wurden. Die Ergebnisse sind auf Grund dessen nicht interpretierbar und werden in der Diskussion nicht besprochen.

Tab.09: Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SAB) der Schmerzschwelle in mA für die Alkohol-Kontroll-, Wasser-Kontroll-Gruppe, Memantin-freiwillig- und Memantin-forciert-Gruppen. 7 Tage vor Entzug (vor Entzug), 2 Tage nach Entzug (im Entzug), 7 Tage nach Entzug (nach Entzug).

	Alkohol-Kontroll-Gruppe			Wasser-Kontroll-Gruppe		
	vor Entzug	im Entzug	nach Entzug	vor Entzug	im Entzug	nach Entzug
MW (mA)	0,23	0,31	0,42	0,28	0,35	0,41
SAB (mA)	0,05	0,11	0,11	0,04	0,16	0,08
	Memantin-forciert-Gruppen			Memantin-freiwillig-Gruppen		
	vor Entzug	im Entzug	nach Entzug	vor Entzug	im Entzug	nach Entzug
MW (mA)	0,25	0,40	0,41	0,25	0,30	0,38
SAB (mA)	0,05	0,12	0,10	0,06	0,07	0,11

### 3.6. Entzug, Abstinenz und zweiter Retest

#### 3.6.1. Verlaufsdaten bis zum zweiten Retest

Die Tiere der einzelnen Gruppen nehmen über den gesamten Zeitverlauf kontinuierlich an Gewicht ab. Drei Wochen vor dem Entzug (Woche 19) liegen die Gewichtswerte aller Gruppen zwischen 561 g und 599 g (Tab.10). Die Unterschiede sind nicht signifikant. Am Ende des Versuchs haben die Tiere im Durchschnitt etwas mehr als 10 % ihres Gewichtes, ausgehend von der 19. Woche, verloren. Die Tiere sind zu diesem Zeitpunkt älter als 2 Jahre. Während des gesamten Versuchsablaufes ist die Gewichtsentwicklung der Tiere der verschiedenen Gruppen nicht signifikant unterschiedlich.

Tab.10: Gewichtswerte in g ab der 19. bis zur 37. Woche, angegeben als Mittelwerte (MW) von je 3 Wochen, mit ihren Standardfehlern (SEM). **WK**: Wasserkontrollgruppe; **AK**: Alkoholkontrollgruppe; **SF**: Memantin-forciert-Gruppe kurze Gabe (8 Wochen); **SW**: Memantin-freiwillig-Gruppe kurze Gabe (8 Wochen); **ZF**: Memantin-forciert-Gruppe lange Gabe (13 Wochen); **ZW**: Memantin-freiwillig-Gruppe lange Gabe (13 Wochen)

	Woche 19 bis 21	Woche 22 bis 24	Woche 26 bis 28	Woche 32 bis 34	Woche 35 bis 37
<b>WK</b>	575,7 ± 13,1	568,6 ± 13,2	556,5 ± 13,0	534,8 ± 15,9	516,4 ± 19,3
<b>AK</b>	582,9 ± 19,8	574,3 ± 20,7	570,9 ± 23,0	534,6 ± 29,9	509,0 ± 35,2
<b>SF</b>	563,6 ± 10,5	551,8 ± 10,0	542,4 ± 10,5	533,0 ± 10,5	520,4 ± 12,8
<b>ZF</b>	599,2 ± 14,8	582,9 ± 12,8	572,7 ± 14,2	547,0 ± 15,9	537,6 ± 16,0
<b>SW</b>	561,0 ± 14,0	557,1 ± 13,3	544,6 ± 13,5	516,3 ± 18,3	500,6 ± 20,8
<b>ZW</b>	588,4 ± 17,8	578,9 ± 18,5	572,5 ± 19,0	548,9 ± 25,3	526,3 ± 29,5

Die Futterverbrauchswerte der verschiedenen Gruppen sind über den gesamten Zeitraum nicht signifikant unterschiedlich. In der Abbildung (Abb.41) dargestellt ist der Vergleich zwischen der Alkohol-Kontroll- (**AK**) und der Memantin-forciert-Gruppe (**SF**). Für die Gruppen, welche den Alkohol abgesetzt bekommen, steigt der Futterverbrauch ab dem Entzug etwas an (Abb.41). Die Alkohol-Kontroll-Gruppe nimmt bis zur Gruppenhaltung täglich etwa gleichviel Futter zu sich. Während der ersten Woche der Gruppenhaltung sinkt der Verbrauch bei allen Gruppen kurzzeitig ab (Abb.41). Danach steigt er, besonders bei den Gruppen mit Alkoholentzug erheblich an (Abb.41). Beim Wechsel zurück in die Einzelhaltung fällt der Wert bei diesen Gruppen leicht ab und bleibt bis zum Retest auf diesem Niveau (Abb.41). Die Alkohol-Kontroll-Gruppe verringert ihren Futterverbrauch bereits während der Gruppenhaltung und zeigt beim Wechsel zurück zur Einzelhaltung nur einen geringen Abfall des Verbrauchs (Abb.41).

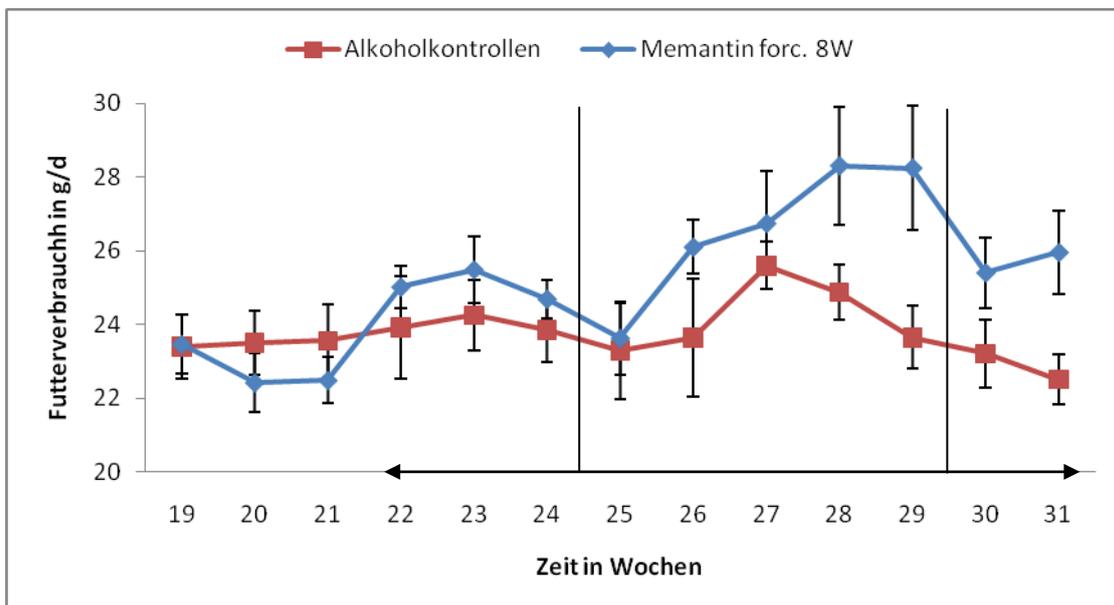


Abb.41: Futterverbrauch in g/d von der 19. Bis zur 31. Woche. Der Doppelpfeil markiert den Zeitraum der Abstinenz (22. bis 31. Woche), Die Trennstriche markieren die 5 Wochen der Gruppenhaltung (25. bis 29. Woche). Alkoholkontrollgruppe (AK, n=9) im Vergleich mit Memantin-forciert-Gruppe (SF, n=7) (Memantin forc. 8W).

Die totale Flüssigkeitseinnahme der 6 verschiedenen Gruppen unterscheidet sich zum Teil deutlich voneinander. Insbesondere in den ersten drei Wochen nach dem Alkoholentzug (**H-Test**: Woche 22:  $H= 18,1$ ;  $p < 0,01$ ; Woche 23:  $H= 14,7$ ;  $p < 0,05$ ; Woche 23:  $H= 12,2$ ;  $p < 0,05$ ). Die Unterschiede ergeben sich beim Vergleich der Flüssigkeitsverbrauchswerte zwischen der Alkohol-Kontroll-Gruppe und den beiden Memantin-forciert-Gruppen (**SF**, **ZF**). Alle anderen Gruppen nehmen über den gesamten Zeitraum etwa gleich viel Flüssigkeit wie die Alkohol-Kontroll-Gruppe zu sich. In den Abbildungen (Abb.42 und 43) sind die Verbrauchswerte der Alkohol-Kontroll-Gruppe im Vergleich mit den beiden Memantin-forciert-Gruppen von der 19. Woche bis zur 31. Woche dargestellt. Vor dem Entzug unterscheidet sich die eingenommene Trinkmenge nicht voneinander (Abb.42 und 43). Ab der 22. Woche reduzieren beide Memantin-forciert-Gruppen massiv ihre Trinkmenge von ca. 40 ml/d auf unter 30 ml/d (Abb.42 und 43). Die Unterschiede sind für die Wochen 22 bis 24 signifikant (**post-hoc Vergleich im t-Test**: Gruppe AK vs. ZF: Woche 22:  $t(49)= 2,7$ ;  $p < 0,01$ ; Woche 23:  $t(49)= 2,9$ ;  $p < 0,05$ ; Woche 24:  $t(49)= 2,7$ ;  $p < 0,05$ ; Gruppe AK vs. SF:  $t(49)= 2,8$ ;  $p < 0,01$ ; Woche 23:  $t(49)= 2,6$ ;  $p < 0,05$ ; Woche 24:  $t(49)= 2,3$ ;  $p < 0,05$ ). Die Memantin-forciert-Gruppe ZF steigert die Trinkmenge langsam wieder etwas an und erreicht ab dem Haltungswechsel von Einzel- in Gruppenhaltung die Trinkmenge der Alkohol-Kontroll-Gruppe (Abb.42). Die Memantin-forciert-Gruppe SF bleibt auf dieser niedrigen Trinkmenge bis ihr das Memantin abgesetzt wird (Abb.43). Erst dann steigert sie die Trinkmenge und erreicht etwas höhere Werte als die Alkohol-Kontroll-Gruppe (Abb.43). Ab dem zweiten Haltungswechsel zurück in Einzelhaltung reduzieren beide Memantin-forciert-Gruppen erneut ihre Trinkmenge, wohingegen die Tiere der Alkohol-Kontroll-Gruppe ihre Trinkmenge nach dem Wechsel steigern (Abb.42 und 43). Sowohl beide Memantin-freiwillig-Gruppen als auch die Wasser-Kontroll-Gruppe senken ihre Trinkmenge nach dem Wechsel von Gruppen- in Einzelhaltung. Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind aber bis zum Retest nicht mehr signifikant. Zwischen den Memantin-forciert-Gruppen (**ZF**, **SF**) aber auch zwischen den Memantin-freiwillig-Gruppen (**ZW**, **SW**) gibt es zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede.

## Resultate

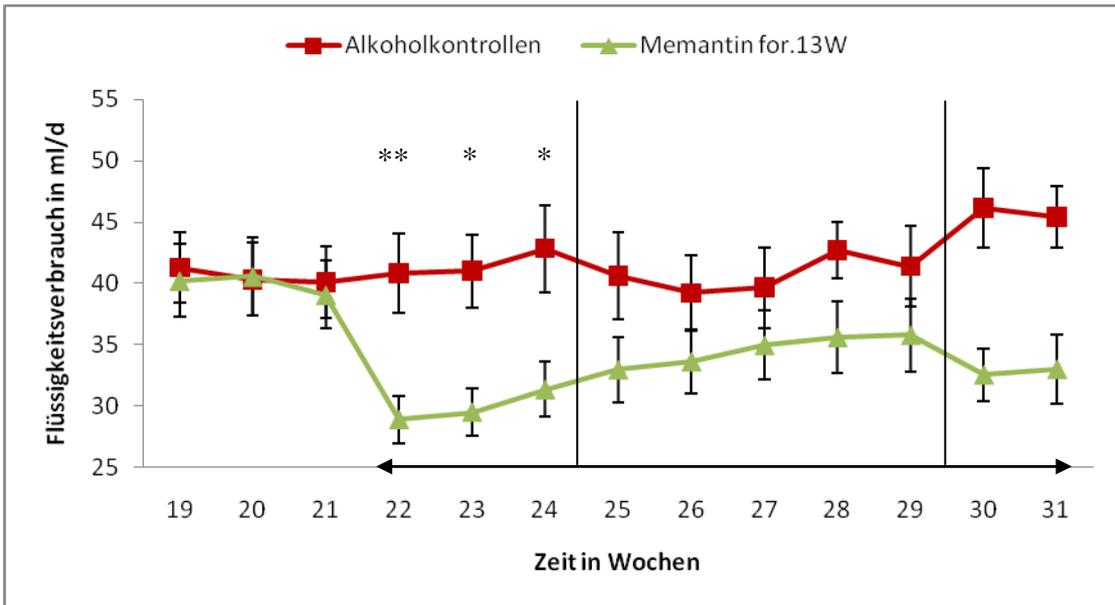


Abb.42: Totale Flüssigkeitseinnahme in ml/d der Memantini-forciert-Gruppe (ZF, forc. 13 W, n=6) im Vergleich mit der Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=9) von der 19. bis zur 31. Woche. Der Doppelpfeil markiert den Zeitraum der Abstinenz (22. bis 31. Woche), Die Trennstriche markieren die 5 Wochen der Gruppenhaltung (25. bis 29. Woche). (\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , siehe Text).

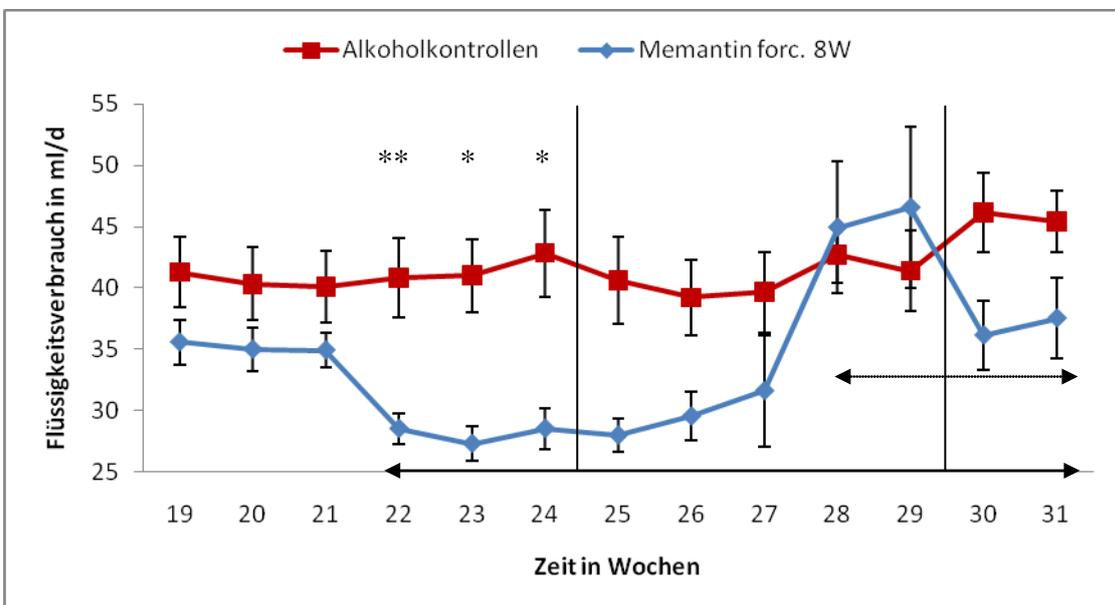


Abb.43: Totale Flüssigkeitseinnahme in ml/d der Memantini-forciert-Gruppe (SF, forc. 8 W, n=7) im Vergleich mit der Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=9) von der 19. bis zur 31. Woche. Der Doppelpfeil markiert den Zeitraum der Abstinenz (22. bis 31. Woche). Die Trennstriche markieren die 5 Wochen der Gruppenhaltung (25. bis 29. Woche). Der gestrichelte Doppelpfeil markiert das Memantini-Absetzen (Woche 28). (\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , siehe Text).

Die Verläufe der eingenommenen Memantindosis unterscheiden sich sowohl zwischen den beiden Memantin-forciert- als auch zwischen den beiden Memantin-freiwillig-Gruppen nicht. In den Wochen 20 und 21 bekommen die Memantin-forciert-Gruppen neben dem Memantin noch die 3 Alkohollösungen, in denen kein Memantin enthalten ist. In diesen 2 Wochen liegt die eingenommene Dosis der Gruppe **SF** bei 0,8 mg/kg KG/d und die der Gruppe **ZF** bei 1,0 mg/kg KG/d (Abb.44). Die Tiere trinken nur geringe Mengen der Memantinlösung. Ab der 22. Woche liegt die Dosis bei beiden Gruppen über 6 mg/kg KG/d (Abb.44). Der Wechsel von Einzel- zu Gruppenhaltung führt zu einem Anstieg der eingenommenen Dosis. Die Gruppe **SF** nimmt zuletzt eine Dosis von über 8 mg/kg KG/d ein. Auch die Gruppe **ZF** hat in der Gruppenhaltung einen leicht höheren Verbrauch als in der Einzelhaltung (Abb.44). Nach dem Wechsel zurück zur Einzelhaltung sinkt der Verbrauch etwas ab, bleibt aber bei Werten über 7 mg/kg KG/d (Abb.44). In der 32. Woche fällt der Verbrauch auf 2,1 mg/kg KG/d (Abb.44).

Die Memantin-freiwillig-Gruppen nehmen deutlich weniger Memantin zu sich. In den ersten 2 Wochen der überlappenden Gabe von Memantin, Alkohol und Wasser ist die Dosis mit 0,03 mg/kg KG/d sehr gering (Abb.45). In der 22. Woche steigt der Verbrauch bei der Gruppe **SW** auf einen Wert von  $0,33 \pm 0,2$  mg/kg KG/d an (Abb.45). Bei der Gruppe **ZW** ist dieser Anstieg nicht festzustellen. Auffälliger ist aber der sehr starke Anstieg der eingenommenen Dosis in der Woche des Haltungswechsels von Einzel- in Gruppenhaltung bei beiden Gruppen. Hier nehmen beide Gruppen plötzlich weit über 0,5 mg/kg KG/d zu sich (Abb.45). Der höhere Konsum bleibt auch während der Gruppenphase bestehen und sinkt beim Wechsel zurück in die Einzelhaltung wieder auf die niedrigen Werte ab. Die Tiere ändern bei den Haltungswechseln ihre Memantindosis (Abb.45). In der 32. Woche ist keine Veränderung der eingenommenen Memantindosis festzustellen.

## Resultate

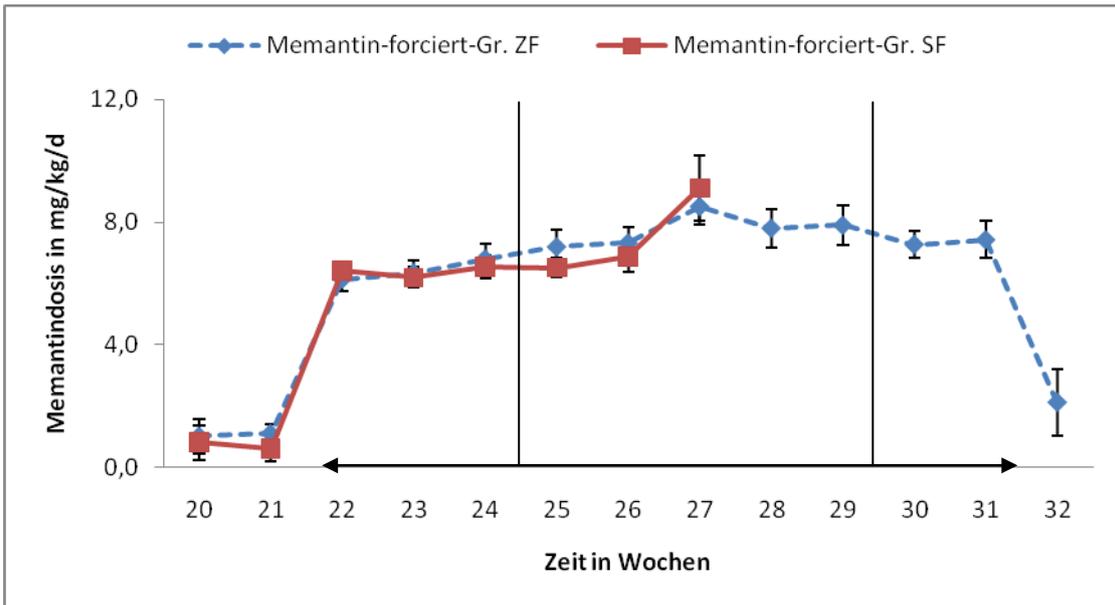


Abb.44: Memantindosis in mg/kg/d von der 20. bis zur 32. Woche. **SF**: Memantin-forciert-Gruppe, kurze Gabe (n=7). **ZF**: Memantin-forciert-Gruppe, lange Gabe (n=6). Der Doppelpfeil markiert den Zeitraum der Abstinenz (22. bis 31. Woche). Die Trennstriche markieren die 5 Wochen der Gruppenhaltung (25. bis 29. Woche). Ab der 28. Woche bekommt nur noch die Gruppe ZF Memantin.

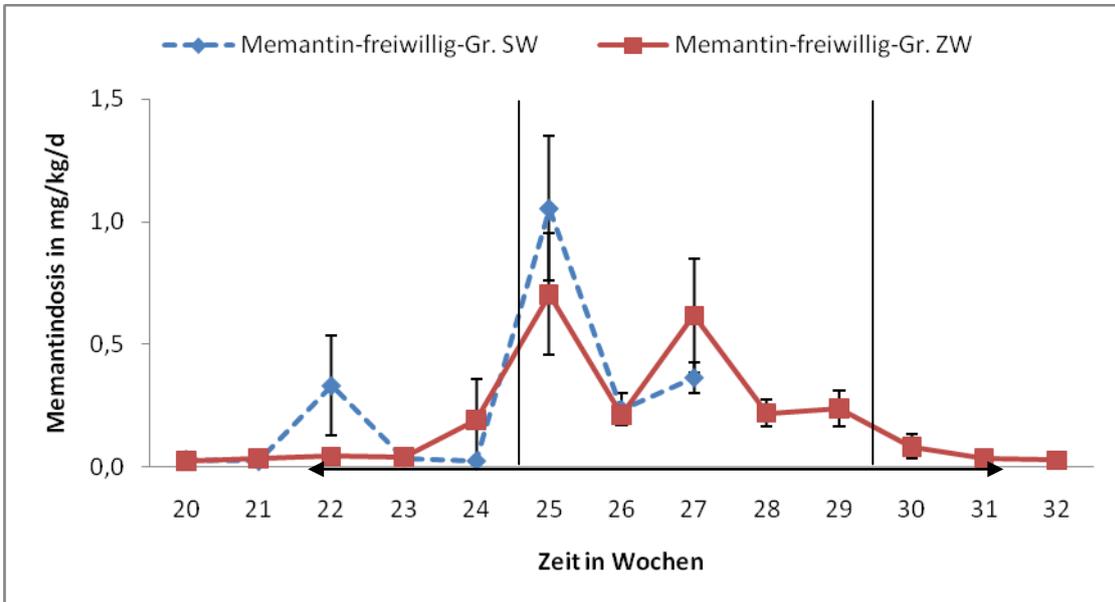


Abb.45: Memantindosis in mg/kg/d von der 20. bis zur 32. Woche. **SW**: Memantin-freiwillig-Gruppe, kurze Gabe n=9. **ZW**: Memantin-freiwillig-Gruppe, lange Gabe n=7. Der Doppelpfeil markiert den Zeitraum der Abstinenz (22. bis 31. Woche). Die Trennstriche markieren die 5 Wochen der Gruppenhaltung (25. bis 29. Woche). Ab der 28. Woche bekommt nur noch die Gruppe ZW Memantin.

### 3.6.2. Verlaufsdaten im zweiten Retest mit Alkoholangebot

In der unten aufgeführten Tabelle (Tab.11) ist der Futterverbrauch in kumulierten Werten angegeben. Zwei Wochen vor Retest-Beginn liegt der Futterverbrauch bei den Entzugs-Gruppen deutlich höher als bei der Alkohol-Kontroll-Gruppe. Nach Beginn des Retests (3 Alkoholkonzentrationen vs. Wasser) liegt der Futterverbrauch aller Gruppen um 22 g und entspricht dem der Alkohol-Kontroll-Gruppe. In den letzten 3 Wochen des Retest wird für alle 6 Gruppen der Alkohol mit dem Bitterstoff Chininhydrochlorid vergällt. In diesem Zeitraum steigt bei fast allen Gruppen der Verbrauch an, insbesondere bei den Tieren, welche zuvor Memantin forciert erhalten haben (Tab.11).

Tab.11: Futterverbrauch in g/d aller Gruppen über den Zeitverlauf des Retests. Der erste Wert beinhaltet die 2 Wochen vor dem Entzug. Der zweite Wert beinhaltet die ersten 3 Wochen im Retest (3 Alkoholkonzentrationen vs. Wasser), der letzte Wert gibt den Zeitraum der letzten 3 Wochen des Retests an, hier ist der Alkohol mit dem Bitterstoff Chininhydrochlorid vergällt. **WK**: Wasserkontrollgruppe; **AK**: Alkoholkontrollgruppe; **SF**: Memantin-forciert-Gruppe kurze Gabe (8 Wochen); **SW**: Memantin-freiwillig-Gruppe kurze Gabe (8 Wochen); **ZF**: Memantin-forciert-Gruppe lange Gabe (13 Wochen); **ZW**: Memantin-freiwillig-Gruppe lange Gabe (13 Wochen).

	WK	AK	SF	ZF	SW	ZW
Woche 30 u. 31	26,9 ± 1,2	22,9 ± 0,8	25,7 ± 1,0	24,3 ± 1,2	25,3 ± 1,1	24,9 ± 1,1
Woche 32 bis 34	23,2 ± 0,9	22,6 ± 1,1	22,5 ± 0,6	22,2 ± 1,3	22,7 ± 1,1	22,2 ± 0,8
Woche 35 bis 37	24,5 ± 1,1	23,4 ± 2,0	25,1 ± 1,0	24,0 ± 1,2	22,8 ± 1,6	23,2 ± 1,3

Die Trinkmenge der verschiedenen Gruppen vor und im Retest ist in Tabelle 12 dargestellt. Die Alkohol-Kontroll-Gruppe hat in der 30. und 31 Woche den höchsten Verbrauch an Flüssigkeit, gefolgt von den Memantin-freiwillig-Gruppen und der Wasser-Kontroll-Gruppe. Die beiden Memantin-forciert-Gruppen zeigen den niedrigsten Flüssigkeitsverbrauch, wobei die Gruppe SF etwas höher als die Gruppe ZF liegt (Tab.12). Interessanterweise liegt die totale Flüssigkeitsmenge trotz des Zugriffs auf reines Wasser bei der Gruppe SF unter dem der Wasser-Kontroll-Gruppe und Memantin-freiwillig-Gruppen. In den

ersten 3 Wochen des Retests steigen die Flüssigkeitsmengen der Gruppen, welche zuvor keinen Alkohol zur Verfügung hatten, deutlich an. Den größten Anstieg zeigen die Memantin-forciert-Gruppen (Tab.12). Bei Vergällung des Alkohols (35. bis 37. Woche) sieht man bei allen Gruppen einen Abfall der Flüssigkeitseinnahme. Dieser Rückgang ist bei den 4 Gruppen, welche zuvor Memantin erhalten hatten, am deutlichsten zu sehen (Tab.12). Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind zu keinem Zeitpunkt signifikant.

Tab.12: Totale Flüssigkeitseinnahme in ml/d aller Gruppen über den Zeitverlauf des Retests. Der erste Wert beinhaltet die 2 Wochen vor dem Entzug, der zweite Wert beinhaltet die ersten 3 Wochen im Retest (3 Alkoholkonzentrationen vs. Wasser), der letzte Wert gibt den Zeitraum der letzten 3 Wochen des Retests an, hier ist der Alkohol mit dem Bitterstoff Chininhydrochlorid vergällt. **WK**: Wasserkontrollgruppe; **AK**: Alkoholkontrollgruppe; **SF**: Memantin-forciert-Gruppe kurze Gabe (8 Wochen); **SW**: Memantin-freiwillig-Gruppe kurze Gabe (8 Wochen); **ZF**: Memantin-forciert-Gruppe lange Gabe (13 Wochen); **ZW**: Memantin-freiwillig-Gruppe lange Gabe (13 Wochen).

	WK	AK	SF	ZF	SW	ZW
Woche 30 u. 31	38,9 ± 3,5	45,8 ± 2,9	36,8 ± 3,1	32,8 ± 2,5	39,9 ± 4,5	43,4 ± 3,6
Woche 32 bis 34	42,0 ± 3,0	46,9 ± 3,0	44,2 ± 2,9	47,8 ± 4,7	44,6 ± 4,4	46,4 ± 2,4
Woche 35 bis 37	41,5 ± 2,6	46,8 ± 4,2	40,8 ± 3,3	39,0 ± 2,5	38,8 ± 6,1	45,5 ± 3,6

Zwischen den verschiedenen Gruppen zeigt sich für den Zeitverlauf der Ethanoldosis nur in der ersten Woche des Retests ein deutlicher Unterschied (**H-Test**: Woche 32:  $H = 13,6$ ;  $p < 0,05$ ). In den anderen Wochen sind keine Unterschiede festzustellen. Im Folgenden wird der Verlauf der einzelnen Gruppen jeweils im Vergleich zur Alkohol-Kontroll-Gruppe dargestellt.

Die Ethanoldosis der Alkohol-Kontroll-Gruppe ist bis zum Zeitpunkt der Vergällung der Alkoholflaschen mit Chininhydrochlorid relativ stabil und liegt mit durchschnittlich  $2,4 \pm 0,4$  g/kg KG/d auf einem vergleichsweise hohen Wert (Abb.46). In der 35. Woche (Beginn des Bitterstoff-Tests) fällt die Dosis auf

einen Wert von  $0,5 \pm 0,2$  g/kg KG/d ab und bleibt bis zum Ende des Versuchs auf diesem niedrigen Niveau (Abb.46). Die Wasser-Kontroll-Gruppe zeigt nach der Abstinenz sofort wieder einen sehr hohen Alkoholkonsum. Sie erreicht nach der Abstinenz eine Ethandosis von  $3,2 \pm 0,2$  g/kg KG/d (Abb.46). Dieser Wert ist doppelt so hoch wie der Wert vor dem Entzug ( $1,6 \pm 0,3$  g/kg KG/d) und liegt auch über dem Wert der Alkohol-Kontroll-Gruppe. In der 2. und 3. Woche des Retest sinkt der Wert auf  $2,5 \pm 0,2$  g/kg KG/d ab (Abb.46). Die Tiere nehmen jetzt gleich viel Ethanol zu sich wie die Tiere der Alkoholkontrollen. Bei Vergällung des Alkohols sinkt die Dosis ebenfalls auf ca.  $0,5$  g/kg KG/d ab und bleibt bis zum Ende so niedrig (Abb.46).

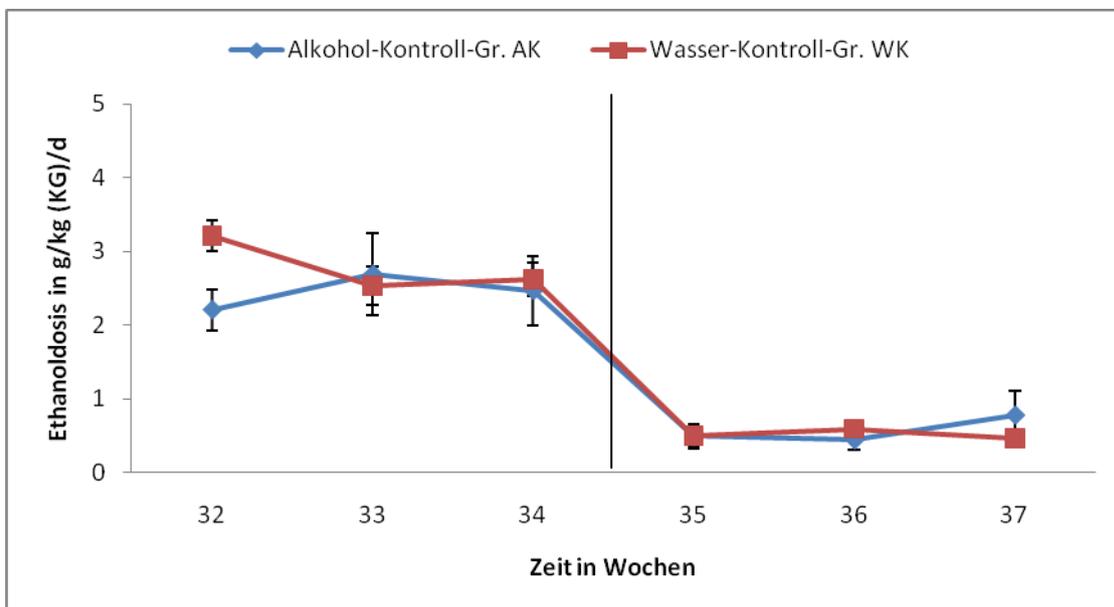


Abb.46: Ethandosis in g/kg (KG)/d über den Verlauf des 6-wöchigen Retest. **WK**: Wasser-Kontroll-Gruppe (n=10) **AK**: Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=9). Der Trennstrich zwischen Woche 34 und 35 markiert den Beginn der Bitterstoffvergällung der 3 Alkoholflaschen mit Chininhydrochlorid.

Nach dem Entzug und der Abstinenz zeigt die Memantin-forciert-Gruppe **SF** einem ungewöhnlich hohen Alkoholkonsum von  $4,1 \pm 0,4$  g/kg KG/d (Abb.47). Dieser hohe Konsum fällt in den nächsten 2 Wochen geringfügig ab und erreicht in der Woche vor der Vergällung einen Wert von  $3,5 \pm 0,3$  g/kg KG/d (Abb.47). Der Unterschied zur Alkohol-Kontroll-Gruppe ist in der 32. Woche signifikant (**post-hoc Vergleich im t-Test**: Woche 32:  $t(49) = 3,2$ ;  $p > 0,01$ ),

danach sind die Unterschiede nicht mehr signifikant. Ab der Vergällung fällt die Dosis auf durchschnittlich  $1,0 \pm 0,3$  g/kg KG/d ab und liegt damit etwa doppelt so hoch wie bei der Alkohol-Kontroll- und Wasser-Kontroll-Gruppe (Abb.47). Der Unterschied ist jedoch nicht signifikant.

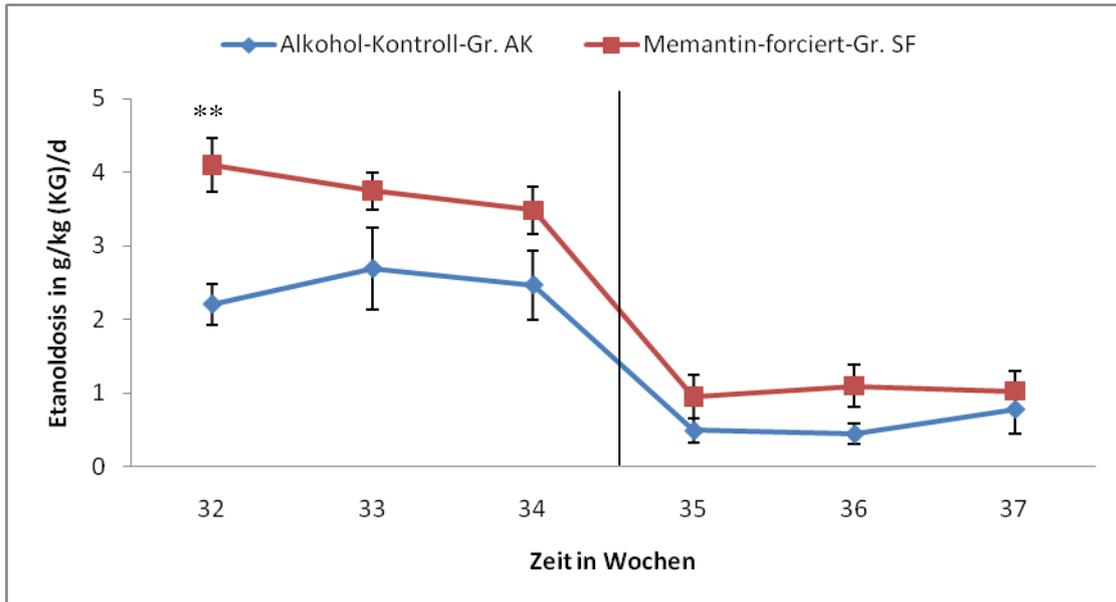


Abb.47: Ethanoldosis in g/kg (KG)/d über den Verlauf des 6-wöchigen Retest. **SF**: Memantin-forciert-Gruppe, kurze Gabe n=7. **AK**: Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=9). Der Trennstrich zwischen Woche 34 und 35 markiert den Beginn der Bitterstoffvergällung der 3 Alkoholflaschen mit Chininhydrochlorid.

Die Memantin-forciert-Gruppe **ZF** trinkt in der 32. Woche  $3,3 \pm 0,5$  g/kg KG/d Ethanol und liegt damit deutlich über der Dosis vor dem Entzug, welche  $2,4 \pm 0,2$  g/kg KG/d beträgt (Abb.48). Die Dosis steigt nach Absetzen des Memantins leicht an und bleibt bis zur Vergällung bei Werten über 3 g/kg KG/d. Ab dem Zeitpunkt der Vergällung fällt die Dosis auf einen Wert von  $0,6 \pm 0,2$  g/kg KG/d ab (Abb.48). Die Werte sind zu keinem Zeitpunkt von denen der Alkoholkontrollgruppe signifiaknt unterschiedlich (Abb.48).

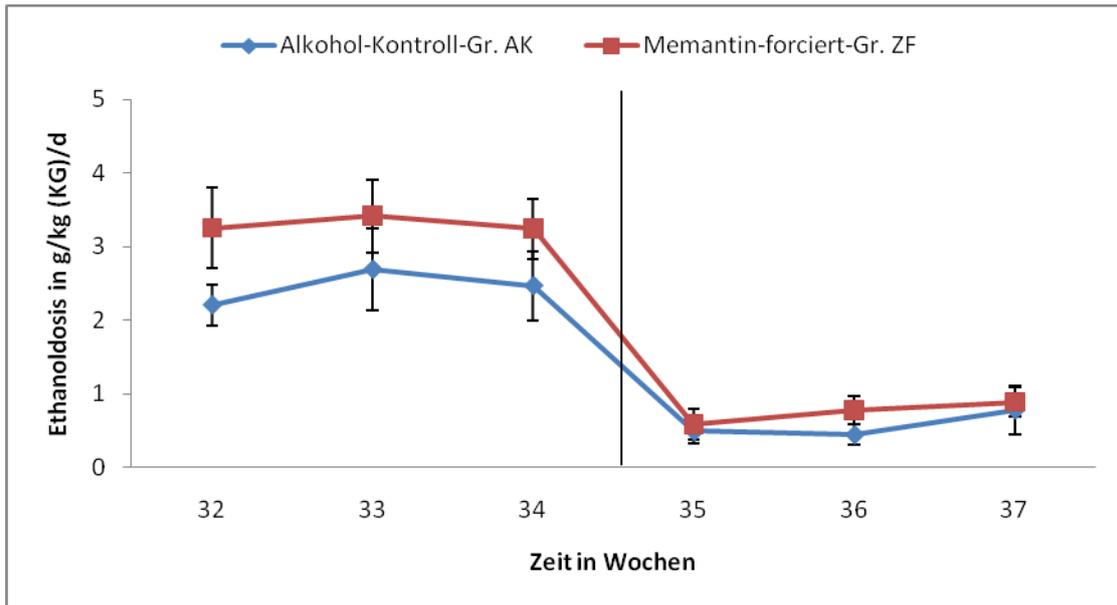


Abb.48: Ethanolosis in g/kg (KG)/d über den Verlauf des 6-wöchigen Retest. **ZF**: Memantin-forciert-Gruppe, lange Gabe n=6. **AK**: Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=9). Der Trennstrich zwischen Woche 34 und 35 markiert den Beginn der Bitterstoffvergällung der 3 Alkoholflaschen mit Chininhydrochlorid.

Die Memantin-freiwillig-Gruppe **SW** hat nach dem Entzug und der Abstinenz einen Dosiswert von  $3,1 \pm 0,5$  g/kg KG/d (Abb.49), danach sinkt die Dosis ab und gleicht etwa der Dosis, der Alkohol-Kontroll-Gruppe. In der 35. Woche fällt die Dosis auf einen Wert von  $0,5 \pm 0,3$  g/kg KG/d und bleibt auf diesem niedrigen Niveau (Abb.49). Zu keinem Zeitpunkt besteht ein signifikanter Unterschied zur Alkohol-Kontroll-Gruppe (Abb.49).

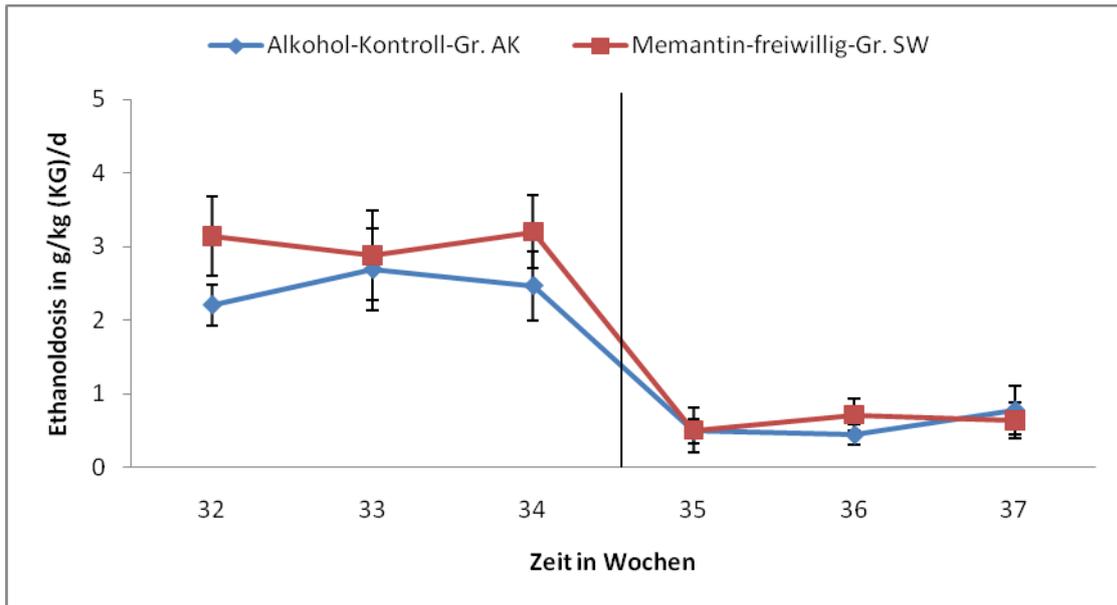


Abb.49: Ethanol dosis in g/kg (KG)/d über den Verlauf des 6-wöchigen Retest. **SW**: Memantin-freiwillig-Gruppe, kurze Gabe n=9. **AK**: Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=9). Der Trennstrich zwischen Woche 34 und 35 markiert den Beginn der Bitterstoffvergällung der 3 Alkoholflaschen mit Chininhydrochlorid.

In der 32. Woche trinken die Tiere der Memantin-freiwillig-Gruppe **ZW** deutlich mehr Ethanol als vor dem Entzug und als die Alkohol-Kontroll-Gruppe (**post-hoc Vergleich im t-Test**: Woche 32:  $t(49) = 2,1$ ;  $p > 0,05$ ). Die Dosis liegt in dieser Woche bei  $3,4 \pm 0,2$  g/kg KG/d (Abb.50). Danach fällt die Dosis auf ca.  $2,5$  g/kg KG/d ab und bleibt auf diesem Niveau. Ab der 35. Woche, wenn der Alkohol vergällt wird, reduzieren die Tiere ihren Konsum deutlich (Abb.50). Die Werte sinken auf etwa  $0,8 \pm 0,2$  g/kg KG/d ab, sie liegen zwar über den entsprechenden Werten der Alkohol-Kontroll-Gruppe, unterscheiden sich aber von diesen nicht signifikant (Abb.50).

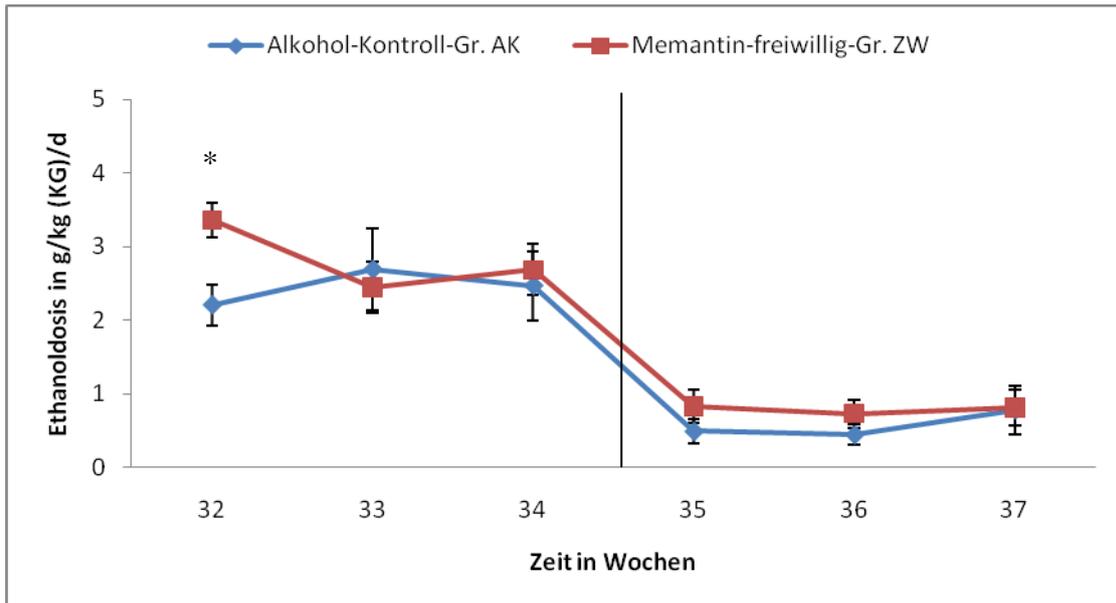


Abb.50: Ethanoldosis in g/kg (KG)/d über den Verlauf des 6-wöchigen Retest. **ZW**: Memantin-freiwillig-Gruppe, lange Gabe n=7. **AK**: Alkohol-Kontroll-Gruppe (n=9). Der Trennstrich zwischen Woche 34 und 35 markiert den Beginn der Bitterstoffvergällung der 3 Alkoholflaschen mit Chininhydrochlorid.

Für alle Gruppen setzt sich die eingenommene Ethanoldosis aus den drei verschiedenen Alkoholkonzentrationen zusammen. Alle Gruppen nehmen nach der Abstinenz mehr als 2/3 der konsumierten Ethanoldosis durch das Trinken des 5 % Alkohols zu sich. Die Wasser-Kontroll-Gruppe nimmt über 80% der gesamten Ethanoldosis über den 5 %igen Alkohol zu sich. Die Alkohol-Kontroll-Gruppe hat mit ca. 65 % den niedrigsten Anteil. Die restlichen Prozent setzen sich zu jeweils gleichen Anteilen aus den beiden anderen Alkoholkonzentrationen zusammen. Nach der Vergällung kommt es zu einer Veränderung. Der größte Anteil der zu sich genommenen Ethanoldosis wird nun über den 20 %igen Alkohol aufgenommen. Die Memantin-forciert-Gruppe **SF** zeigt mit über 80 % den höchsten Anteil, die Gruppen der freiwilligen Memantingabe liegen mit ca. 65 % am niedrigsten. Die restlichen Prozent setzen sich wie zuvor zu jeweils etwa gleichen Anteilen aus den anderen Konzentrationen zusammen.

## 4. Diskussion

### 4.1. Veränderungen des Alkoholeinnahmeverhaltens

In dieser Arbeit sollte der Einfluss des Medikamentes Memantin auf das Alkohol-Einnahmeverhalten und eine mögliche Suchtentwicklung adulter und langzeitalkoholerfahrener Ratten untersucht werden. Hierfür sollte überprüft werden, ob der Risikofaktor einer unbefriedigten Alkoholerwartung (Entzug) für die Entstehung einer Sucht (langfristige Folge), im Sinne eines persistierenden Flexibilitätsverlustes des Einnahmeverhaltens, durch eine Substitution des Alkohols mit Memantin verhindert werden kann und ob Memantin auftretende Entzugszeichen (kurzfristige Folge) mindert oder unterdrückt. Grundlage dieser Hypothese ist eine Kreuz-Generalisierung im „Drug Diskrimination Test“ zwischen Alkohol und Memantin (Hundt et al., 1998). Des Weiteren wurde untersucht, inwieweit Memantin einen Einfluss auf die circadianen Aktivitätsmuster, insbesondere das Trinkverhalten, der Ratten während und nach dem Absetzen von Alkohol hat. Wenn Memantin Entzugserscheinungen mildern könnte, dann wären damit mögliche Langzeitauswirkungen eines Entzuges (Förderung eines Suchtgedächtnisses) zu verhindern (Turyabahika-Thyen und Wolffgramm, 2006; Turyabahika-Thyen et al., eingereicht).

Im klinischen Alltag unterscheidet man nach der diagnostischen Einteilung der ICD-10 oder der DSM IV zwischen einer Abhängigkeit und einem schädlichen Gebrauch (ICD-10) bzw. einem Missbrauch (DSM IV). Unter einem schädlichen Gebrauch versteht man einen Alkoholkonsum, der zu einer Schädigung der Gesundheit (körperlicher oder psychischer Art) führt. Dabei wird Alkohol meist in größeren Mengen zu sich genommen, ohne dass aber ein übermächtiger, unabweisbarer Konsumwunsch oder -zwang besteht. Hiervon wird gelegentlich noch ein riskanter Alkoholkonsum unterschieden. Dieser bezeichnet Konsummengen, für die statistisch ein erhöhtes Risiko für die Entstehung von Krankheiten besteht, diese aber noch nicht aufgetreten sind. In Deutschland betreiben etwa 9,3 Mio. Menschen einen riskanten Konsum, bzw. 2,8 Mio.

einen schädlichen Konsum (Jahrbuch Sucht 2009). Bei diesen Gruppen ist die Diagnose einer Abhängigkeit nicht zu stellen, dennoch sind sie von schweren körperlichen Erkrankungen (z. B. Leberschäden, Polyneuropathien, usw.) oder sozialen Folgeschäden (z. B. berufliche Schwierigkeiten, familiäre Konflikte oder alkoholbedingter Führerscheinverlust, usw.) bedroht bzw. bereits betroffen und sie tragen ein erhöhtes Risiko zur Entstehung einer Abhängigkeit. Eine Abhängigkeit hängt aber nicht zwangsläufig von der eingenommenen Menge ab, da es diesbezüglich sehr große Unterschiede in der Verträglichkeit gibt. Vielmehr sollten nach den Vorgaben der beiden oben genannten Diagnose-Manuale mindestens 3 von 6 Kriterien über einen Zeitraum von 12 Monaten vorliegen, um eine Abhängigkeit diagnostizieren zu können. Zu diesen Kriterien gehört zum einen ein unüberwindbarer Zwang, ein sehr starkes Verlangen die Substanz, hier also den Alkohol einzunehmen. Zum anderen gehört ein Verlust der Kontrolle über den Beginn und die Dauer des Konsums sowie der eingenommenen Menge der Substanz dazu. Des Weiteren gehört ein anhaltender Substanzkonsum trotz des Nachweises eindeutiger schädlicher Folgen und somit einer Inkaufnahme negativer Konsequenzen dazu. Hiermit eng verbunden ist auch die Vernachlässigung anderer Vergnügen und Interessen zugunsten des Substanzkonsums und der Substanzbeschaffung. Zusätzlich gehören eine Toleranzentwicklung und das Auftreten von körperlichen Entzugszeichen ebenfalls zu den Kriterien einer Abhängigkeit (ICD-10). Zusammenfassend kann man sagen, dass eine Abhängigkeit ein pathologisches und zwanghaftes Muster eines Substanzbeschaffungs- (drug-seeking) und Substanzeinnahmeverhaltens (drug-taking) beinhaltet, welches eine unverhältnismäßig große Zeit und ständige Gedanken an die Substanz in Anspruch nimmt und trotz negativer Folgen und der Inkaufnahme negativer Konsequenzen bestehen bleibt (Hasin et al. 2006).

In der wissenschaftlichen Literatur haben sich über die letzten Jahrzehnte verschiedene Erklärungsmodelle zur Suchtentstehung und Aufrechterhaltung eines abhängigen Verhaltens etabliert und alle beschreiben, dass die Entwicklung süchtigen Verhaltens von unterschiedlichen Faktoren abhängt. Es

wird davon ausgegangen, dass sich die Voraussetzungen, welche zum Einstieg in die Abhängigkeit führen, von denen des fortgesetzten Substanzkonsums unterscheiden. Neben sozialen und anthropologischen Faktoren spielen auch genetische, psychologische und neurobiologische Faktoren bei der Suchtentstehung und beim Aufrechterhalten einer Abhängigkeit eine große Rolle (Cardinal et al., 2002; Everitt et al., 2001).

Die intuitivste Erklärung zur Suchtentstehung und Abhängigkeit ist die traditionelle Auffassung, dass Drogen zuerst eingenommen werden, weil sie angenehm sind, aber bei wiederholtem Drogenkonsum neuroadaptive Vorgänge zu Toleranz und Abhängigkeit führen, so dass sich bei Beendigung der Drogeneinnahme unangenehme negative Entzugssymptome einstellen und dies zu weiteren Einnahmen führt (Robinson et Berridge, 2003). In solch einem lerntheoretischen Ansatz wird die Suchtentstehung durch ein operantes Konditionierungsmodell (Zwei-Prozess-Theorie) beschrieben, bei dem neben der operanten Konditionierung die affektiven, emotionalen und motivationalen Zustände während und nach dem Substanzkonsum einen wichtigen Faktor ausmachen (Solomon et al., 1977). Diese Theorie postuliert, dass die Einnahme einer als angenehm empfundenen Dosis einer Substanz, einen dosisabhängigen Vorgang (a-process) im zentralen Belohnungssystem aktiviert (positive Verstärkung), der wiederum einen Gegen-Anpassungs-Prozess (opponent b-process) auslöst. Demnach soll die Gegen-Anpassung zur Wiederherstellung einer Homöostase dienen, um das Gehirn zurück in einen Normalzustand zu bringen. Die Summe dieser beiden Prozesse gibt dann den subjektiv empfundenen Zustand einer Person wieder. Wird dieser Zustand als angenehm empfunden und der Drogenwirkung zugeschrieben, bezeichnet man ihn als A-Zustand. Resultiert ein unangenehmer negativer Zustand, entgegengesetzt der Substanzwirkung, wird er als B-Zustand bezeichnet. Dabei wird davon ausgegangen, dass der A-Zustand im Verlauf einer Suchtentstehung nachlässt, sich die positiv erlebte Wirkung einer Substanz verringert (Toleranzentwicklung), während der B-Zustand zunimmt und dieser zum zentralen Motivator der Aufrechterhaltung des Substanzkonsums wird.

Demnach wird bei der Entstehung einer Abhängigkeit der positiven Verstärkung (also der positiven Wirkung) und bei der Aufrechterhaltung einer Abhängigkeit der negativen Verstärkung (also der Vermeidung von negativen Emotionen und Entzugssymptomen) eine besondere Bedeutung zugemessen. Zudem kann, wenn dieser Gegen-Anpassungs-Prozess gesteigert ist, schon eine kleine Dosis einer Substanz den B-Zustand wiederherstellen und so erneut Entzugssymptome und negative emotionale Zustände hervorrufen (Solomon et al., 1977; Robinson et Berridge, 2003). Neurobiologische Erklärungen der Zwei-Prozess-Theorie werden maßgeblich von Koob und seinen Mitarbeitern abgegeben (Koob & Le Moal 1997, 2001, 2005a und b, 2008, Koob et al. 1998). Nach Koob und Le Moal (1997) ist die Substanzabhängigkeit eine chronisch-rezidivierende Erkrankung, die insbesondere durch folgende drei Punkte charakterisiert ist: 1. dem Zwang die Substanz zu beschaffen und zu konsumieren, 2. dem Kontrollverlust über die Dauer der Einnahme und 3. das Entstehen eines negativen emotionalen Zustandes (z. B. Dysphorie, Ängstlichkeit, Reizbarkeit), wenn die Substanz nicht verfügbar ist. Koob und Le Moal (1997) postulieren, der A-Prozess (positive Verstärkung) werde durch die Aktivierung dopaminergischer mesolimbischer Projektionen des Nucleus accumbens und der Amygdala verursacht, welche die akute verstärkende Wirkung von Drogen vermitteln. Nach ihrer Vorstellung induziert eine wiederholte Substanzeinnahme eine Toleranz oder eine Herunterregulierung im dopaminergen mesolimbischen System, was eine Abnahme der positiv erlebten Drogenwirkung zur Folge hat. Ein plötzliches Absetzen der Substanz führt zu einem weiteren Rückgang der dopaminergen und serotonergen Transmission unter das normale Level und in der Folge zu einem mehrere Tage anhaltenden dysphorischen, unangenehmen, negativen Empfinden (B-Zustand) - einem Entzug. Zusätzlich soll die wiederholte Substanzeinnahme einen weiteren Prozess in Gang setzen. Über die Aktivierung der hypothalamischen-hypophysären-Stress-Achse werden neben der Ausschüttung von Corticotropin-Releasing-Factor (CRF) in der Amygdala weitere Stress-Antworten initiiert (Koob et al. 1997, Koob & Le Moal 1997, 2005a, 2008). Demnach wird das Einnahmeverhalten insbesondere durch die Motivation, den negativen

emotionalen Zustand zu lindern oder zu verhindern (Gegen-Anpassungs-Prozess) und der Fehlregulation, welche aus der Toleranzentwicklung gegenüber der positiven Substanzwirkung, der Zunahme der negativen Begleiterscheinungen eines Entzuges und der Aktivierung verschiedener Stress-Antworten herrührt, aufrechterhalten (Koob & Le Moal 2001). In der Folge geraten Abhängige, die ursprünglich Substanzen zur „Lustgewinnung“ eingenommen haben, in eine Spirale von überwiegend negativen emotionalen Zuständen welche, nach Koob und Le Moal, den Übergang in eine Sucht darstellt (Koob & Le Moal 2008; Koob 2006). Dieses Modell scheint jedoch für einige Substanzen mit einem großen Abhängigkeitspotential aber gering ausgeprägten Entzugerscheinungen wie z. B. Psychostimulantien (Kokain, Amphetamin) oder gar Nikotin keine ausreichende Erklärung zur Suchtentstehung zu bieten. Entzugerscheinungen und negative Folgeerscheinungen führen sicherlich in einigen Situationen im Sinne einer negativen Verstärkung zu einer erneuten Substanzeinnahme, dennoch erklärt dies nicht das Phänomen eines verstärkten Verlangens nach der Substanz nach Verabreichung einer kleinen Dosis dieser.

In einem weiteren Erklärungsmodell zur Suchtentstehung gehen Robinson und Berridge (1993, 2008) davon aus, dass Reize, die mit der Substanz assoziiert werden, eine erhöhte Aufmerksamkeit erfahren und durch diese Reize ein konditionierter motivationaler Zustand ausgelöst wird, der unabhängig von emotionalen Zuständen (Euphorie, Entzugerscheinungen) ein starkes Verlangen, die Substanz einzunehmen, auslöst (Robinson et Berridge 1993, 2008). Die Anreizmotivation („incentive motivation“), d. h. die Auslenkung eines Verhaltens zum Reiz hin wird durch bestimmte Faktoren gesteuert. Stimuli oder Reize, die eine positive Verstärkung (Belohnung) verursachen und damit verbundene Zustände oder Situationen führen zu einer Antizipation bzw. Erwartung angenehmer Effekte und bestimmen so die Richtung eines Verhaltens („positive-incentive theory“; Bolles, 1980; Toates, 1986). Während eines unbewusst ablaufenden Attributionsvorganges, bei dem eine assoziative Verbindung zwischen dem Stimulus und dem dopaminergen mesolimbischen

System entsteht, wird ein ehemals neutraler Stimulus zukünftig im Verhältnis zu anderen Stimuli als positiv gekennzeichnet und als angenehm und erwünscht hervorgehoben. Dieser Vorgang wird von Robinson und Berridge als Anreizhervorhebung („incentive salience“) bezeichnet (Robinson et Berridge 1993, 2001).

Nach Ansicht von Robinson und Berridge lässt sich das Hauptmerkmal der Anreizmotivation in zwei verschiedene psychologische Prozesse aufteilen, die für die Belohnung (reward) eine Rolle spielen: 1. das subjektiv wahrgenommene angenehme Gefühl (liking / Mögen), und 2. die Attribution der Anreizhervorhebung „incentive salience attribution“ (wanting / Wollen). Diese beiden psychologischen Prozesse werden durch unterschiedliche neuronale Systeme vermittelt und in der „Incentive Sensitization Theory of Addiction“ von Robinson und Berridge (1993; 2008) beschrieben. Nach dieser Theorie resultiert eine Abhängigkeit aus einer andauernden Neuroadaptation (in bestimmten Systemen) nach einem langen Substanzkonsum. Diese, durch abhängig machende Substanzen sensibilisierten (sensitized) Systeme sind insbesondere in der Attribution der Anreizhervorhebung „incentive salience attribution“ involviert (Robinson et Berridge, 1993). Diese Veränderungen manifestieren sich schließlich neurobiochemisch im Sinne einer Sensitivierung. Es ist wichtig, daran zu erinnern, dass sich in diesem Zusammenhang die Sensitivierung auf eine Steigerung der Substanzwirkung durch wiederholte Substanzverabreichung bezieht (Robinson et Berridge, 2008). Sie stellen dann das langfristige morphologische Korrelat eines starken unwiderstehlichen Substanzverlangens (craving) dar. Robinson und Berridge (Robinson et Berridge, 1993; 2000; 2008) schreiben dies einer erhöhten Dopamintransmission im Nucleus accumbens und im Striatum zu. Auf dieser erhöhten Neurotransmission basiert die Anreizhervorhebung („incentive salience“). Dieser sogenannte Attributionsvorgang zeigt sich schließlich in einer gesteigerten Aufmerksamkeit für und im bevorzugten Aufsuchen von substanzrelevanten Stimuli und der Substanz selbst.

Die Sensitivierung des dopaminergen mesolimbischen Systems, insbesondere des Nucleus accumbens, die sich bei einer Substanzeinnahme zeigt, wird entscheidend durch Konditionierungsprozesse beeinflusst (Di Chiara, 1995). Diese Sensitivierung auf neurochemischer Ebene ist bei der Entwicklung einer Abhängigkeit auch deswegen so wichtig, da es bereits nach wenigen Substanzverabreichung zu einer langanhaltenden Hyperaktivität des dopaminergen mesolimbischen Systems kommt. In diese Prozesse sind Hirnareale wie z. B. die Amygdala, der Hippocampus sowie der Frontalkortex und der inferiore Parietalkortex involviert. Diese Areale beeinflussen cortico-striatale Regelkreise, welche an der Entstehung und Aufrechterhaltung einer Abhängigkeit beteiligt sind (Everitt et al., 2001; Robbins et Everitt, 2002). Auf Grund der neurochemischen Sensitivierung kann dieses System auch nach längerer Abstinenz wieder aktiviert werden, und führt so erneut zur Anreizhervorhebung und damit zu einem wiederum starken unwiderstehlichen Substanzverlangen (wanting) und trägt somit entscheidend zu einem Rückfall bei (Robinson et Berridge, 1993). Die neuronalen Systeme welche die subjektiv als angenehm (hedonisch) empfundenen Substanzwirkungen vermitteln, scheinen nach Aussage von Robinson und Berridge nicht zu sensibilisieren. Vielmehr vermuten sie, dass dem Substanzverlangen bzw. dem zwanghaften, unwiderstehlichen Wunsch nach der Substanz (wanting) und dem Mögen der Substanz aufgrund der positiven Effekte (liking) unterschiedliche neurochemische Mechanismen zugrunde liegen. Während dem verhaltensverstärkenden Belohnungssystem eine zentrale Rolle bei der Anreizmotivation zugeschrieben wird, wird das opioide System für die Entstehung von Freude und Euphorie verantwortlich gemacht. Deswegen wird eine Abhängigkeit charakterisiert als eine zunehmenden Dissoziation vom Anreizwert einer Substanz (wie sehr sie gewollt wird) und deren subjektiver angenehmer Effekte (wie sehr sie gemocht wird). Mit der Entwicklung einer Abhängigkeit werden Substanzen/ Drogen „pathologisch“ gewollt (craving). Dieses unwiderstehliche Verlangen, Wollen kann auch dann auftreten, wenn die Substanz immer weniger gemocht wird (Robinson et Berridge, 2000). Nachteile, bzw. Begrenzungen dieses Erklärungsansatzes sind: 1. das Phänomen der

Sensitivierung entwickelt sich schon nach sehr kurzer Zeit und 2. auch nach forcierten Substanzgaben. Eine Suchtentstehung setzt jedoch eine lange und freiwillige Substanzeinnahme voraus. 3. ist eine Sensitivierung nicht auf abhängig machende Substanzen begrenzt, sondern stellt sich z. B. auch bei Neuroleptika ein.

In einem weiteren Erklärungsmodell süchtigen Verhaltens besagt die zentrale Hypothese, dass die Entstehung einer Substanzabhängigkeit mit Abläufen der zentralen Lern- und Gedächtnis-Systeme erklärt werden kann (Robbins et Everitt 1999; Everitt et al. 2001; Everitt et Robbins 2005). Insbesondere chronisch verabreichte Substanzen können selbst diese zentralen Lern- und Gedächtnis-Systeme untergraben und so ein zwanghaftes Substanzbeschaffungsverhalten (drug-seeking habit) etablieren (Everitt et Robbins 2005). Everitt und Mitarbeiter (2008) sehen die Abhängigkeit als Endpunkt einer langen Entwicklung mit Übergängen vom ersten Substanzkonsum - wenn eine Droge, wegen ihrer verstärkenden, häufig angenehmen (hedonic) Auswirkungen freiwillig eingenommen wird – zum Verlust der Kontrolle über das Einnahmeverhalten, bis hin zur Einstellung einer Gewohnheit (habit) und schließlich eines zwanghaften (compulsive) Einnahmeverhaltens (Everitt et al. 2008). Sie führen Beweise an, dass diese Übergänge von Wechselwirkungen zwischen pawlowschen und instrumentalen Lernprozessen abhängen (Everitt et Robbins 2005). Darüber hinaus stellen Everitt und Mitarbeiter die Hypothese auf, dass der Übergang von einer freiwilligen Substanzeinnahme hin zu einem gewohnheitsmäßigen und schrittweise zwanghaften Einnahmeverhalten durch eine Veränderung neuronaler Prozesse repräsentiert wird. So soll zum einen eine Verlagerung der Kontrolle über „drug-seeking“ und „drug-taking“ Verhaltensweisen von der präfrontalen Hirnrinde in das Striatum und zum anderen eine Verlagerung neuronaler Prozesse von ventralen zu mehr dorsalen Bereichen des Striatums für diese Übergänge verantwortlich sein (Everitt et al. 2008). Die Amygdala, der Hippocampus, das Cingulum und der mediale präfrontale Kortex sind nach Everitt und Mitarbeitern eindeutig an diesen Prozessen beteiligt. Auch dem Striatum wird für einige Formen des Lernens eine wichtige Rolle zugeschrieben (Everitt et al., 2001). Everitt und Mitarbeiter

(2001) beschreiben, dass für den Nucleus accumbens Kern (NAcb-core) und seiner dopaminergen Innervation bereits schon früher eine Beteiligung am pawlowschen und instrumentalen Lernen gezeigt wurde, während die Rolle des dorsalen Striatums (DS) am Gewohnheits-Lernen ursprünglich von Mishkin (1984) vorgeschlagen wurde. Des weiteren erklären Everitt und Mitarbeiter, dass ein zwanghafter Substanzkonsum durch ein unflexibles Verhalten charakterisiert wird, das sich dadurch auszeichnet, dass es trotz erheblicher Kosten für die Süchtigen, getrennt von jeder subjektiven Bewertung der Substanzwirkung, ausgelöst durch bestimmte Umweltreize, und zumindest am Anfang, mit komplexen, zielgerichteten Verhaltensweisen für die Beschaffung und Selbstverabreichung der Substanz, bestehen bleibt (Everitt 2001). Eine weitere wichtige Konsequenz des abweichenden Lernprozesses, erzeugt durch eine andauernde Substanz-Selbstverabreichung, ist die starke und anhaltende Neigung zum Rückfall, vor allem in Gegenwart von Drogen-assoziierten Reizen in der Umgebung des Süchtigen. Auch nach langer Abstinenz kann der Rückfall als eine logische Folge der Konditionierungs-Prozesse angesehen werden, die einer zwanghaften Substanzbeschaffung (drug-seeking) zugrunde liegen. Dieses gewohnheitsmäßige Verhalten (habit) kann durch substanzbezogene Auslöser (cues) reaktiviert und motiviert werden. Beim Menschen kann dies z.B. sehr lebendige Erinnerungen an substanzbezogene Erfahrungen hervorrufen, die dann als sehr starkes Verlangen (craving) zum Ausdruck kommen und zu einem Rückfall (drug-seeking, drug-taking) führen können (Childress et al. 1999; Everitt 2001). Demnach kann man der Entstehung eines abhängigen Verhaltens die Bildung eines speziellen Suchtgedächtnisses zu Grunde legen, welches auf Grund seiner Lösungsresistenz, selbst nach einer langen Abstinenz vom Suchtmittel für einen Rückfall verantwortlich ist (Wise, 1987; Heyne et al. 2000; Everitt et al., 2001). „Die Entstehung eines Suchtgedächtnisses bedingt eine assoziative Verknüpfung zwischen Motivation (Drogenwunsch), aktivem Handeln (drug-seeking, drug-taking), Antizipation der zu erwartenden Wirkung und schließlich dem erlebten Drogeneffekt“ (Zitat: Wolffgramm, 2003). Sowohl beim Menschen als auch im Tiermodell zeigt sich nach langfristigem freiwilligem Alkoholkonsum zumindest bei einem Teil der

Konsumenten eine Suchtentwicklung im Sinne eines irreversiblen Flexibilitätsverlustes gegenüber der Alkoholeinnahme (Kontrollverlust) (Wolffgramm et Heyne, 1991; Wolffgramm 1990). Dabei ist die freie Wahl der Substanzeinnahme (Wahlentscheidung, Freiwilligkeit), also die Möglichkeit über die Alkoholverabreichung jeder Art selbst entscheiden zu können und ein darauf basierender Langzeit-Gebrauch der Substanz entscheidend für die Entwicklung einer Sucht (Wolffgramm et Heyne 1995; Heyne 2000). In mehreren Versuchen konnte gezeigt werden, dass Ratten oder Mäuse, die eine substanzhaltige Lösung (z. B. Alkohol) als einzige Trinkflüssigkeit erhielten, zwar Zeichen einer körperlichen Abhängigkeit (Entzugssymptome und Toleranzentwicklung) aufwiesen, nicht aber eine Sucht, im Sinne eines Flexibilitätsverlustes über die Einnahme, entwickelten (Heyne et Wolffgramm 1998). Auch beim Menschen gibt es Hinweise darauf, dass eine hochdosierte reglementierte Verabreichung von opiathaltigen Schmerzmitteln viel seltener zu einem Suchtverlangen führt als bei einer frei zu dosierenden und den Zeitpunkt frei wählbaren Verabreichung (Conigliaro 1996; Swift et Roszkowski 1998).

All diesen Erklärungsmodellen zur Suchtentstehung und Aufrechterhaltung abhängigen Verhaltens liegen Ergebnisse verschiedener tierexperimenteller und klinischer Studien zu Grunde. Des Weiteren werden molekularbiologische und genetische Untersuchungen zur Verifizierung und Ausweitung der Modelle auf neurobiologische Ebenen herangezogen. Es sollte hierbei jedoch berücksichtigt werden, dass die Alkoholabhängigkeit eine komplexe Erkrankung ist und kein Tiermodell der Abhängigkeit die *conditio humana* voll und ganz darstellen kann. Tiermodelle erlauben immer nur spezifische Elemente eines Prozesses darzustellen. Während ein Großteil der tierexperimentellen Studien die positiv verstärkenden Effekte von Substanzen auf die neurobiologischen und molekularen Mechanismen des Nervensystems untersucht, werden in der jüngsten Vergangenheit auch immer mehr die negativ verstärkenden Effekte einer Substanz im Tiermodell untersucht.

Als Hauptmerkmale süchtigen Verhaltens führen alle Erklärungsmodelle immer wieder das unwiderstehliche zwanghafte Verlangen nach der Substanz (craving) und den Verlust der Kontrolle über die Einnahme der Substanz nach längerem Substanzkonsum an. Diesen Merkmalen einer Abhängigkeit wird in den am häufigsten eingesetzten Tiermodellen in unterschiedlicher Weise Rechnung getragen. Wobei der Beginn und die Aufrechterhaltung eines Substanzkonsums sowie ein Drogen-Such-Verhalten (craving), der Rückfall (relapse) während einer Abstinenz und der Kontrollverlust (loss-of-control) über das Einnahmeverhalten erfolgreich nachgeahmt werden können (Sanchis-Segura et Spanagel, 2006). Wie bereits oben erwähnt handelt es sich bei diesen Tiermodellen um das "reinstatement model" nach Stewart und De Wit (1987), den "alcohol deprivation effect (ADE)" der zuerst von Sinclair beschrieben wurde und eine von Spanagel veränderte und in Langzeitexperimenten verwendete Version davon und schließlich das "loss of control model" von Wolffgramm und Heyne.

Eine Herangehensweise um das craving- und Rückfall-Verhalten von Tieren zu messen bietet das „reinstatement model“ von Stewart und De Wit (1987). Das "reinstatement model" wurde anfangs hauptsächlich für Psychostimulantien und Opiate genutzt und erst 1995 die erste Alkohol-reinstatement-Studie von Chiamulera und Mitarbeitern veröffentlicht (Chiamulera et al. 1995). Es stellt in erster Linie ein Drogen- bzw. Alkohol-Such-Verhalten (drug-seeking behavior) dar. In diesem Modell lernen Tiere meist durch Hebel drücken an die psychoaktive Substanz zu kommen. Es erfolgt also eine Selbstverabreichung, wobei die Substanz entweder direkt in bestimmte Hirnregionen oder intravenös injiziert wird oder aber von den Tieren oral aufgenommen werden kann. Nachdem die Tiere diese Aufgabe beherrschen, also gelernt haben wie sie an die Substanz heran kommen, erfolgt ein Umlernprozess. Jetzt bekommt das Tier, wenn es den Hebel drückt, die Substanz nicht mehr verabreicht (Extinktionsphase). Nach dieser Extinktionsphase folgen erneute Durchgänge, in dem z. B. ein zuvor mit der Droge verbundener Stimulus/Reiz dem Tier dargeboten wird oder eine kleine Dosis der Substanz injiziert wird, bzw. die

Tiere bestimmten Stresssituationen ausgesetzt werden (Katner et al., 1999). Diese verschiedenen Stimuli können dann das zuvor gelernte und wieder „gelöschte“, umgelernte Verhalten zur Erlangung der Substanz (drug-seeking) wiedereinsetzen lassen (reinstatement). Interessanterweise ist für das "reinstatement" nicht die Substanz selbst sondern Stress am wirksamsten (Piazza et Le Moal 1998). Dieses Modell hat jedoch bezüglich der Vergleichbarkeit mit einem abhängigen Verhalten beim Menschen zwei entscheidende Nachteile. Erstens konnten keine schlüssigen Ergebnisse erbracht werden, dass die Tiere in einem reinstatement Versuch persistierende Kontrolleinbußen über die Substanzeinnahme zeigen und zweitens scheint die Unterdrückung/Löschung von Substanzbeschaffungs-Verhalten (drug-seeking) nur eine kleine Rolle für Abhängige Patienten im Erlangen und Aufrechterhalten einer Abstinenz zu spielen (Neuro-Psychopharmaka; Ein Therapiehandbuch Wolffgramm und Heyne, 2006). In der Regel gehen Abhängige externen Stimuli aus dem Weg. So dass, das reinstatement modell nicht genau die Bedingungen und Erfahrungen eines Abhängigen bezüglich des „cravings“ und eines Rückfalls darstellt (Spanagel 2003).

Ein weiteres Tiermodell zur Untersuchung von Kontrollbeeinträchtigung und insbesondere des Rückfalls (relapse) ist das Alkohol-Deprivations-Effekt-Modell (ADE), welches vor circa 40 Jahren von Sinclair und Mitarbeitern (1967) erprobt, später von Spanagel und Hölter (1999) weiterentwickelt und durch viele Experimente validiert wurde. In diesem Modell (hier wird die Version von Spanagel beschrieben) bekommen Ratten über mehrere Wochen hinweg freien Zugriff auf Wasser und eine oder mehrere verschiedene Alkohollösungen. Danach wird ihnen der Alkohol für einige Tage entzogen, bevor sie wieder freien Zugriff darauf bekommen. Dieses Vorgehen wird über einen längeren Zeitraum mehrmals wiederholt. Sobald der Alkohol nach einer Entzugsphase für die Tiere wieder zugänglich ist, kommt es zu einem erheblichen, aber zeitlich begrenzten Anstieg der eingenommen Alkoholmenge und zu einer Änderung der Konzentrations-Präferenz. Dieses Phänomen wird als Alkohol-Deprivations-Effekt (ADE) bezeichnet und ist bei vielen verschiedenen Spezies zu

beobachten, z.B. bei Ratten, Affen und Menschen (Sinclair, 1972; Burish et al., 1981), nicht aber zum Beispiel bei den meisten Mäuselinien. Gleichzeitig kann man eine Veränderung im circadianen Aktivitäts- und Alkoholeinnahmemuster der Tiere feststellen. Die Tiere beginnen nicht nur, mehr Alkohol einzunehmen, sondern fangen an, große Mengen der hochkonzentrierten Lösung auch am Tage zu konsumieren, also in der Zeit, in der sie eigentlich meistens inaktiv sind. Die Präferenzsteigerung für die hoch konzentrierte Lösung ist noch nach längerer Zeit (einige Monate) feststellbar. Auch ist eine Toleranzentwicklung, ein Stress-induziertes Trinken sowie physische Entzugszeichen in diesem Tiermodell nachzuweisen (Hölter et al., 1998, und 2000; Spanagel et Hölter 2000). Damit ergeben sich Hinweise auf transiente Kontrollbeeinträchtigung und Folgeerscheinungen eines langen Substanzkonsums ähnlich einer Sucht. Spanagel und Hölter (1999) verwenden zudem die Höhe des ADE als ein Maß für das Craving der Tiere. Je höher die eingenommene Dosis, desto größer das Craving. Beide beobachtbaren Parameter scheinen jedoch wenig mit einer wirklichen Abhängigkeit zu tun zu haben, da im Gegensatz zu dieser die Effekte kaum persistieren. Bei einem abhängigen Verhalten sollten, wie in den verschiedenen Erklärungsmodellen gefordert langanhaltende, persistierende Kontrolleinbußen über das Einnahmeverhalten vorhanden sein und nur bei süchtigen Tieren vorkommen. Es konnte jedoch mehrfach nachgewiesen werden, dass der ADE nach einer längeren Abstinenz sowohl bei Tieren die langfristig keine Kontrolleinbußen zeigten als auch bei Tieren mit persistierenden Kontrolleinbußen – also süchtigen Tieren – auftritt und bei „kontrollierten“ Konsumenten sogar stärker ausgeprägt ist (Wolffgramm et Heyne, 1995; Wolffgramm 2000) . Damit ist das ADE-Modell eventuell ein guter Ansatz, z. B. Medikamentenwirkungen auf kurzfristige Kontrolleinbußen und Rückfallphänomene zu testen (akute Effekte), es ist aber ungewiss, ob das Modell geeignet ist, chronisches Suchtverhalten und vor allem Medikamenteneffekte darauf widerzuspiegeln. Immerhin zeigt das Modell Kontrolleinbußen der Tiere gegenüber Alkohol auf. Dies könnte für präklinische Medikamentenprüfungen hilfreich sein (Neuro-Psychopharmaka; Ein Therapiehandbuch Wolffgramm und Heyne, 2006).

Im bereits beschriebenen "loss of control" oder "point of no return" Modell sind persistierende Kontrolleinbußen auch noch nach monatelanger Abstinenz feststellbar. Und durch die langandauernde freiwillige Substanzeinnahme sollten sich Prozesse der Suchtentwicklung über einen längeren Zeitraum beobachten, beeinflussen und messen lassen (siehe Einleitung). In diesem Modell konnte gezeigt werden, dass Tiere in der ersten Zeit der Substanzdarbietung ihr Einnahmeverhalten stark variieren, sie sammeln Erfahrungen mit der Substanz. Nach einiger Zeit stellt sich ein individuelles stabiles Einnahmeverhalten ein (Wolffgramm 1990). Während dieser Phase zeigen die Tiere ein kontrolliertes Konsummuster, sie können ihr Einnahmeverhalten an externe und interne Faktoren anpassen, wie z. B. soziale Haltungsbedingungen, deren Wechsel, externe Stressoren und ihren Dominanzstatus (Wolffgramm 1990; Wolffgramm und Heyne 1991). Nach einiger Zeit verändert sich das Einnahmeverhalten und die Tiere weisen eine gesteigerte Einnahme trotz gleichbleibender Bedingung auf (Wolffgramm und Heyne 1991). Dieses Einnahmemuster behalten diese Tiere auch nach sehr langer Abstinenz bei. Im loss-of-control Modell werden die Tiere schließlich bei einer erneuten Alkoholdarbietung diesen oben genannten Faktoren ausgesetzt, um damit eine dauerhafte Kontrolleinbuße über das Einnahmeverhalten zu testen. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sowohl interne als auch externe Faktoren, die die Alkoholeinnahme beeinflussen, in diesem Tiermodell überprüft werden können und nach langer Verabreichung und Abstinenz die Tiere persistierende Kontrolleinbußen zeigen, welche beim Menschen das wichtigste Kriterium einer Sucht darstellen. Durch die Bitterstoffvergällung des Alkohols kann im Retest geprüft werden, ob die alkoholkonsumierenden Tiere die negativen Begleiterscheinungen des für sie unangenehm schmeckenden Alkohols in Kauf nehmen. Dies entspreche dem Hauptkriterium einer Abhängigkeit nach ICD-10 und DSM IV bieten. Nach solchen Langzeitexperimenten mit Opiaten (Heyne 1996; Wolffgramm et Thimm, in Revision bei Psychopharmacology) Amphetamin (Heyne et Wolffgramm, 1998; Galli et Wolffgramm 2004) und Alkohol (Turyabahika-Thyen, Thimm und Wolffgramm, in Revision bei Behavioral Brain Research) gibt es bei einem Teil

der Tiere (30 % bis 90 %, das variiert) nach monatelangem kontrollierten Konsum (Verbrauch wird vom Tier nach den psychotropen Effekten, seiner „Stimmungslage“, seinem individuellen Anlagen und der momentan gegebenen Situation flexibel einreguliert) eine kritische Phase, in der der Übergang zum Kontrollverlust stattfinden kann. Dieser Übergang scheint dadurch einzutreten, dass während der kritischen Phase (möglicherweise eine Phase erhöhter Neuroplastizität – Zitat Wolffgramm et al., 2000) ein starkes unerfülltes Substanzverlangen auftritt. Hierfür gibt es Hinweise die aufzeigen, dass stärkere Kontrolleinbußen im Retest nach Deprivation, limitiertem Angebot und auch nach Selbstentzug bei Vergällung auftraten (Turyabahika-Thyen, Thimm und Wolffgramm, in Revision bei Behavioral Brain Research).

In der vorliegenden Untersuchung sollten die Versuchstiere durch eine langandauernde freiwillige Alkoholeinnahme in eine, wie oben beschriebene kritische Phase gebracht werden, in der Faktoren, welche zu einer unbefriedigten Alkoholerwartung führen eine Suchtentstehung verstärken könnten (Turyabahika-Thyen et Wolffgramm, 2006; Turyabahika-Thyen et al., in Revision). Die eingesetzten Tiere hatten, bedingt durch den vorherigen Versuch, bereits eine langandauernde Alkoholerfahrung mit massiv eingeschränkter Wahlmöglichkeit und somit hätten sie schon Kontrolleinbußen entwickeln können. Im ersten durchgeführten Retest zeigten jedoch alle Tiere mit Alkoholvorerfahrung bei erneutem Alkoholangebot keinen gesteigerten Konsum und sie konnten alle ihr Einnahmeverhalten an die Chininvergällung anpassen und reduzierten die Alkoholdosis auf das Niveau der zuvor alkoholunerfahrenen Tiere (Kontrollgruppen). Somit gab es keinen Hinweis für einen Flexibilitätsverlust über das Einnahmeverhalten und dementsprechend keine Anzeichen einer Abhängigkeit (Kontrolleinbuße) der Tiere zu Beginn meiner Studie. Grund hierfür waren die bewusst vom etablierten Modell abweichenden experimentellen Rahmenbedingungen mit eingeschränkten Wahlmöglichkeiten, die zwar zu hohen Einnahmedosen und eventuellen Entzugssymptomen geführt hatten, aber nicht zu einem Kontrollverlust.

Zu Beginn der Langzeit-Wahlphase der vorliegenden Studie nahmen alle Tiere etwa die gleiche Alkoholdosis ein, welche sie vor dem ersten Retest eingenommen hatten. Je nach Vorerfahrung konsumierten sie hohe oder etwas niedrigere Alkoholmengen, wobei die Gruppen mit zuvor wechselndem Alkoholzugriff (Wechsel-Gruppen) fast 2,5-mal so hohe Dosen aufwiesen wie die alkoholunerfahrenen (Kontroll-Gruppen) Gruppen. Die Tiere wiesen demnach nach einer längeren Abstinenz je nach Vorerfahrung eine sehr hohe Alkoholpräferenz auf, was auf ein bereits vorhandenes Alkoholgedächtnis der Tiere hinweist.

Des Weiteren unterschieden sich die Konzentrationspräferenzmuster der verschiedenen Gruppen zu Beginn dieser Langzeit-Wahlphase voneinander. Die Wechsel-Gruppe zeigte im Gegensatz zu den anderen Gruppen bereits zu diesem Zeitpunkt eine höhere Präferenz für die niedrige Alkohollösung. Dieses Präferenzmuster behielten sie auch bei den Haltungsverwechslungen bei. Die anderen Gruppen steigerten erst nach dem Wechsel von Einzel- in Gruppenhaltung die Präferenz für die 5 % Lösung. Das Einnahmeverhalten wies beim Wechsel der sozialen Haltungsverbedingungen zumindest im Hinblick auf die eingenommene Dosis keinen Verlust der Flexibilität auf, lediglich das Präferenzmuster änderte sich bei den Tieren, welche zuvor alkoholunerfahren oder aber Alkohol in einem forcierten Regime erhielten. Alle Gruppen passten die Alkoholdosis den Wechslern an. Sie reduzierten ihre Dosis beim Wechsel in die Gruppenhaltung und erhöhten die Dosis beim Wechsel zurück in Einzelhaltung sogar noch über die Werte vor der Gruppenhaltung. Ähnliche Effekte der sozialen Haltungsverbedingungen wurden bereits zuvor von Wolffgramm und Heyne beschrieben (Wolffgramm et Heyne 1991). Demnach zeigten alle Gruppen vor und zu Anfang meiner Studie ein flexibles - an die internen und externen Faktoren angepasstes - und den jeweiligen Vorerfahrungen entsprechendes Alkoholeinnahmeverhalten. Sie hatten während der ersten Langzeit-Wahlphase ein Alkoholgedächtnis entwickelt (Böning, 1992, 2001, 2009; Heyne et al., 2000). Des Weiteren konnten sie ihren Alkoholkonsum sowohl im ersten Retest als auch in der 15. Woche, in der der Alkohol kurzzeitig mit Chinin vergällt war, reduzieren. Diese kurze Vergällungsperiode sollte vor der Einteilung der Tiere

in die neuen Versuchsgruppen aufzeigen, ob es bereits „süchtige“ Tiere oder exzessive Trinker (hoher Alkoholkonsum) mit einem Flexibilitätsverlust gab. Insgesamt wurden dabei 12 Tiere mit einem Konsum über 0,7 g/kg/d ermittelt, die hauptsächlich aus den Wechsel-Gruppen kamen. Sie zeigten einen erhöhten Konsum trotz Chininvergiftung, passten ihn aber an die extern veränderte Situation an. Nach dieser Woche nahmen die Gruppen mit Alkoholvererfahrung wieder die zuvor eingenommene Alkoholdosis zu sich. Die Kontrollgruppen (RK + TK), welche erst seit dem ersten Retest Alkohol einnehmen konnten, zeigten nach dieser Vergiftungswoche eine kurzfristige aber deutliche Erhöhung ihrer eingenommenen Alkoholdosis, entsprechend eines Alkoholdeprivationseffektes (Spanagel et Hölter, 1999). Alle anderen Gruppen wiesen diesen Effekt nicht auf. Das Alkoholeinnahmeverhalten der Gruppen, welche Memantin nicht forciert erhielten, änderte sich danach nicht mehr. Alle diese Gruppen zeigten bis zum Entzug des Alkohols, entsprechenden den Ergebnissen vorheriger Studien mit Langzeit-Wahlphasen, einen kontrollierten und individuell gleichbleibenden Alkoholkonsum (vgl. Wolffgramm et al., 2000). Wobei die Gruppen mit forcierter Memantingabe in den beiden letzten Wochen vor dem Entzug bei gleichzeitiger Gabe von Ethanol und Memantin ihre Ethanoldosis nochmals steigerten.

Wahrscheinlich haben die eingeschränkten Zugriffsmodalitäten im zuvor durchgeführten Versuch zwar zu einer physischen Abhängigkeit mit einem gesteigertem Konsum und einem Alkoholgedächtnis mit einer hohen Alkoholpräferenz selbst nach einer langen Abstinenzperiode geführt, aber einen möglichen Flexibilitätsverlust über die Alkoholeinnahme und somit das Entstehen eines Kontrollverlustes verhindert.

## **4.2. Die Wirkung von Alkohol und Memantin im zentralen Nervensystem**

### **4.2.1 Alkoholwirkung**

Die chronische Einnahme von Alkohol kann bei Labortieren zu persistierenden Veränderungen ihres Alkoholeinnahmeverhaltens führen. Diese Veränderungen können auf der Verhaltensebene beobachtet werden und verschiedenen Effekten und der Wirkung des Alkohols auf das zentrale Nervensystem der Tiere zurück geführt werden.

Die Hirnregionen, welche bei der Vermittlung der Belohnungseffekte von Alkohol eine wichtige Rolle spielen, wurden durch eine Vielzahl von neuropharmakologischen Studien, Läsions-, Mikroinjektions- und Mikrodialyse-Versuchen ermittelt. In diesen Untersuchungen sind der Amygdala-Komplex und das mesolimbische dopaminerge System, einschließlich der ventralen tegementalen Area (VTA), des Nucleus accumbens (Nac) und des präfrontalen Kortex als wichtige Hirnareale beschrieben worden. Das mesolimbische dopaminerge System kontrolliert weitestgehend die zentrifugale glutamaterge Aktivität corticaler Areale, wie die des präfrontalen Cortex. Zudem moduliert der dorsale Raphe-Kern über Serotonin die dopaminerge Aktivität der VTA und des Nac. Die VTA wird zudem von GABA und enkephalineren Projektionen aus dem ventralen Pallidum, dem Nac und glutamaterg aus dem präfrontalen Cortex reguliert. Außerdem können Cannabinoide und Opiode die Freisetzung von Dopamin im Nac durch die Aktivierung dopaminerger Neurone im VTA beeinflussen (Vengeline et al., 2008). Alkohol hat dabei sowohl akute als auch langfristige Effekte auf diese Hirnregionen und deren Neurotransmitter. Bei erstmaligen Alkoholgaben ist z. B. eine Aktivierung des orbitofrontalen, präfrontalen Kortex, des vorderen Cingulums, des Amygdala-Komplexes und des ventralen Striatums begleitet von einer Erhöhung des Dopamin-Ausstoßes zu beobachten. Dahingegen werden bei chronischem Alkoholkonsum langfristige Veränderungen in der Funktion dieser Areale beobachtet. Sowohl die akuten als auch die chronischen Effekte des Alkohols bewirken Veränderungen der Transmittersysteme einschließlich der nachgeschalteten Signalkaskaden, der verschiedenen Neuropeptide, der Transkriptionsfaktoren

und damit verbunden der Genexpression und modulieren so langfristig die Funktionen und Reaktionen dieser neuronalen Systeme.

Seit über 20 Jahren wird neben dem Alkohol auch dessen Abbauprodukt Acetaldehyd für verschiedene Effekte des Alkohols im ZNS verantwortlich gemacht. Im menschlichen Körper entsteht Acetaldehyd als Zwischenprodukt beim Abbau von Ethanol durch die Alkoholdehydrogenase. Acetaldehyd kann durch das Enzym Katalase auch im Gehirn nach Alkoholverabreichung hergestellt werden. Einige Studien, in denen die Aktivität der Katalase manipuliert wurde legen nahe, dass Acetaldehyd vor allem wegen seiner stimulierenden Eigenschaften, an Verhaltensänderungen, die durch Alkohol hervorgerufen werden, beteiligt ist (Sanchis-Segura et al., 2005). Trotzdem wird die Rolle des Acetaldehyds bei der Entstehung und Aufrechterhaltung einer Abhängigkeit in der Wissenschaft sehr kontrovers diskutiert. Die Meinungen reichen von der Verneinung jeglicher Effekte des Acetaldehyds bis hin zur Forderung, dass es sich dabei um einen "Acetaldehydismus" und nicht um Alkoholismus handelt. Eine Vielzahl von Versuchen konnte zwar eine Wirkung des Acetaldehyds auf einige zentrale Funktionen nach Alkoholeinnahme nachweisen, jedoch fehlen Beweise für eine pharmakologisch relevante Konzentration des Acetaldehyds im ZNS (Ward et al., 1997; Smith et al., 1984). Insgesamt wird in der Literatur von einer Wirkung des Acetaldehyd nach Ethanolgabe auf einige neuronale Funktionen hingewiesen, die am ehesten auf einen Modulierungseffekt und nicht einen direkten Einfluss beruhen. Letztendlich bleibt der Beweis für eine führende Rolle in der Entstehung der Alkoholabhängigkeit aus (Mascia et al., 2001; Quertemont et al., 2005; Hunt, 1996).

In jüngster Vergangenheit wurden auch immer mehr Hinweise auf eine Beeinflussung nicht nur des zentralen Belohnungssystems sondern auch des zentralen Stresssystems beschrieben. Hier spielt zum Beispiel der Einfluss von Alkohol auf den Corticotropin-Releasing-Factor (CRF) bei der Vermittlung der neuroendokrinen, autonomen und Verhaltensreaktionen auf Stress und Angst

eine Schlüsselrolle. Regionen des Amygdala-Komplexes (einschließlich der zentrale Kern der Amygdala) weisen eine hohe Anzahl an CRF-Rezeptoren auf und sind Teil des "extrahypothalamischen" CRF-Stress-System (Koob 2009). Zahlreiche Studien haben die Beteiligung des CRF-Systems des Amygdala-Komplexes bei der Vermittlung der Verhaltensreaktionen, welche mit Furcht und Angst verbunden werden, gezeigt. Während des akuten Alkohol-Entzugs werden die extrahypothalamischen CRF-Systeme hyperaktiviert und es kommt bei abhängigen Ratten zu einem Anstieg der extrazellulären CRF unter anderem in den zentralen Kern der Amygdala. Koob und Mitarbeiter postulieren, dass diese Fehlregulation für die Verstärkung der negativen Effekte eines Entzuges und einer Abstinenz verbunden ist und so zu einer Zunahme der Rückfallwahrscheinlichkeit beiträgt (Koob, 2009, 2010).

Alkohol hat aber nicht nur direkte Effekte auf Transmitter und Rezeptoren. Es wird angenommen, dass Ethanol zusätzlich zu seiner direkten Interaktion mit Membranproteinen (Rezeptoren, Transporter, Ca- und K-Kanälen) auch mit Lipiden der Zellmembran von Neuronen interagiert und so die annuläre Lipidmembranfluidität beeinflusst (Bae et al., 2005; Wood et al 1988). Ethanol bewirkt z. B. eine Verklumpung von bestimmten Membranproteinen (Clusterbildung) (Goldstein, 1986; Sun et Sun, 1985). Auch werden dem Ethanol Effekte an neuronalen Membranen zugeschrieben die für einige der anästhetischen Wirkungen des Alkohols verantwortlich sind. Insgesamt scheint dieser Mechanismus jedoch für die direkte Wirkung an und in bestimmten neuronalen Schaltkreisen des Ethanols eine untergeordnete Rolle zu spielen (Bae et al., 2005).

In mehreren Studien konnte eine Wirkung von Ethanol auf Taurin gezeigt werden. Taurin ist eine nicht-essentielle Aminosäure, welche aus Cystein synthetisiert wird und unter anderem für die Membranstabilität, Osmoregulation und Neurotransmitter-Modulation eine wichtige Rolle spielt. Taurin ist in vielen Säuger-Zellen in relativ hoher Konzentration vorhanden. Viele Studien deuten darauf hin, dass Taurin an einer Vielzahl von Funktionen im ZNS mitwirkt und

z.B. durch Beeinflussung vieler Transmittersysteme, Calcium- und Chloridbewegungen moduliert (Dahchour et De Witte, 2000). Dahchour und De Witte (2000) geben einen ausführlichen Überblick über verschiedene Taurin-Wirkungen und benennen dazu verschiedene Studien (siehe Dahchour et De Witte, 2000). Trotz dieser zahlreichen Studien, die verschiedene Wirkungen der Aminosäure im ZNS aufgedeckt haben, bleibt die genaue Funktion noch unklar. Schon sehr früh konnten mehrere Studien eine Wirkung des Taurins als Neurotransmitter oder Neuromodulator im ZNS beschreiben (Davison et Kaczmarek, 1971; Lombardini, 1976, Oja, 1990). Des Weiteren wird eine Interaktion sowohl mit GABA-A und GABA-B-Rezeptoren (Gamma-Aminobutter-Säure-Rezeptoren) als auch mit Glutamatrezeptoren beschrieben. Taurin wirkt z. B. inhibitorisch auf NMDA- (N-Methyl-D-Aspartat), Kainat- und Quisqualat-Rezeptoren und beeinflusst die Ausschüttung von GABA, indem es an GABA-A- und GABA-B-Rezeptoren bindet (Dahchour et De Witte 2000). Von Kontro (1987) wird zudem eine Modulation des dopaminergen Systems im Striatum durch eine veränderte Taurinfreisetzung beschrieben. Taurin scheint unter anderem, wenn es oral eingenommen wird, durch eine Enzyminduktion in der Leber auch den Abbau von Acetaldehyd, dem Hauptmetaboliten von Ethanol, zu beschleunigen (Watanabe et al., 1985 a und b). In mehreren Publikationen ist eine Beeinflussung vieler Ethanol-induzierter Verhaltensmuster bzw. -parameter, wie die Schlafzeit (Hypnosis), die Lokomotion im "open field" und die "conditioned taste aversion" bei Mäusen und Ratten durch die Gabe von Taurin beschrieben worden (McBroom et al., 1986; Mattucci-Schiavone et Ferko, 1985; Aragon et al., 1992; Aragon et Amit, 1993). In einer klinischen Studie konnte die Gabe von Taurin über den Zeitraum des Entzuges signifikant das Aufkommen von psychotischen Symptomen reduzieren (Ikeda, 1977). Dahchour und De Witte fassen diese Erkenntnisse folgendermaßen zusammen: die Gabe von Ethanol führt bei Ratten in vielen Hirnregionen zu einem erhöhten Level der Aminosäure Taurin. Zu diesen Regionen gehören z. B. der Nucleus accumbens (Dahchour et al., 1994, 1996), der Hippocampus, der frontale Kortex (Dahchour, 1998) und die Amygdala (Quertemont et al., 1998). Alles Regionen die direkt mit den

Verstärkungseffekten und der Entstehung einer Alkoholabhängigkeit in Verbindung gebracht werden.

Auch Tetrahydroisochinoline (TIQ) und Beta-Carboline, wie das Harman und Norharman sollen durch Alkohol beeinflusst werden. Sie sind chemisch gesehen Kondensationsprodukte aus Alkohol oder Alkoholmetaboliten mit Dopamin, Phenylethylamin, Noradrenalin, Serotonin oder Tryptamin. Allerdings ist ihre biologische Bildung über enzymatische Prozesse in den meisten Fällen unklar. Einige dieser Kondensationsprodukte sind bei Alkoholabhängigen in der Phase des chronischen Missbrauchs und auch noch während der Entzugsphase signifikant erhöht (Fekkes et al., 2004). Es wird diskutiert, ob eine erhöhte Biosynthese das Alkoholverlangen verstärkt und so zur Aufrechterhaltung süchtigen Verhaltens beiträgt. Des Weiteren sollen diese Substanzen das mesolimbische Verstärkungssystem stimulieren. Darüber hinaus besitzen diese Substanzen neurotoxische Eigenschaften, die möglicherweise zu den neurodegenerativen Prozessen bei erhöhtem Alkoholkonsum beitragen. In der Literatur sind einige Studien zur Klärung darüber, ob man Beta-Carboline als Alkoholismuskriterium verwenden könnte, beschrieben (Rommelspacher et al., 1991; Spies et al., 1995). Eine klare Aussage darüber, welche Effekte des Ethanols auf diese Amine zurück zu führen sind, kann zum jetzigen Zeitpunkt nicht gemacht werden. Es gibt Hinweise, dass z. B. die TIQ's die Glutamatausschüttung im Striatum modulieren und so im Nucleus accumbens, Striatum und präfrontalen Kortex zu einer Abnahme von Glutamat führen (Lorenc-Koci et al. 2009). Für die Betacarboline ist die Evidenz dagegen dürftig.

Gamma-Amino-Buttersäure (GABA) ist der wichtigste inhibitorische Neurotransmitter im Säugetiergehirn. Es werden bisher zwei GABA-Rezeptor-Gruppen unterschieden. Zum einen der postsynaptische GABA-A-Rezeptor, ein Ionenkanalrezeptor, der Chlorid in die Zelle lässt und auf diese Weise eine Hyperpolarisation hervorruft, und zum anderen der präsynaptische GABA-B-Rezeptor, der über G-Proteine mit einem Kalium- und Calcium-Kanal

verbunden ist. Er steigert die Kaliumpermeabilität oder verringert den Calciumeinstrom und reduziert so die Freisetzung von Neurotransmittern. Die Akutwirkung des Ethanol wird zu großen Teilen auf seine Effekte auf die GABAerge Neurotransmission zurückgeführt. Viele Studien zeigen einen Anstieg der GABA-A-Antwort durch die akute Alkoholwirkung (siehe Dahchour et De Witte, 2003). Eine länger andauernde Alkoholgabe führt zu einer Funktionsabnahme von GABA-A-Rezeptor-gesteuerten Chloridkanälen (Allan et Harris, 1987; Morrow, 1995). Eine solche Funktionsabnahme, unter anderem durch Abnahme der Rezeptor-Dichte und Veränderung der Genexpression verschiedener Untereinheiten des Rezeptors, wird unter anderem für die Toleranzentwicklung gegenüber Alkohol verantwortlich gemacht (Golovko et al., 2002). Aber auch der metabotrope GABA-B-Rezeptor hat einen Einfluss auf die langfristige Alkoholeinnahme. So konnte gezeigt werden, dass der GABA-B Agonist Baclofen die freiwillige Alkoholeinnahme von Alkohol-präferierenden Ratten unterdrückt hat (Vengeline et al., 2008).

Eines der wichtigsten Neurotransmittersysteme, welchem bei abhängigen Verhalten, insbesondere beim Rückfall, eine bedeutende Rolle zugeschrieben wird, ist das glutamaterge System (Tsai et Coyle, 1998). Der Neurotransmitter Glutamat soll bei der Aufrechterhaltung einer Abhängigkeit eine wichtige Rolle spielen (Tsai et al., 1995; Tsai et Coyle, 1998). Die Gruppe der Glutamatrezeptoren wird in zwei Untergruppen aufgeteilt. Zum einen die ionotropen, ligandengesteuerten Ionenkanal-Rezeptoren (NMDA, Kainat und AMPA) und die metabotropen, G-Protein-gekoppelten Rezeptoren welche mit der Phospholipase C und der Adenylatcyclase verbunden sind (Dahchour et De Witte, 2000). Der NMDA-Rezeptor, ein mit einem für Calcium, Natrium und Kalium durchlässigen Ionenkanal verbundener Rezeptor, wird mit vielen physiologischen und pathologischen Prozessen, wie der synaptischen Plastizität, der Gedächtnisbildung, epileptischen Anfällen und dem Zelltod in Verbindung gebracht (Lau et Zukin, 2007). Der akute Effekt des Ethanol ist eine Inhibition oder Antagonisierung am NMDA-Rezeptor, sowie eine Abnahme der extrazellulären Glutamatkonzentration (Lovinger et al., 1990; Carboni et al.,

1993). Des Weiteren zeigen Daten von in vivo Studien, dass die Abnahme der hippocampalen, glutamatergen Neurotransmission, hervorgerufen durch Alkohol oder Benzodiazepine, eng mit Defiziten des räumlichen Gedächtnisses verbunden sind (Shimizu et al., 1998). Interessanter Weise wird dieses Phänomen durch die Gabe von NMDA-Antagonisten blockiert (Coan et al., 1987). Die längere Einnahme von Alkohol führt durch die hemmende Wirkung zu einer Up-Regulation von NMDA-Rezeptoren und deren Funktion (siehe Dahchour et De Witte, 2000). In molekularbiologischen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Ethanol zu einer Up-Regulierung von NMDA-Rezeptor-Untereinheiten (NR1, NR2A und NR2B) in Rattengehirnen führt (Kalluri et al., 1998). Andere Studien zeigen, dass eine chronische Gabe von Alkohol zum NMDA-getriggerten Anstieg von intrazellulärem Calcium führt (Smothers et al., 1997). Insgesamt lässt sich sagen, dass die akute Wirkung des Ethanols zu einer Reduktion der NMDA-vermittelten glutamatergen Neurotransmission durch Hemmung der NMDA-Rezeptoren führt und eine länger andauernde NMDA-Rezeptorantagonisierung zur Hypersensitivität führt (Dahchour et De Witte, 1999; Tsai et Coyle, 1998; Nevo et Hamon, 1995).

#### **4.2.2. Memantinwirkung**

In der vorliegenden Studie sollte der Einfluss von Memantin auf die Suchtentstehung und das Alkoholeinnahmeverhalten von alkoholerfahrenen Ratten untersucht werden. Hierzu wurde Memantin kurz vor, im und nach dem Entzug, im Sinne eines Substituts eingesetzt. Memantin ist ein spannungsabhängiger, nicht kompetitiver NMDA-Rezeptorantagonist mittlerer Affinität mit schneller Rezeptorkinetik. Memantin blockiert die Wirkung pathologisch erhöhter tonischer Konzentrationen von Glutamat, die zu neuronalen Funktionsstörungen führen können. Die normale glutamaterge Neurotransmission ist entscheidend an Prozessen der Gedächtnisbildung, z. B. durch Langzeitpotenzierung, und der synaptischen Plastizität beteiligt. Tsai und Coyle schreiben dem glutamatergen System eine wichtige Rolle bei der Suchtentstehung zu (Tsai und Coyle, 1998), die Indizien hierfür sind jedoch äußerst dürftig, da vor allem glutamaterge Therapieansätze bisher

fehlgeschlagen sind. Dagegen ist Glutamat unstrittig an der Entzugssymptomatik beteiligt. Zusätzlich zur Wirkung am NMDA-Rezeptor blockiert Memantin, wenn auch in schwächerem Maße, 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren (Serotonin) und nicotinerge Acetylcholin-Rezeptoren (Gass et Olive, 2008).

In vielen tierexperimentellen Studien konnte nachgewiesen werden, dass Memantin in niedrigen Dosen gestörte Lern- und Gedächtnisfunktionen positiv beeinflusste und kognitive Defizite verbesserte (Barnes et al., 1996; Lukyanova et Paula-Barbosa, 2001). Allerdings sind diese Effekte quantitativ als eher schwach einzuschätzen. Zudem konnte von Lukyanov und Mitarbeitern (2001) gezeigt werden, dass Memantin, die durch einen Alkoholentzug induzierten kognitiven Beeinträchtigungen bei Ratten, vollständig beseitigte. In diesem Versuch erhielten adulte Ratten über 6 Monate als einzige Trinkflüssigkeit eine 20 % ige Ethanollösung, danach wurde ihnen der Alkohol entzogen und sie erhielten über die ersten 4 Wochen des Entzuges intraperitoneal Memantin injiziert (20 mg als Bolus am ersten Tag, dann alle 12 Stunden 1 mg/kg). Nach 10 Wochen wurde ihr kognitiver Status im Morris-Wasserlabyrinth (Morris Water Maze) getestet. Das Morris-Wasserlabyrinth ist eine Versuchsapparatur, in der die Tiere selbstständig eine unter der Wasseroberfläche befindliche, nicht sichtbare Plattform finden und sich deren räumliche Position merken sollen. Das Experiment dient also vor allem der Untersuchung des räumlichen Lernens der Tiere. Der Alkoholentzug verschlechterte die Performance der Ratten deutlich, wobei Memantin diese Verhaltensverschlechterung komplett verschwinden ließ (Lukyanov et Paula-Barbosa, 2001).

Zudem wurde in den letzten Jahren immer wieder über eine mögliche Rückfallprophylaktische Wirkung von NMDA-Antagonisten, wie zum Beispiel Memantin spekuliert. Hölter und Mitarbeiter zeigten eine deutliche Reduktion des ADE bei Ratten nach Gabe von ca. 5 mg Memantin und postulieren deswegen einen möglichen Anticraving-Effekt dieser Substanz (Hölter et al., 1996) Hölter und Mitarbeiter zeigten ebenfalls, dass eine dauerhafte Gabe eines nicht kompetitiven NMDA-Rezeptor-Antagonisten die erhöhte

Ethanoleinnahme während des ADE verhinderte (Hölter et al., 2000). In einer weiteren Studie mit Ratten reduzierte Memantin die eingenommen Alkoholdosis in einem begrenzten Zugriffsregime, bei dem die Tiere zeitlich begrenzt aber freiwillig eine 8% ige Ethanollösung zu sich nehmen konnten (Bienkowski et al., 1999). Biala und Kotlinska publizierten eine Studie, in der NMDA-Rezeptor-Antagonisten die Alkohol-induzierte Platz-Präferenz von Ratten verhinderten (Biala and Kotlinska, 1999). Des Weiteren vermochte die Mikroinjektion eines kompetitiven NMDA-Antagonisten in den Nac die Alkoholeinnahme von Ratten in einem „free-choice operant task“ (Wasser vs. 10% Alkohol) abschwächen (Rassnick et al., 1992a und b).

In einer klinischen Studie konnte gezeigt werden, dass ein nicht kompetitiver NMDA-Antagonist alkoholentzugsbedingte Krampfanfälle verhinderte (Trujillo et Akil, 1995). In einer weiteren klinischen Studie zur Untersuchung des Effektes von Memantin auf das „cue-induced craving“ zeigten Krupitsky und Mitarbeiter (2007) das Memantin dosisabhängig das Craving reduzieren konnte und zudem Ethanol-ähnliche Wirkungen verursachte (Krupitsky et al. 2005). Bisaga und Evans konnten positive Effekte von Memantin auf das craving aufzeigen. In ihrer Studie wurden die akuten Effekte von Memantin auf das subjektiv empfundene Verlangen (craving) kurz vor der Alkoholeinnahme bei nicht alkoholabhängigen Probanden getestet. In dieser doppel-blinden Studie gaben die Probanden nach Memantingabe weniger „craving“ an (Bisaga und Evans, 2004). In einer anderen doppelblinden und Placebo-kontrollierten Pilot-Studie werden jedoch keine positiven Auswirkungen von Memantin auf die Rückfallrate (gemessen an der Anzahl der durchschnittlichen Trinktage und Getränke pro Trinktag sowie der prozentualen Anteile an schweren Trinktagen und abstinenten Tage nach Abstinenz) und das craving (gemessen mit Hilfe der „Obsessive Compulsive Drinking Scale“ einem Selbstbeurteilungsfragebogen zur Einschätzung des Alkoholverlangens und der „Clinical Global Impression rating Scale“ einem Fremdrater-Bogen zur Beurteilung der schwere einer psychischer Erkrankungen) beobachtet (Evans et al., 2007).

### 4.3. Auswirkung von Memantin auf das Trinkverhalten und die circadiane Aktivität (Lokomotion) vor dem Entzug

In den oben erwähnten tierexperimentellen Studien wurden Memantin-Dosen von 1 mg/kg bis 10 mg/kg eingesetzt, wobei jeweils intraperitoneale Injektionen ein bis zweimal am Tag erfolgten. In der vorliegenden Studie bekamen die Versuchstiere das Memantin in Wasser gelöst, angeboten entweder als einzige nicht alkoholische Trinkflüssigkeit (forcierte Gabe) oder aber zusätzlich zu Wasser und den Alkohollösungen (freiwillige Einnahme). Die eingenommene Dosis erreichte nur bei den Gruppen der forcierten Memantin-Gabe (**SF**, **ZF**) den oben genannten Bereich. Die gleichzeitige Gabe von Ethanol und Memantin führte bei den Gruppen **ZF** und **SF** zu einem deutlichen Anstieg der eingenommenen Ethanoldosis, wobei die totale Flüssigkeitseinnahme und der Futterverbrauch bei allen vier Memantingruppen gleich geblieben war. Im Gegensatz zu den oben genannten Studien kam es nicht zu einer Abnahme sondern zu einer deutlichen Zunahme der Ethanoldosis. Die Ergebnisse aus dem Lichtschrankenmesssystem zeigen, dass die Gruppen der forcierten Memantin-Gabe im Gegensatz zu allen anderen Gruppen vor dem Entzug kürzer und seltener an der Wasser/Memantin-Lösung tranken aber deutlich länger an den Alkoholflaschen. Des Weiteren machten sie zwischen der Wasser/Memantin-Einnahme längere Pausen als die anderen Gruppen, nicht aber an den Alkoholflaschen.

Darüber hinaus zeigen die Gruppen **SF** und **ZF** zu Beginn ihrer Aktivitätsphase eine reduzierte horizontale und vertikale lokomotorische Aktivität. Sie richteten sich zu Beginn der Aktivitätsphase vor allem seltener auf und legen weniger Weg zurück als alle anderen Gruppen. In einer Untersuchung von Bubser und Mitarbeitern steigerten Ratten ihre spontane lokomotorische Aktivität nach der intraperitonealen Injektion von 20 mg/kg Memantin deutlich (Bubser et al. 1992). Auch andere Studien zeigten nach subkutaner (0,25 bis 20 mg/kg) oder intracerebroventrikulärer (0,625 bis 10µ/Maus) Injektion von Memantin und anderen NMDA-Antagonisten eine gesteigerte Lokomotion (Onogi et al., 2009; Koros et al., 2007). In einer anderen Studie konnten keine eindeutigen Effekte

auf die Lokomotion bei intraperitonealer Gabe von 5, 10 oder 20 mg/kg Memantin nachgewiesen werden (Reus et al., 2010). Anscheinend hatte die gleichzeitige Gabe von Ethanol und Memantin einen dämpfenden Effekt auf die Lokomotion der Ratten. Die eingenommene Memantin-Dosis vor dem Entzug betrug in der vorliegenden Arbeit etwa 1 mg/kg/d und lag somit im Niedrigdosis-Bereich. Die eingenommene Ethanoldosis lag in dieser Zeit bei über 2,5 g/kg/d und ist damit sehr hoch. Die Gabe von Memantin könnte bei gleichzeitiger Einnahme von Alkohol bei den Ratten zu einer initialen Blockade insbesondere des Trinkverhaltens und der Lokomotion geführt haben, welche im Verlauf der Aktivitätsphase wieder kompensiert wurde. Die hier beobachtete erhöhte Alkoholeinnahme steht im Gegensatz zu Ergebnissen der oben berichteten Studien. Die Ratten könnten eventuell die leicht bitter schmeckende Memantinlösung nicht besonders gemocht haben und auf die Alkohollösungen ausgewichen sein. Memantin könnte aber auch pharmakologisch die Wassereinnahme aber nicht die Alkoholeinnahme unterdrückt haben, denn in den ersten 3 Wochen nach dem Entzug reduzierten die Memantingruppen, insbesondere die Gruppen **SF** und **ZF**, ihre totale Flüssigkeitseinnahme deutlich und erreichten erst im Retest, bzw. nach Absetzen des Memantin wieder die Flüssigkeitsmengen der anderen Gruppen. Einen Effekt des Memantin auf das Trinkverhalten zeigten auch Escher und Mitarbeiter (2006). In diesem Versuch reduzierte die intraperitoneale Gabe von 5, 10 und 25 mg/kg Memantin die reguläre Wasseraufnahme deutlich, führte aber zudem zu einer Reduktion der Alkoholeinnahme in einem „schedule-induced polydipsia task (SIP)“ (Escher et al., 2006).

Im Gegensatz zu den Ergebnissen anderen Studien steigerten die Ratten in meinem Versuch bei der gleichzeitigen forcierten Gabe von Memantin und Alkohol ihre Ethanoldosis und zeigten im Vergleich mit den anderen Gruppen weniger Aufrichthandlungen und legten weniger Weg zurück. Möglicherweise kam es so zu einer synergistischen dämpfenden Wirkung beider Substanzen und dadurch zu einer Verringerung der Lokomotion zu Beginn der Aktivitätsphase.

#### **4.4. Auswirkung von Memantin auf das Trinkverhalten und die circadiane Aktivität (Lokomotion) im Entzug und in der Abstinenz**

Eine exzessive und langanhaltende Alkoholeinnahme resultiert bei Ratten, unabhängig von der Art der Einnahme (forciert vs. freiwillig), in einer physischen Abhängigkeit mit maladaptiven neurophysiologischen Zuständen. Wird einer Ratte in diesem Zustand der Alkohol entzogen oder die Einnahme drastisch reduziert, treten bestimmte Symptome auf, welche auch als Entzugssyndrom bezeichnet werden. In einer Übersichtsarbeit von Becker (2000) werden insbesondere drei Kategorien klinischer Merkmale des Entzugssyndroms beschrieben: 1) eine Hyperaktivität des autonomen Nervensystems, welches Vitalparameter wie die Herzfrequenz, den Blutdruck und die Atmung reguliert, 2) eine Störung der Empfindung und Wahrnehmung verschiedener Reize oder Stimuli und 3) eine Übererregbarkeit des zentralen Nervensystems (Becker 2000; Anton et Becker, 1995). Die üblichen Alkohol-Entzugssymptome bei Ratten dauern ca. 3 - 4 Tage an und hängen maßgeblich von der Dauer und der Menge, sowie vom Einnahmemuster des vorher stattgefundenen Konsums ab (Wolffgramm et Heyne, 1991; Heyne et al., 2000). In der Regel sind eine reduzierte Futter- und Wasseraufnahme, eine Diarrhö, eine gesteigerte Herzfrequenz und ein erhöhter Blutdruck sowie eine Hyperthermie auf Grund der gesteigerten sympathischen Aktivierung beschrieben (Spanagel et al., 1996). Des Weiteren können die Ratten einen Tremor (Zittern des ganzen Körpers) aufweisen und zeigen in bestimmten Testverfahren beziehungsweise Versuchsanordnungen eine erhöhte Ängstlichkeit (File et al., 1992; Koob and Britton 1996). Darüber hinaus ist die sensorische Empfindsamkeit gesteigert und äußert sich in einer gesteigerten Schmerzwahrnehmung (Hyperalgesie). Hierzu gibt es in der Literatur einige Studien, die Aussagen, dass eine nach Absetzen des Alkohols, erniedrigte Schmerzreaktionsschwelle einen sehr aussagekräftigen Hinweis auf einen körperlichen Entzug liefert (Sprague, 1978; Wolffgramm et Heyne, 1991). Ein weiteres, oft genutztes und gut untersuchtes Entzugssymptom bei Versuchstieren ist der entzugsbedingte Krampfanfall oder spezifische EEG-Veränderung (Finn et Crabbe, 1997). Am häufigsten wird

jedoch in tierexperimentellen Studien die im Entzug veränderter lokomotorische Aktivität als Hinweis für Entzugssymptome und eine damit verbundene körperliche Abhängigkeit genutzt. Hölter und Mitarbeiter (2000) beschrieben in einer Studie, dass sowohl Ratten, welche wiederholt einem Entzug ausgesetzt waren als auch Ratten, welche erst einmal den Alkohol abgesetzt bekommen hatten, eine gesteigerte Lokomotion aufwiesen und bei der Gruppe des wiederholten Entzuges die Hyperlokomotion in den Dunkelphasen sogar noch zugenommen habe (Hölter et al., 2000). In einer weiteren Untersuchung, in der verschiedene Rattenstämme bezüglich ihrer Reaktion auf Alkoholexposition und Entzug beobachtet wurden, zeigte bei allen Tieren unter der Einnahme von Alkohol eine Reduktion der lokomotorischen Aktivität und sofort nach Absetzen des Alkohols eine Steigerung derselben (Taylor et al., 2006).

Die Gabe und der Entzug von Alkohol haben aber nicht nur Auswirkungen auf die Lokomotion sondern auch auf die circadiane Aktivität von Labortieren. Die komplexen pharmakologischen Eigenschaften des Alkohols auf das Säugetierhirn können auf vielen verschiedenen Wegen circadiane und ultradiane Faktoren beeinflussen. In einer Übersichtsarbeit der Arbeitsgruppe um Rosenwasser (2005), wird bezüglich der Alkoholeffekte insbesondere dem Neurotransmitter Serotonin eine wichtige Rolle zugeschrieben. Als Hinweise nennen sie zum einen die ähnlichen Wirkungen von Antidepressiva und Alkohol auf das circadiane Schrittmacher-System, sowie die ähnlichen Auswirkungen einer Depression und eines Alkoholentzuges auf dieses System. Zum anderen weisen sie auf die zahlreiche Literatur hin, welche einen Zusammenhang zwischen Serotonin und Depressionen, Serotonin und Alkoholentzug und Serotonin und der Regulation des circadianen Rhythmus beschreiben (Rosenwasser et al., 2005). Bezüglich der Veränderung circadianer Aktivitätsmuster im Entzug gibt es einige tierexperimentelle Studien, die alle zu dem Schluss kommen, dass Alkohol und das Absetzen von Alkohol auf verschiedene Verhaltensmuster unterschiedliche Auswirkungen haben. In einer Studie erhielten Ratten über 3 Wochen eine flüssige Nahrung mit 6 % Ethanol versetzt. Die Gabe dieser Diät hatte Auswirkungen auf das Schlaf-EEG und auf

die verschiedenen Schlafphasen. Diese Auswirkungen veränderten sich ca. eine Woche nach Entzug und waren erst etwa drei Wochen nach Absetzen des Alkohols wieder verschwunden (Kubota et al., 2002). Spanagel et al. (2005) beschrieben, dass eine langandauernde Alkoholverabreichung oder –einnahme die Expression von Genen, welche Einfluss auf die circadiane Rhythmik und dessen Schrittmacher haben, moduliert und so verschiedenste neurochemische und neuroendokrinologische Funktionen stört und so z. B. zu Veränderungen der Rhythmik führen kann. In einer Studie zum Einfluss von Alkohol auf das circadiane Einnahmeverhalten konnten Boyle et al. (1997) zeigen, dass verschieden konzentrierte Alkohollösungen zu unterschiedlichen Zeiten und in einem unterschiedlichen Muster von den Ratten aufgenommen wurden. Diese Veränderungen in den Verhaltensmustern werden meistens mit drei Parametern beschrieben. Es gibt Veränderungen in der Amplitude, also zum Beispiel der Anzahl an Aufrichthandlungen oder der Länge des zurückgelegten Weges. Ein weiterer Parameter ist die Phase, also ein bestimmtes Zeitintervall, welches eine Ratte zum Beispiel zur Aufnahme von Nahrung und Flüssigkeit benötigt oder in welchem sie inaktiv ist und schläft. Und schließlich die Abfolge dieser verschiedenen Phasen, welche sich in der Periodenlänge widerspiegeln.

Im vorliegenden Versuch wurde das Einnahmeverhalten der Tiere anhand verschiedener Parameter untersucht. Diese Parameter sollten Rückschlüsse auf die Lokomotion und die circa- und ultradiane Aktivität der Ratten zulassen und mögliche Entzugssymptome beobachtbar machen. Die Ergebnisse aus den Lichtschranksystemen zeigten, dass alle Gruppen vor dem Entzug (1. Durchgang) in der ersten Stunde nach dem Einsetzen mehr Weg zurück legten als im Entzug (2. Durchgang) und danach in der Abstinenz (3. Durchgang). Auch die Alkohol-Kontroll-Gruppe, welche zu allen drei Durchgängen dieselben Bedingungen hatte, wies dieses Ergebnis auf. Dies ist am wahrscheinlichsten auf den sogenannten „novelty effect“ zurück zu führen. Die Ratten meines Versuches waren im Durchgang vor dem Entzug das erste Mal in der Versuchsanordnung gewesen, kannten diese Umgebung also noch nicht. Sie

explorierten demnach in diesem Durchgang die für sie neue Umgebung. Aus verschiedenen Untersuchungen ist bekannt, dass Versuchstiere, insbesondere Ratten, in einer für sie neuen Umgebung in den ersten 30 bis 60 Minuten eine Steigerung ihrer horizontalen Lokomotion zeigen, sie z. B. größere Wegstrecken zurück legen (Blanchard et al., 2009; Dellu et al. 1996). Trotz dieses Effektes scheint die horizontale Lokomotion der Ratten in meinem Versuch, nicht wie in der Literatur beschrieben, im Entzug gesteigert sondern eher gleichbleibend zu sein, da auch nach dem Entzug die Lokomotion nicht weiter gesunken ist. Aufgrund des oben erwähnten „novelty effects“ und der nicht deutlich veränderten horizontalen Lokomotion auch nach dem Entzug, ist eine klare Aussage bezüglich einer generellen Zunahme der horizontalen Lokomotion (zurückgelegter Weg) durch den Entzug bei meinen Ratten nur begrenzt möglich.

Allerdings gab es bei den Gruppen mit Alkoholentzug Veränderungen bezüglich der Lokomotion und des Trinkverhaltens in der Aktivitätsphase und diese könnten durchaus als Hinweise für Entzugs- oder Abstinenzeffekte angesehen werden. Alle Gruppen waren vor dem Entzug (1. Durchgang) zu Beginn der Dunkelphase am aktivsten, nahmen Futter und Flüssigkeiten zu sich und legten große Wegstrecken zurück. Im Verlauf der Aktivitätsphase reduzierten sich die Aufrichthandlungen und die Wegstrecke wurde geringer. Dieses Muster behielt die Alkohol-Kontroll-Gruppe auch in den anderen Durchgängen bei.

Die Wasser-Kontroll-Gruppe dagegen zeigte im Entzug und noch 1 Woche danach erst in der Mitte der Aktivitätsphase ihre meiste horizontale Lokomotion. Im Entzug und danach kam es zu einem verzögerten Aktivitätsaufbau, eventuell zu einer Veränderung der circadianen oder ultradianen Rhythmik und des Einnahmeverhaltens. Vor dem Entzug fraßen die Ratten hauptsächlich zu Beginn der Dunkelphase. Im Entzug und noch deutlicher nach Entzug stellte man erst in der zweiten Hälfte der Aktivitätsphase die meisten Aufrichthandlungen am Futterkorb fest. Die Fressdauer war ebenfalls während der Alkoholgabe kürzer als im Entzug und danach, des Weiteren nahm die Wassertrinkdauer deutlich zu. Die Gruppe ohne Entzug nimmt in allen drei Durchgängen zu Beginn der Aktivitätsphase mehr Futter zu sich als danach.

Das heißt die Ratten in meinem Versuch nahmen, wenn sie Alkohol zur Verfügung hatten, erst das Futter und dann die Flüssigkeiten zu sich und nachdem ihnen der Alkohol entzogen wurde veränderte sich ihr circadianes Einnahmeverhalten wieder. Jetzt tranken sie länger an der Wasserflasche und fraßen erst später in ihrer Aktivitätsphase. Veränderungen im circadianen Einnahmeverhalten unter Alkohol konnten wie oben bereits erwähnt auch von Boyle et al. (1997) gezeigt werden. Die durch den Entzug eingetretene Veränderung des Einnahmeverhaltens war über den Entzug hinaus zu beobachten und ist somit nicht als Entzugssymptom sondern als Abstinenzeffekt zu werten.

Die vertikale Lokomotion, in diesem Versuch unter anderem durch die Anzahl der gesamten Aufrichthandlungen ermittelt, zeigt bei der Wasser-Kontroll-Gruppe ebenfalls in der Abstinenz zu Beginn der Aktivitätsphase eine deutliche Veränderung. Die Ratten richten sich zu dieser Zeit viel seltener auf als in den Durchgängen zuvor und das Aktivitätsmaximum findet sich erst in der Mitte der Aktivitätsphase. Da dieser Unterschied erst in der Abstinenz zu sehen ist, sich das circadiane Einnahmeverhalten aber bereits im Entzug verändert haben müsste, könnte sich hier eine entzugsbedingte vertikale Hyperlokomotion zeigen, wie sie in den oben genannte Studien als Entzugssymptom beschrieben wird.

Mit den erhobenen Ergebnissen lassen sich nur bedingt Entzugssymptome feststellen. Die horizontale Lokomotion scheint bei den Ratten im Entzug nicht gesteigert zu sein. Dafür lässt sich auf Grund der bereits im Entzug beobachtbaren Veränderung des circadianen Einnahmeverhaltens und eine damit verbundene Verschiebung des Aktivitätsmaximums hin zur Mitte der Aktivitätsphase ein Abstinenzeffekt beschreiben, welcher dann die nicht verminderte vertikale Lokomotion im Entzug als einen Entzugseffekt aufdeckt.

Diese Effekte des Alkoholentzuges und der Abstinenz zeigten sich zum Teil auch bei den Memantin-Gruppen, wobei sie bei diesen Gruppen insbesondere bei den Memantin-freiwillig-Gruppen nicht ganz so deutlich zu sehen waren. Die Memantin-Gruppen zeigten aber ebenfalls ein verschobenes Aktivitätsmaximum

in Richtung der zweiten Hälfte der Dunkelphase, insbesondere die Aufrichthandlungen am Futterkorb waren verzögert. Auch die Trinkdauer an der Wasser-, bzw. Memantinflasche war, wie bei der Wasser-Kontroll-Gruppe, im Entzug und danach gesteigert, ebenso die Fressdauer. Diese Veränderungen blieben bis eine Woche nach Entzug bestehen und sind somit auch als Abstinenzeffekt zu werten. Da es auch bei diesen Gruppen erst in der Abstinenz zu einer deutlichen Veränderung der vertikalen Lokomotion (Aufrichthandlungen gesamt) kam, die Veränderungen des circadianen Einnahmeverhaltens, wie bei der Wasser-Kontroll-Gruppe, aber bereits seit dem Entzug bestanden hatten, kann dies als eine im Entzug gesteigerte vertikale Lokomotion angesehen werden und wäre damit ein Entzugseffekt. Somit hatte Memantin auf die Dauer der Trinkhandlungen und die Abstände der Trinkpausen, welche sich durch den Entzug genauso veränderten wie bei der Wasser-Kontroll-Gruppe, keinen Einfluss. Auch die eingenommene Futtermenge und die Dauer der Fresshandlungen sowie die entzugsbedingten Veränderungen dieser wurden durch Memantin nicht beeinflusst. Insgesamt zeigten sich demnach Veränderungen des circadianen Einnahmeverhaltens, welche nicht durch Memantin beeinflusst wurden. Auch der einzige nicht direkt sichtbare Entzugseffekt, die gesteigerte vertikale Lokomotion, wurde nicht durch Memantin verringert oder verhindert, wie in der Hypothese postuliert wurde.

In Bezug auf Veränderungen des Trinkverhaltens und der circadianen Aktivität von Memantin in der Abstinenzphase sind die Ergebnisse der Haltungsdaten aufschlussreich. Vergleicht man hier die Gruppen mit Entzug so wird deutlich, dass die forcierte Gabe von Memantin, wie oben schon erwähnt, direkt nach Absetzen des Alkohols zu einer deutlichen Reduktion der totalen Flüssigkeitsaufnahme führt. Nach dem Absetzen von Memantin kommt es dann wieder zu einem Anstieg der eingenommenen Flüssigkeitsmenge auf etwa dieselben Volumina, welche die Gruppen ohne forcierte Memantingabe einnahmen. Ähnliche Effekte auf die Trinkmenge wurden bereits von Escher et al. (2006) beschrieben. Auf die eingenommene Futtermenge hatte weder die forcierte noch die freiwillige Memantin-Gabe eine Auswirkung.

Eine weitere Beobachtung, welche auf die forcierte Gabe des Memantin zurück geführt werden kann und erst nach Absetzen des Alkohols auftrat, ist eine Reduzierung der Dauer einer Aufrichthandlung sowie längere Pausen zwischen diesen. Diese Ergebnisse zeigen sich nur bei der Memantin-forciert-Gruppe durch eine verminderte Aufenthaltswahrscheinlichkeit nach Beginn und nach Ende einer Aufrichthandlung in einem der vier Bereiche der Trinkflaschen. Das heißt, die Tiere der Memantin-forciert-Gruppen weisen eventuell in der Abstinenz eine verringerte vertikale Lokomotion auf. In der Literatur wird dagegen, wie oben bereits erwähnt, eine gesteigerte Lokomotion beschrieben, welche aber vor allem in den höheren Dosis-Bereichen und bei intraperitonealer oder intrakranieller Applikation auftritt. Möglicherweise haben die orale Aufnahme und die niedrige Dosis nicht diese Effekte.

Eine weitere und sehr interessante Beobachtung ist, dass es bei den Memantin-freiwillig-Gruppen (**SW**, **ZW**) beim Wechsel der Haltungsbedingungen von Einzel- in Gruppenhaltung zu einem kurzfristigen (ca. 3-4 Tage) enormen Anstieg der eingenommenen Memantin-Dosis ohne Steigerung der gesamten Trinkmenge kam. Dieser Anstieg beträgt weit mehr als das 3-fache der vorherigen Dosis. Es ist bekannt, dass der Wechsel von sozialen Haltungsbedingungen bei Ratten ein Stressor ist und zu einer veränderten Einnahme von Alkohol oder anderen psychotropen Substanzen führen kann (Blanchard et al., 1987; Coperet al., 1990; Deatherage 1972; Ellison 1987; Heyne et Wolffgramm 1991; Wolffgramm 1990). Insbesondere dann, wenn die Tiere über einen längeren Zeitraum konstanten Haltungsbedingungen ausgesetzt waren (Wolffgramm et Heyne; 1991). Die Ratten in meinem Versuch waren vor diesem Haltungswechsel 13 Wochen in Einzelhaltung gewesen und könnten diesen Wechsel als Stressor erlebt haben. Eventuell führte der mit diesem Wechsel verbundene Stress zu diesem Anstieg und die Tiere könnten das Memantin hier gezielt eingesetzt haben. Ein solch gezielter Einsatz einer Substanz in einer mit Stress in Verbindung stehenden Situation ist im Grunde nur bei psychotrop wirksamen Substanzen beschrieben (Wolffgramm et Heyne;

1991). Die Ratten der Memantin-Freiwillig-Gruppe könnten, zumindest in dieser Situation, Memantin ähnlich einer Droge eingesetzt haben.

Insgesamt haben sich somit keine Hinweise dafür ergeben, dass der ohnehin nur indirekt nachweisbare Entzugseffekt, durch eine forcierte oder freiwillige Gabe von Memantin nicht verhindert oder verringert werden konnte. Dagegen konnten in diesem Versuch durch Memantin entstandenen Veränderungen bezüglich des Einnahmeverhaltens im Sinne einer Steigerung der Alkoholdosis und Verringerung der Trinkmenge nach Entzug beobachtet werden. Darüber hinaus ergab sich ein Hinweis dafür, dass die Ratten, welche Memantin freiwillig einnehmen konnten, diese Substanz zumindest einmal im Sinne einer psychotropen Substanz eingesetzt hatten.

#### 4.5. Auswirkung von Memantin auf die erneute Alkoholeinnahme im Retest

Nach der Abstinenz von 10 Wochen zeigten alle Entzugs-Gruppen einen erheblichen Anstieg der Ethanoldosis auf Werte von über 3 g/kg/d. Im Vergleich zur eingenommenen Dosis vor dem Entzug war der Anstieg beträchtlich, insbesondere bei der **SF** Gruppe. Diese Gruppe hatte während der Abstinenz auch noch das Memantin abgesetzt bekommen. Sie steigerte ihre Dosis auf 4 g/kg/d und die eingenommene Dosis war zumindest in der ersten Woche des Retests deutlich über der Dosis der Alkohol- und Wasser-Kontroll-Gruppen. Danach sank die Dosis wie bei allen anderen Gruppen wieder etwas ab, blieb aber bei über 3 g/kg/d. Es könnte sein, dass das Absetzen des Memantin und den eventuell dadurch entstandenen zweiten Entzug einer möglicherweise psychotropen Substanz, ein weiterer Risikofaktor im Sinne einer unbefriedigten Substanzwirkung (Turayabahika-Tuyen und Wolffgramm, 2006) war und so zu einem kurzfristigen erhöhten Alkoholverlangen bei diesen Tieren geführt hat. Diese, bei allen Entzugsgruppen aufgetretene, kurzfristige Dosis-Steigerung nach der langen Abstinenz entspricht einem ADE (Alkohodeprivationseffekt). Auch die zusätzliche Gabe von Memantin bis zum Wiederangebot des Alkohols, sowohl freiwillig als auch forciert, verringerte nicht die eingenommene Alkoholdosis. Das bedeutet, weder die forcierte noch die freiwillige Memantingabe, hatte einen Einfluss auf den ADE und somit auf ein gesteigertes Alkoholverlangen nach einer Abstinenz (craving und relapse). Die hohe Alkoholpräferenz aller Tiere zeigt zusätzlich, wie bereits im ersten Retest, ein auch über die Abstinenz hinaus bestehendes, also persistierendes Alkoholgedächtnis.

Nach der Vergällung des Alkohols reduzierten alle Gruppen außer der **SF**-Gruppe ihre Ethanoldosis drastisch auf Werte unter 1 g/kg/d. Die eingenommene Dosis von ca. 1 g/kg/d bei der Gruppe **SF** lag fast doppelt so hoch wie die der Alkohol- oder Wasser-Kontroll-Gruppen. Dieser Unterschied war aber nicht signifikant. Ein möglicher Grund für die fehlende Signifikanz

könnte die kleine Fallzahl in diesem Teil des Versuches gewesen sein. Viele Tiere waren inzwischen altersbedingt verstorben. Bei keinen Gruppen ergaben sich belastbare Hinweise auf einen Effekt auf Flexibilitäts- oder Kontrollverlust. Die Tiere haben zwar alle ein Alkoholgedächtnis entwickelt (hohe Präferenz für Alkohol, gesteigerte Dosis nach Entzug und langandauernder Abstinenz) und im Entzug schwache Zeichen einer körperlichen Abhängigkeit geboten (indirekte vertikale Hyperlokomotion) konnten aber die eingenommene Dosis an den externen Faktor (Vergällung des Alkohols mit Chinin) anpassen und reduzieren, wenn auch gewisse Flexibilitätseinbußen feststellbar waren (erhöhte Inkaufnahme negativer Begleiterscheinungen). Alle Gruppen behielten also ihre Flexibilität und Kontrolle über das Einnahmeverhalten von Alkohol in Bezug auf externe Faktoren.

Allerdings muss hier auch auf die Vorerfahrung der Tiere hingewiesen werden, die wahrscheinlich eine Rolle für dieses Ergebnis spielte. Die eingeschränkte Wahlmöglichkeit im ersten Versuch hat eventuell bereits eine Suchtentstehung im Sinne eines Kontroll- und Flexibilitätsverlustes verhindert (Wolffgramm und Heyne, 1995, 1998; Heyne, 2000). Darüber hinaus könnte die Dauer von 19 Wochen freier Alkoholwahl zu kurz gewesen sein, um die Tiere in eine kritische Phase zu bringen (Turyabahika-Thyen und Wolffgramm, 2006; Turyabahika-Thyen et al., in Revision). Zusätzlich hat das höhere Alter der Tiere eine limitierende Rolle gespielt. Es gibt in der Literatur Hinweise, dass adulte Ratten nicht so sensitiv gegenüber den Belohnungseffekten des Alkohols sind aber gegenüber den aversiven und negativen Eigenschaften und so eventuell vor einer Suchtentstehung geschützt sind (Spear et Varlinskaya, 2005, 2010; Schramm-Sapyta et al., 2009).

Zusammenfassend lassen sich anhand der in dieser Studie erhobenen Ergebnisse keine eindeutigen Hinweise auf eine Verhinderung oder Verringerung von Alkoholentzugssymptomen durch Memantin machen, da nur indirekt ein schwaches Entzugssymptom festzustellen war, welches nicht von Memantin beeinflusst wurde. Darüber hinaus scheint aber Memantin selbst und

insbesondere in Kombination mit Alkohol einen Einfluss auf das circadiane Einnahmeverhalten und die lokomotorische Aktivität zu haben, da es - forciert verabreicht - in der Abstinenz zu einer deutlichen Trinkmengenreduktion geführt hat und die Tiere sich kürzer und seltener aufgerichtet hatten. Zudem ergab sich durch die erhöhte Memantin-Einnahme beim Haltungswechsel ein Hinweis auf einen möglichen psychoaktiven Effekt des Memantin.

In Bezug auf die Alkoholeinnahme waren schon vor dem Entzug bei einer gleichzeitigen forcierten Memantingabe deutlich erhöhte Ethanoldosen festzustellen. Des Weiteren führte das Absetzen der forcierten Memantingabe in der Abstinenz, bei einer erneuten Alkoholexposition zu einer gesteigerten Alkoholeinnahme.

Klare Aussagen über einen Effekt des Memantin auf den Risikofaktor einer unbefriedigten Alkoholerwartung können nicht gemacht werden, da sich im Retest keine klaren Hinweise eines Flexibilitätsverlustes darstellen lassen. Insgesamt scheint, insbesondere die forcierte Gabe von Memantin, kontraproduktiv zu sein und in Kombination mit Alkohol zu einer erhöhten Einnahme von Alkohol zu führen. Demnach eignete sich Memantin in dieser Versuchsanordnung und bei diesen bereits alkoholvorerfahrenen, alten Ratten nicht zur Alkohol-Substitution, um damit in einem Entzug auftretende Entzugssymptome zu verringern und ein durch die unbefriedigte Alkoholerwartung vergrößertes Risiko einer Suchtentstehung zu verhindern.

## 5. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss des nicht-kompetitiven NMDA-Rezeptor-Antagonisten Memantin auf das Alkohol-Einnahmeverhalten und besonders auf eine mögliche Suchtentwicklung adulter alkoholerfahrener Ratten zu untersuchen. Zusätzlich sollte geprüft werden, ob Memantin mögliche Entzugserscheinungen mindert oder unterdrückt. Des Weiteren wurde untersucht, inwieweit Memantin einen Einfluss auf die circadianen Aktivitätsmuster, insbesondere das Trinkverhalten, der Ratten während und nach Absetzen einer freiwilligen Alkoholeinnahme hat. Ausgehend davon, dass Memantin ein Substituent für Alkohol ist, da es zu einer Generalisierung von nicht-kompetitiven NMDA-Rezeptor-Antagonisten im "drug-discrimination-test" mit Alkohol kam (Hundt et al., 1998) und ein Alkoholentzug während einer „kritischen“ Phase einen Flexibilitäts- / Kontrollverlust begünstigt und damit die Suchtentwicklung fördert (Turyabahika-Thyen und Wolffgramm, 2006; Turyabahika-Thyen et al., in Revision), kann die Schlussfolgerung (Arbeitshypothese) gezogen werden, dass durch Memantin, wenn es entzugsbegleitend als Substitut eingesetzt wird, die suchtfördernde Wirkung des Entzugs aufgehoben werden könnte. Diese Hypothese wurde im Rattenmodell der freiwilligen Alkoholeinnahme überprüft.

Die Studie wurde mit Tieren durchgeführt, die bereits an einen Alkohollangzeitwahlversuch zur Klärung der „Rolle einer freien Wahlmöglichkeit für die Alkoholsuchtentwicklung“ teilgenommen hatten (Turyabahika-Thyen et al., in Revision). Für den hier beschriebenen Versuch erhielten alle Tiere über 18 Wochen *ad libitum* Zugriff zu drei verschiedenen Alkohollösungen und Wasser. Danach wurde den Tieren der Alkohol entzogen. Im zeitlichen Umfeld des Entzuges (beginnend 14 Tage vor Absetzen des Alkohols) erhielten sie Memantin unterschiedlich lange, entweder forciert als einzige nicht alkoholische Trinklösung oder zusätzlich zum Wasser. Zur Untersuchung der circadianen Aktivitätsmuster und des Trinkverhaltens wurde ein Teil der Tiere vor dem Entzug, im akuten Entzug und nach dem Entzug in einem circadianen Verhaltensregistriersystem auf der Basis von Lichtschrankenrastern getestet.

Nach einer 10 Wochen dauernden Abstinenz erfolgte ein Retest, der Aussagen über einen möglichen Flexibilitätsverlust und somit einer entstanden Sucht erlauben sollte.

Die Ergebnisse zeigen, dass sich unter einer forcierten Memantingabe die eingenommene Ethandosis vor dem Entzug deutlich erhöhte. Des Weiteren scheint das Absetzen der forcierten Memantingabe in der Abstinenz, bei einer erneuten Alkoholexposition, zu einer gesteigerten Alkoholeinnahme geführt zu haben. Memantin hatte keinen nachweisbaren Einfluss auf die (schwache) Entzugssymptomatik der Ratten. Dafür hatte Memantin aber Auswirkungen auf die Einnahme von Wasser, da es - forciert verabreicht - während der Abstinenzphase zu einer deutlichen Reduktion des Trinkvolumens führte. Außerdem zeigten die Tiere der Versuchsgruppe mit forciertem Memantin während der Abstinenz seltenere und kürzere Aufrichthandlungen. Beides könnte zumindest teilweise auf einen aversiven Geschmack der Memantinelösung zurückgehen. In der Versuchsgruppe mit freiwilliger Memantineinnahme ergab sich ein Hinweis auf psychoaktive Effekte des Memantin, die von den Tieren in Zeiten des sozialen Stresses genutzt werden. Bei einem Haltungswechsel während der Abstinenzphase erhöhte sich die freiwillige Memantineinnahme dramatisch. Der Effekt war aber transient, d.h. 7 Tage nach dem Haltungswechsel sank die Memantineinnahme wieder auf einen niedrigeren Wert.

Im Retest nach der Abstinenz bei freier Wahl zwischen Wasser und normal (1. Abschnitt) oder bitter (2. Abschnitt) schmeckenden Alkohollösungen zeigten die meisten Tiere zunächst einen exzessiven Alkoholkonsum (bis  $4,1 \pm 0,4$  g/kg/d). Unter Bedingungen einer Bitterstoff-Vergällung der Alkohollösungen zeigte jedoch nur ein kleinerer Teil der Ratten, insbesondere Tiere der beiden Gruppen der forcierten Memantingabe, Anzeichen für einen Flexibilitätsverlust (42 % der Tiere konsumierte mehr als 0.7 g/kg/d). Daher sind Aussagen über Auswirkungen von Memantin auf eine mögliche Suchtentwicklung nur bedingt möglich. Es kann aber definitiv ausgeschlossen werden, dass – der

Arbeitshypothese entsprechend – Memantin die Alkoholeinnahme im Retest reduzierte oder einen Flexibilitätsverlust verhinderte. Im Gegenteil scheint insbesondere eine forcierte Gabe von Memantin und dessen Absetzen während der Abstinenz kontraproduktiv zu sein. In dem hier vorgestellten Experiment erhöhte es die Alkoholeinnahme der Ratten im Retest. Auch der Einfluss auf einen Flexibilitätsverlust verlief tendenziell in die Gegenrichtung zum erhofften Effekt. Demnach eignete sich Memantin in dieser Versuchsanordnung nicht zur Alkohol-Substitution, um damit in einem Entzug auftretende Entzugssymptome zu verringern und ein, durch die unbefriedigte Alkoholerwartung, vergrößertes Risiko einer Suchtentstehung zu verhindern.

## 6. Literaturverzeichnis

**Allan A.M., Harris R. A.**, 1987 Acute and chronic ethanol treatments alter GABA receptor-operated chloride channels. *Pharmacol Biochem Behav.* 27 (4): 665-70.

**Amato L., Davoli M., Perucci C. A., Ferri M., Faggiano F., Mattick R. P.**, 2005 An overview of systematic reviews of the effectiveness of opiate maintenance therapies: available evidence to inform clinical practice and research. *J Subst Abuse Treat.* 28 (4): 321-9.

**Anthony, J. C., Warner, L. A. und Kessler, R. C.**, 1994 Comparative epidemiology of dependence on tobacco, alcohol, controlled substances, and inhalants. *Exp. Clin. Psychopharmacol.* 2: 244–268.

**Anton R. F., Becker H. C.**, 1995 Pharmacotherapy and pathophysiology of alcohol withdrawal. In: Kranzler, H.R., ed. *The Pharmacology of Alcohol Abuse: Handbook of Experimental Pharmacology.* Vol. 114. Berlin: Springer-Verlag,. pp. 315–367.

**Aragon C. M., Trudeau L. E., Amit Z.**, 1992 Effect of taurine on ethanol-induced changes in open-field locomotor activity. *Psychopharmacology (Berl).* 107 (2-3): 337-40.

**Aragon C. M., Amit Z.**, 1993 Taurine and ethanol-induced conditioned taste aversion. *Pharmacol Biochem Behav.* 44 (2): 263-6.

**Bae M. K., Jeong D. K., Park N. S., Lee C. H., Cho B. H., Jang H. O., Yun I.**, 2005 The effect of ethanol on the physical properties of neuronal membranes. *Mol Cells.* 19 (3): 356-64.

**Baird T. J., Briscoe R. J., Vallett M., et al.**, 1998 Phase-response curve for ethanol: Alterations in circadian rhythms of temperature and activity in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* 61: 303- 315.

**Barnes C. A., Danysz W., Parsons C. G.**, 1996 Effects of the uncompetitive NMDA receptor antagonist memantine on hippocampal long-term potentiation, short-term exploratory modulation and spatial memory in awake, freely moving rats. *Eur J Neurosci.* 8 (3): 565-71.

**Becker H. C.**, 2000 Animal models of alcohol withdrawal. *Alcohol Res Health.* 24 (2): 105-13.

**Biała G., Kotlińska J.**, 1999 Blockade of the acquisition of ethanol-induced conditioned place preference by N-methyl-D-aspartate receptor antagonists. *Alcohol Alcohol.* 34 (2): 175-82.

**Bice P. J., Kiefer S. W.**, 1990 Taste reactivity in alcohol preferring and nonpreferring rats. *Alcohol Clin Exp Res.* 14 (5): 721-7.

**Bienkowski P., Koros E., Kostowski W., Danysz W.**, 1999 Effects of N-methyl-D-aspartate receptor antagonists on reinforced and nonreinforced responding for ethanol in rats. *Alcohol.* 18 (2-3): 131-7.

**Bisaga A., Evans S. M.**, 2004 Acute effects of memantine in combination with alcohol in moderate drinkers. *Psychopharmacology (Berl).* 172 (1): 16-24.

**Blanchard R. J., Hori K., Tom P., Blanchard D. C.**, 1987 Social structure and ethanol consumption in the laboratory rat. *Pharmacol Biochem Behav.* 28 (4): 437-42.

**Bolles R. C.**, 1980 Some functionalistic thought about regulation. In F.M. Toates & T.R. Halliday (Eds.), *Analysis of motivational processes*. London: Academic Press.: 63-75

**Böning J.**, 1992 Zur Neurobiologie und Phänomenologie eines „Suchtgedächtnisses“. *Sucht* 38: 105 – 106

**Böning J.**, 2001 Neurobiology of an addiction memory. *J Neural Trans.* 108: 755 – 756

**Böning J.**, 2009 Addiction memory as a specific, individually learned memory imprint. *Pharmacopsychiatry.* 42 Suppl 1: 66 - 8

**Bonson K. R., Grant S. J., Contoreggi C. S., Links J. M., Metcalfe J., Weyl H. L. et al.**, 2002 Neural systems and cue-induced cocaine craving. *Neuropsychopharmacolog.*; 26: 376–86.

**Bottlender M., Spanagel R., Soyka M.**, 2007 One drink, one drunk--controlled drinking by alcoholics? 3-year-outcome after intensive outpatient treatment. *Psychother Psychosom Med Psychol.* 57 (1): 32-8.

**Boyle A. E., Smith B. R., Amit Z.**, 1997 A descriptive analysis of the structure and temporal pattern of voluntary ethanol intake within an acquisition paradigm. *J Stud Alcohol.* 58 (4): 382-91.

**Breiter H. C., Aharon I., Kahneman D., Dale A., Shizgal P.**, 2001 Functional imaging of neural responses to expectancy and experience of monetary gains and losses. *Neuron.* 30: 619–39.

**Brueck R., Mann K.**, 2006 Alkoholismusspezifische Psychotherapie – Manual mit Behandlungsmodulen. Hrsg. Deutscher Ärzteverlag GmbH Köln

**Bubser M., Keseberg U., Notz P. K., Schmidt W. J.,** 1992 Differential behavioural and neurochemical effects of competitive and non-competitive NMDA receptor antagonists in rats. *Eur J Pharmacol.* 229 (1): 75-82.

**Burish T. G., Maisto S. A., Cooper A. M., Sobell M. B.,** 1981 Effects of voluntary short-term abstinence from alcohol on subsequent drinking patterns of college students. *J Stud Alcohol.* 42 (11): 1013-20.

**Carboni S., Isola R., Gessa G. L., Rossetti Z. L.,** 1993 Ethanol prevents the glutamate release induced by N-methyl-D-aspartate in the rat striatum. *Neurosci Lett.* 152 (1-2): 133-6.

**Cardinal R. N., Parkinson J. A. , Hall J., Everitt B.J.,** 2002 Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci Biobehav Rev.* 26 (3): 321-52.

**Chin J. H. and Goldstein, D. B.,** 1981 Membrane-disordering action of ethanol: variation with membrane cholesterol content and depth of the spin label probe. *Mol. Pharmacol.* 19: 425-431.

**Chiamulera, C., Valerio, E., Tessari M.,** 1995 Resumption of ethanol-seeking behavior in rats. *Behavioral Pharmacology.* 6: 32-39

**Childress A. R., Mozley P. D., McElgin W., Fitzgerald J., Reivich M., O'Brien C. P.,** 1999 Limbic activation during cue-induced cocaine craving. *Am J Psychiatry.* 156: 11-8.

**Coan E. J., Saywood W., Collingridge G. L.,** 1987 MK-801 blocks NMDA receptor-mediated synaptic transmission and long term potentiation in rat hippocampal slices. *Neurosci Lett.* 80 (1): 111-4.

**COMBINE Study Research Group. Anton R. F., O'Malley S. S., Ciraulo D. A., Cisler R. A., Couper D., Donovan D. M., Gastfriend D. R., Hosking J. D., Johnson B. A., LoCastro J. S., Longabaugh R., Mason B. J., Mattson M. E., Miller W. R., Pettinati H. M., Randall C. L., Swift R., Weiss R. D., Williams L. D., Zweben A.,** 2006 Combined pharmacotherapies and behavioral interventions for alcohol dependence: the COMBINE study: a randomized controlled trial. *JAMA.* 295 (17): 2003-17.

**Conigliaro D.A.,** 1996 Opioids for chronic non-malignant pain. *J Fla Med Assoc.* 83 (10): 708-11. Review.

**Coper H., Rommelspacher H., Wolffgramm J.,** 1990 The 'point of no return' as a target of experimental research on drug dependence. *Drug Alcohol Depend.* 25 (2): 129-34.

**Dahchour A., Quertemont E., De Witte P.**, 1994 Acute ethanol increases taurine but neither glutamate nor GABA in the nucleus accumbens of male rats: a microdialysis study. *Alcohol Alcohol.* 29 (5): 485-7.

**Dahchour A., Quertemont E., De Witte P.**, 1996 Taurine increases in the nucleus accumbens microdialysate after acute ethanol administration to naive and chronically alcoholised rats. *Brain Res.* 735 (1): 9-19.

**Dahchour A., De Witte P., Bolo N., Nédélec J. F., Muzet M., Durbin P., Macher J. P.**, 1998 Central effects of acamprosate: part 1. Acamprosate blocks the glutamate increase in the nucleus accumbens microdialysate in ethanol withdrawn rats. *Psychiatry Res.* 82 (2): 107-14.

**Dahchour A., De Witte P.**, 1999 Effect of repeated ethanol withdrawal on glutamate microdialysate in the hippocampus. *Alcohol Clin Exp Res.* 23 (10): 1698-703.

**Dahchour A., De Witte P.**, 2000 Ethanol and amino acids in the central nervous system: assessment of the pharmacological actions of acamprosate. *Prog Neurobiol.* 60 (4): 343-62. Review.

**Dahchour A., De Witte P.**, 2003 Excitatory and inhibitory amino acid changes during repeated episodes of ethanol withdrawal: an in vivo microdialysis study. *Eur J Pharmacol.* 459 (2-3): 171-8.

**Davison A. N., Kaczmarek L. K.**, 1971 Taurine--a possible neurotransmitter? *Nature.* 234 (5324): 107-8.

**Deatherage G.**, 1972 Effects of housing density on alcohol intake in the rat. *Physiol Behav.* 9 (1): 55-7.

**Dellu F., Piazza P. V., Mayo W., Le Moal M., Simon H.** 1996 Novelty-seeking in rats--biobehavioral characteristics and possible relationship with the sensation-seeking trait in man. *Neuropsychobiology.* 34 (3): 136-45.

**Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen e. V. (Hg.)**, 2004-07 Jahrbuch Sucht. Geesthacht Neuland Verlag

**Devaud L. L., Smith F. D., Grayson D. R., Morrow A. L.**, 1995 Chronic ethanol consumption differentially alters the expression of gamma-aminobutyric acidA receptor subunit mRNAs in rat cerebral cortex: competitive, quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis. *Mol Pharmacol.* 48 (5): 861-8.

**de Wit H. & Richards J. B.**, 2004 Dual determinants of drug use in humans: reward and impulsivity. In *Motivational factors in the etiology of drug abuse.* Lincoln, Nebraska: University of Nebraska Press. vol. 50 (eds R. A. Bevins & M. T. Bardo): 19-56

**Di Chiara, G.**, 1995 The role of dopamine in drug abuse viewed from the perspective of its role in motivation. *Drug and Alcohol Dependence*. 38: 95-137.

**Di Chiara G. et al.**, 2004 Dopamine and drug addiction: the nucleus accumbens shell connection. *Neuropharmacology*. 47: 227–241.

**Di Ciano P. & Everitt B. J.**, 2004 Direct interactions between the basolateral amygdala and nucleus accumbens core underlie cocaine-seeking behavior by rats. *J. Neurosci*. 24: 7167–7173.

**DSM-IV**, 1994 Diagnostic and statistical manual of mental disorders. Washington, DC: American Psychiatric Association.

**Ellison G.**, 1987 Stress and alcohol intake: the socio-pharmacological approach. *Physiol Behav*. 40 (3): 387-92.

**Escher T., Call S. B., Blaha C. D., Mittleman G.**, 2006 Behavioral effects of aminoadamantane class NMDA receptor antagonists on schedule-induced alcohol and self-administration of water in mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 187 (4): 424-34.

**Evans S. M., Levin F. R., Brooks D. J., Garawi F.**, 2007 A pilot double-blind treatment trial of memantine for alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res*. 31 (5): 775-82.

**Everitt B. J. & Robbins T. W.**, 2000 Second-order schedules of drug reinforcement in rats and monkeys: measurement of reinforcing efficacy and drug-seeking behaviour. *Psychopharmacology*. 153: 17–30.

**Everitt B. J. , Dickinson A. , Robbins T. W.**, 2001 The neuropsychological basis of addictive behaviour. *Brain Res Brain Res Rev*. 36 (2-3): 129-38.

**Everitt B. J., Wolf M. E.**, 2002 Psychomotor stimulant addiction: a neural systems perspective. *J Neurosci*. 22: 3312–3320.

**Everitt B. J. & Robbins T. W.**, 2005 Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion. *Nat. Neurosci*. 8: 1481–1489.

**Everitt B. J., Hutcheson D. M., Ersche K. D., Pelloux Y., Dalley J.W. & Robbins T. W.**, 2007 The orbital prefrontal cortex and drug addiction in laboratory animals and humans. *Ann. NY Acad. Sci*. 1121: 576–597.

**Everitt B. J., Belin D., Economidou D., Pelloux Y., Dalley J. W. and Robbins T. W.**, 2008 Neural mechanisms underlying the vulnerability to develop compulsive drug-seeking habits and addiction *Phil. Trans. R. Soc. B*. 363: 3125-3135

**Fekkes D., Bernard B. F., Cappendijk S. L.**, 2004 Norharman and alcohol dependency in male Wistar rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 14 (5): 361-6.

**File S. E.; Zharkovsky A., Hitchcoot P. K.**, 1992 Effects of nitrendipine, chlordiazepoxide, flumazenil and baclofen on the increased anxiety resulting from alcohol withdrawal. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry.* 16: 87–93.

**Finn D. A., et Crabbe J. C.**, 1997 Exploring alcohol withdrawal syndrome. *Alcohol Health & Research World.* 21: 149–156.

**Galli G., Wolffgramm J.**, 2004 Long-term voluntary D-amphetamine consumption and behavioral predictors for subsequent D-amphetamine addiction in rats. *Drug Alcohol Depend.* 73 (1): 51-60.

**Garbutt J. C., West S. L., Carey T. S., Lohr K. N., Crews F.T.**, 1999 Pharmacological treatment of alcohol dependence: a review of the evidence. *JAMA.* 281 (14): 1318-25.

**Gass J. T., Olive M. F.**, 2008 Glutamatergic substrates of drug addiction and alcoholism. *Biochem Pharmacol.* 75 (1): 218-65.

**Goldstein D. B.**, 1986 Effect of alcohol on cellular membranes. *Ann Emerg Med.* 15 (9): 1013-8

**Golovko I., Golovko S. I., Leontieva L. V., Zefirov Yu. S.**, 2002 The influence of ethanol on the functional status of GABAA receptors. *Biochemistry.* 67: 719–729.

**Gossop M., Marsden J., Stewart D., Kidd T.**, 2003 The National Treatment Outcome Research Study (NTORS): 4-5 year follow-up results. *Addiction.* 98 (3): 291-303.

**Gunzerath L., Faden V., Zakhari S., Warren K.**, 2004 National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism report on moderate drinking. *Alcohol Clin Exp Res.* 28 (6): 829-47.

**Haasen C., Verthein U., Degkwitz P., Berger J., Krausz M., Naber D.**, 2007 Heroin-assisted treatment for opioid dependence: Randomised controlled trial. *Br. J. Psychiatry.* 191: 55-62.

**Hanke, M., John, U.**, 2003 Tabak- oder alkohol-attributable stationäre Behandlungen. In: *Deutsche Medizinische Wochenschrift.* 128: 1387-1390

**Hasin D., Hatzenbuehler M. L., Keyes K., Ogburn E.**, 2006 Substance use disorders: diagnostic and statistical manual of mental disorders, fourth edition (DSM-IV) and International Classification of Diseases, tenth edition (ICD-10). *Addiction* 101(Suppl. 1): 59–75.

**Heyne A., Wolffgramm J.,** 1998 The development of addiction to d-amphetamine in an animal model: same principles as for alcohol and opiate. *Psychopharmacology (Berl)*. 140 (4): 510-8.

**Heyne A., May T., Goll P., Wolffgramm J.,** 2000 Persisting consequences of drug intake: towards a memory of addiction. *J Neural Transm*. 107 (6): 613-38. Review.

**Hölter S. M., Danysz W., Spanagel R.,** 1996 Evidence for alcohol anti-craving properties of memantine. *Eur. J. Pharmacol*. 314: R1–R2.

**Hölter S. M., Linthorst A. C., Reul J. M., Spanagel R.,** 2000, Withdrawal symptoms in a long-term model of voluntary alcohol drinking in Wistar rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 66 (1): 143-51.

**Hölter S. M., Danysz W., Spanagel R.,** 2000. Novel uncompetitive N-methyl-D-aspartate (NMDA)-receptor antagonist MRZ 2/579 suppresses ethanol intake in long-term ethanol-experienced rats and generalizes to ethanol cue in drug discrimination procedure. *J Pharmacol Exp Ther*. 292: 545–552.

**Hundt W., Danysz W., Hölter S. M., Spanagel R.,** 1998 Ethanol and N-methyl-D-aspartate receptor complex interactions: a detailed drug discrimination study in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*. 135 (1): 44-51.

**Hunt W. A.,** 1996 Role of acetaldehyde in the actions of ethanol on the brain--a review. *Alcohol*. (2): 147-51.

**ICD-10,** 1991 International Classification of Diseases 10, World Health Organisation

**Ikeda H.,** 1977 Effects of taurine on alcohol withdrawal. *Lancet*. 3;2(8036): 509.

**Jahrbuch Sucht,** 2000 bis 2009; Hrsg. Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen (DHS) e. V.

**Jahresbericht der Drogenbeauftragten der Bundesregierung** 2004, 2005, 2006; Hrsg. Bundesregierung Bundesministerium für Gesundheit

**Kalluri H. S., Mehta A. K., Ticku M. K.,** 1998 Up-regulation of NMDA receptor subunits in rat brain following chronic ethanol treatment. *Brain Res Mol Brain Res*. 58 (1-2): 221-4.

**Katner S. N., Magalong J. G., Weiss F.,** 1999 Reinstatement of alcohol-seeking behavior by drug-associated discriminative stimuli after prolonged extinction in the rat. *Neuropsychopharmacology*. 20 (5): 471-9.

**Kiefer S. W.,** 1995 Alcohol, palatability, and taste reactivity. *Neurosci Biobehav Rev*. Spring 19 (1): 133-41. Review.

**Kiefer S. W., Badia-Elder N., Bice P. J.,** 1995 Taste reactivity in high alcohol drinking and low alcohol drinking rats. *Alcohol Clin Exp Res.* 19 (2): 279-84.

**Kontro P., Oja S. S.,** 1987 Taurine and GABA release from mouse cerebral cortex slices: effects of structural analogues and drugs. *Neurochem Res.* 12 (5): 475-82.

**Koob G. F., et Britton K. T.,** 1996 Neurobiological substrates for the anti-anxiety effects of ethanol. In: Begleiter, H., and Kissin, B., eds. *The Pharmacology of Alcohol and Alcohol Dependence.* New York: Oxford University Press: 477–506.

**Koob G. F., Le Moal M.,** 1997 Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation. *Science.* 278 : 52–8.

**Koob G. F., Sanna P. P., Bloom F. E.,** 1998 Neuroscience of addiction. *Neuron.* 21: 467–76.

**Koob G. F. & Le Moal M.,** 2001 Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology.* 24: 97–129.

**Koob G. F. & Le Moal M.,** 2005 a Neurobiology of addiction. San Diego, CA: Academic Press.

**Koob G. F. & Le Moal M.,** 2005 b Plasticity of reward neurocircuitry and the 'dark side' of drug addiction. *Nat Neurosci.* 8: 1442–4.

**Koob, G. F.** 2006 The neurobiology of addiction: a neuroadaptational view relevant for diagnosis. *Addiction.* 101(suppl 1): 23–30.

**Koob, G. F. & Le Moal, M.,** 2008 Neurobiological mechanisms for opponent motivational processes in addiction. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 363: 3113–3123.

**Koob G. F.,** 2009 Dynamics of neuronal circuits in addiction: reward, antireward, and emotional memory. *Pharmacopsychiatry.* 42 Suppl 1: 32-41. Review.

**Koob G. F.,** 2010 The role of CRF and CRF-related peptides in the dark side of addiction. *Brain Res.* 1314: 3-14.

**Koros E., Kostowski W., Danysz W., Bienkowski P.,** 1999 Ethanol discrimination in the rat: lack of modulation by restraint stress and memantine. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 359 (2): 117-22.

**Koros E., Rosenbrock H., Birk G., Weiss C., Sams-Dodd F.,** 2007 The selective mGlu5 receptor antagonist MTEP, similar to NMDA receptor antagonists, induces social isolation in rats. *Neuropsychopharmacology.* 32 (3): 562-76.

**Kotlińska J.**, 2001 NMDA antagonists inhibit the development of ethanol dependence in rats. *Pol J Pharmacol.* 53 (1): 47-50.

**Kranzler H. R.**, 2000 Pharmacotherapy of alcoholism: gaps in knowledge and opportunities for research. *Alcohol Alcohol.* 35 (6): 537-47.

**Krupitsky, E. M., Neznanova, O. N., Masalov, D. V., Burakov, A. M., Didenko, T. Y., Romanova, T. N., Tsoy, M. V., Beshpalov, A. Y., Slavina, T. Y., Grinenko, A. Y., Zvartau, E. E., Krystal, J. H.**, 2005 The NMDA receptor antagonist, memantine, reduces alcohol cue-induced craving even though it has mild ethanol-like effects in alcohol dependent patients. *Alcoholism.* 29: 161A.

**Krupitsky E. M., Neznanova O., Masalov D., Burakov A. M., Didenko T., Romanova T., Tsoy M., Beshpalov A., Slavina T. Y., Grinenko A. A., Petrakis I. L., Pittman B., Gueorguieva R., Zvartau E. E., Krystal J. H.**, 2007 Effect of memantine on cue-induced alcohol craving in recovering alcohol-dependent patients. *Am J Psychiatry.* 164 (3): 519-23.

**Kubota T., De A., Brown R. A., Simasko S. M., Krueger J. M.**, 2002 Diurnal effects of acute and chronic administration of ethanol on sleep in rats. *Alcohol Clin Exp Res.* 26 (8): 1153-61.

**Lau C. G., Zukin R. S.**, 2007 NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci.* 8 (6): 413-26. Review.

**Lhuintre J. P., Moore N., Tran G., Steru L., Langrenon S., Daoust M., Parot P., Ladure P., Libert C., Boismare F., et al.**, 1990 Acamprosate appears to decrease alcohol intake in weaned alcoholics. *Alcohol Alcohol.* 25 (6): 613-22.

**Loeber S., Kiefer F., Wagner F., Mann K., Croissant B.**, 2009 Treatment outcome after inpatient alcohol withdrawal: impact of motivational interventions: a comparative study. *Nervenarzt.* 80 (9): 1085-92.

**Lombardini J. B.**, 1976 Enzymatic formation of a cholic acid derivative of isethionic acid. *Biochem Pharmacol.* 25 (6): 717-21.

**Lorenc-Koci E., Gołembiowska K., Pietraszek M., Wardas J.**, 2009 Treatment with 1,2,3,4,-tetrahydroisoquinoline affects glutamate release in the striatum but not the binding of [3H]MK-801 to NMDA receptors in the dopaminergic structures of the rat brain. *Pharmacol Rep.* 61(5): 798-806.

**Lovinger D. M., White G., Weight F. F.**, 1990 NMDA receptor-mediated synaptic excitation selectively inhibited by ethanol in hippocampal slice from adult rat. *J Neurosci.* 10 (4): 1372-9.

**Lukoyanov N. V., Paula-Barbosa M. M.**, 2001 Memantine, but not dizocilpine, ameliorates cognitive deficits in adult rats withdrawn from chronic ingestion of alcohol. *Neurosci Lett.* 309 (1): 45-8.

**Mascia M. P., Maiya R., Borghese C. M., Lobo I. A., Hara K., Yamakura T., Gong D. H., Beckstead M. J.,** 2001 Does acetaldehyde mediate ethanol action in the central nervous system? *Alcohol Clin Exp Res.* 25 (11): 1570-5.

**Mattucci-Schiavone L., Ferko A. P.,** 1985 Acute effects of taurine and a taurine antagonist on ethanol-induced central nervous system depression. *Eur J Pharmacol.* 113 (2): 275-8.

**May T., Julifs F., Wolffgramm J.,** 1998 Long-lasting effects of chronic mu-opioid intake on the signal transmission via dopamine D1 receptors in the limbic forebrain of drug deprived rats. *Neuropharmacology.* 37 (8): 997-1006.

**McBroom M. J., Elkhawad A. O., Dlouha H.,** 1986 Taurine and ethanol-induced sleeping time in mice: route and time course effects. *Gen Pharmacol.* 17 (1): 97-100.

**Meyer, C. et John, U., 2003** Alkohol - Zahlen und Fakten zum Konsum. In: DHS (Hg.). *Jahrbuch Sucht 2003.* Geesthacht: Neuland Verlag, 2002

**Mishkin M., Malamut, Bachevalier B. J.,** 1984 Memories and habits: two neural systems, in: J.L. McGaugh, N.M. Weinberger (Eds.), *Neurobiology of Human Learning and Memory,* The Guildford Press, New York, 65–87.

**Morè L., Gravius A., Nagel J., Valastro B., Greco S., Danysz W.,** 2008 Therapeutically relevant plasma concentrations of memantine produce significant L-N-methyl-D-aspartate receptor occupation and do not impair learning in rats. *Behav Pharmacol.* 19 (7): 724-34.

**Moyer A., Finney J. W.,** 2002 Outcomes for untreated individuals involved in randomized trials of alcohol treatment. *J Subst Abuse Treat.* 23 (3): 247-52

**Nestler, E. J.,** 2004 Historical review: molecular and cellular mechanisms of opiate and cocaine addiction. *Trends Pharmacol Sci.* 25: 210–8.

**Nestler, E. J.,** 2005 Is there a common molecular pathway for addiction? *Nat Neurosci.* 8: 1445–1449.

**Nevo I., Hamon M.,** 1995 Neurotransmitter and neuromodulatory mechanisms involved in alcohol abuse and alcoholism. *Neurochem Int.* 26 (4): 305-36; discussion 337-42. Review.

**Neuro-Psychopharmaka ein Therapiehandbuch, zweite neubearbeitete Auflage, Band 6,** 2006 Kapitel Suchttherapeutika. Hrsg. Gerd Laux und Peter Riedere; Springer Verlag

**Oja S. S., Kontro P.,** 1990 Neuromodulatory and trophic actions of taurine. *Prog Clin Biol Res.* 351: 69-76. Review.

**Onogi H., Ishigaki S., Nakagawasai O., Arai-Kato Y., Arai Y., Watanabe H., Miyamoto A., Tan-no K., Tadano T.**, 2009 Influence of memantine on brain monoaminergic neurotransmission parameters in mice: neurochemical and behavioral study. *Biol Pharm Bull.* 32 (5): 850-5.

**Paille F. M., Guelfi J. D., Perkins A. C., Royer R. J., Steru L., Parot P.**, 1995 Double-blind randomized multicentre trial of acamprosate in maintaining abstinence from alcohol. *Alcohol Alcohol.* 30 (2): 239-47.

**Pandey S. C.**, 2004 The gene transcription factor cyclic AMP responsive element binding protein: role in positive and negative affective states of alcohol addiction. *Pharmacol Ther.* 104: 47–58.

**Pelc I., Ansoms C., Lehert P., Fischer F., Fuchs W. J., Landron F., Pires Preto A. J., Morgan M. Y.**, 2002 The European NEAT program: an integrated approach using acamprosate and psychosocial support for the prevention of relapse in alcohol-dependent patients with a statistical modeling of therapy success prediction. *Alcohol Clin Exp Res.* 26 (10): 1529-38.

**Piasecki J., Koros E., Dyr W., Kostowski W., Danysz W., Bienkowski P.**, 1998 Ethanol-reinforced behaviour in the rat: effects of uncompetitive NMDA receptor antagonist, memantine. *Eur J Pharmacol.* 354 (2-3): 135-43.

**Piazza PV, Le Moal M.**, 1998 The role of stress in drug self-administration. *Trends Pharmacol Sci.* 19 (2) :67-74.

**Projekt MATCH research group**, 1997 matching alcoholism treatments to client heterogeneity: project MATCH post-treatment drinking outcomes. *J Stud Alcohol.* 58: 7 - 29

**Quertemont E., de Neuville J., De Witte P.**, 1998 Changes in the amygdala amino acid microdialysate after conditioning with a cue associated with ethanol. *Psychopharmacology (Berl).* 139 (1-2): 71-8.

**Quertemont E., Eriksson C. J., Zimatkin S. M., Pronko P. S., Diana M., Pisano M., Rodd Z. A., Bell R. R., Ward R. J.**, 2005 Is ethanol a pro-drug? Acetaldehyde contribution to brain ethanol effects. *Alcohol Clin Exp Res.* 29 (8): 1514-21.

**Rassnick S., Pulvirenti L., Koob G. F.**, 1992a Oral ethanol self-administration in rats is reduced by the administration of dopamine and glutamate receptor antagonists into the nucleus accumbens. *Psychopharmacology (Berl).* 109 (1-2): 92-8.

**Rassnick S., D'Amico E., Riley E., Pulvirenti L., Zieglgänsberger W., Koob G. F.**, 1992b GABA and nucleus accumbens glutamate neurotransmission modulate ethanol self-administration in rats. *Ann N Y Acad Sci.* 654: 502-5.

**Réus G. Z., Stringari R. B., Kirsch T. R., Fries G. R., Kapczinski F., Roesler R., Quevedo J.**, 2010 Neurochemical and behavioural effects of acute and chronic memantine administration in rats: Further support for NMDA as a new pharmacological target for the treatment of depression? *Brain Res Bull.* 81 (6): 585-9.

**Robbins, T. W., Everitt, B. J.**, 1999 Drug addiction: bad habits add up. *Nature.* 398: 567–570.

**Robbins T. W., Everitt B. J.**, 2002 Limbic-striatal memory systems and drug addiction. *Neurobiol Learn Mem.* 78(3): 625-36.

**Robinson, T. E., Berridge, K. C.**, 1993 The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res. Rev.* 18: 247–291.

**Robinson T. E., Berridge K. C.**, 2000. The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. *Addiction.* 95 (Suppl. 2): 91–117

**Robinson, T. E., & Berridge, K. C.**, 2001 Incentive-sensitization and addiction. *Addiction.* 96: 103-114.

**Robinson, T. E., Berridge, K. C.**, 2003 Addiction. *Annu Rev Psychol.* 54: 25-53.

**Robinson, T. E., Berridge, K. C.**, 2008 The incentive sensitization theory of addiction: some current issues. *Phil.Trans. R. Soc. B.* 363: 3137–3146.

**Robinson, E. S. J., Eagle, D. M., Mar, A. C., Bari, A., Banerjee, G., Jiang, X. S., Dalley, J. W. & Robbins, T. W.**, 2008 Similar effects of the selective noradrenaline reuptake inhibitor atomoxetine on three distinct forms of impulsivity in the rat. *Neuropsychopharmacology.* 33: 1028–1037.

**Rommelspacher H, Schmidt LG, May T.**, 1991 Plasma norharman (beta-carboline) levels are elevated in chronic alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res.* 15 (3): 553-9.

**Rosenwasser A. M.**, 2001 Alcohol, antidepressants, and circadian rhythms. Human and animal models. *Alcohol Res Health.* 25 (2): 126-35.

**Rosenwasser A. M., Fecteau M. E., Logan R. W.**, 2005 Effects of ethanol intake and ethanol withdrawal on free-running circadian activity rhythms in rats. *Physiol Behav.* 84 (4): 537-42.

**Sanchis-Segura C., Grisel J. E., Olive M. F., Ghozland S., Koob G. F., Roberts A. J., Cowen M. S.**, 2005 Role of the endogenous opioid system on the neuropsychopharmacological effects of ethanol: new insights about an old question. *Alcohol Clin Exp Res.* 29 (8): 1522-7.

**Sanchis-Segura C., Spanagel R.**, 2006 Behavioural assessment of drug reinforcement and addictive features in rodents: an overview. *Addict Biol* 11: 2–38.

**Schramm-Sapyta N. L., Walker Q. D., Caster J. M., Levin E. D., Kuhn C. M.**, 2009 Are adolescents more vulnerable to drug addiction than adults? Evidence from animal models *Psychopharmacology (Berl)*. 206 (1): 1-21.

**Shippenberg T. S., Koob G. F.**, 2002 Recent advances in animal models of drug addiction and alcoholism. In: Davis K. L., Charney D., Coyle J. T., Nemeroff C., editors. *Neuropsychopharmacology: the fifth generation of progress*. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins: 1381–97.

**Sinclair J. D., Senter R. J.**, 1967 Increased preference for ethanol in rats following alcohol deprivation. *Psychon Sci*. 8: 11–12.

**Sinclair J. D.**, 1972 The alcohol-deprivation effect. Influence of various factors. *Q J Stud Alcohol*. 33 (3): 769-82.

**Smith B. R., Amit Z., Splawinsky J.**, 1984 Conditioned place preference induced by intraventricular infusions of acetaldehyde. *Alcohol*. 1 (3): 193-5.

**Smothers C. T., Mrotek J. J., Lovinger D. M.**, 1997 Chronic ethanol exposure leads to a selective enhancement of N-methyl-D-aspartate receptor function in cultured hippocampal neurons. *J Pharmacol Exp Ther*. 283 (3): 1214-22.

**Solomon R. L.**, 1977. Addiction: an opponentprocess theory of acquired motivation: the affective dynamics of addiction. *Psychopathology: Experimental Models*, ed. JD Maser, pp. 66–103. San Francisco: Freeman

**Soyka M., Preuss U., Schuetz C.**, 2002 Use of acamprosate and different kinds of psychosocial support in relapse prevention of alcoholism. Results from a non-blind, multicentre study. *Drugs R D*. 3 (1): 1-12.

**Spanagel R., Hölter S. M., Allingham K., Landgraf R., Zieglgänsberger W.**, 1996 Acamprosate and alcohol: I. Effects on alcohol intake following alcohol deprivation in the rat. *Eur J Pharmacol*. 305 (1-3): 39-44.

**Spanagel R., Putzke J., Stefferl A., Schöbitz B., Zieglgänsberger W.**, 1996 Acamprosate and alcohol: II. Effects on alcohol withdrawal in the rat. *Eur J Pharmacol*. 305 (1-3): 45-50.

**Spanagel R., Hölter S. M.**, 1999 Long-term alcohol self-administration with repeated alcohol deprivation phases: an animal model of alcoholism? *Alcohol Alcohol*. 34 (2): 231-43.

**Spanagel R.**, 2003 Alcohol addiction research: from animal models to clinics. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 17 (4):5 07-18. Review.

**Spanagel R., Rosenwasser A. M., Schumann G., Sarkar D. K.,** 2005 Alcohol consumption and the body's biological clock. *Alcohol Clin Exp Res.* 29 (8): 1550-7.

**Spear LP, Varlinskaya EI.,** 2005 Adolescence. Alcohol sensitivity, tolerance, and intake. *Recent Dev Alcohol.* 17: 143-59.

**Spear LP, Varlinskaya EI.,** 2010 Sensitivity to ethanol and other hedonic stimuli in an animal model of adolescence: Implications for prevention science? *Dev Psychobiol.* 52 (3): 236-243.

**Spies CD, Rommelspacher H, Schnapper C, Müller C, Marks C, Berger G, Conrad C, Blum S, Specht M, Hannemann L, et al.,** 1995 Beta-carbolines in chronic alcoholics undergoing elective tumor resection. *Alcohol Clin Exp Res.* 19 (4): 969-76.

**Sprague G. L., Craigmill A. L.,** 1978 Effects of two cannabinoids upon abstinence signs in ethanol-dependent mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 9 (1): 11-5.

**Stewart, J., and Dewit, H.,** 1987 Reinstatement of drug-seeking behavior as a method of assessing incentive motivational properties of drugs. In: Bozarth, M. A., ed. *Method of Assessing the Reinforcing Properties of Abused Drugs.* New York: Springer. 211–227.

**Sukhanov I. M., Zakharova E. S., Danysz W., Bernalov A. Y.,** 2004 Effects of NMDA receptor channel blockers, MK-801 and memantine, on locomotor activity and tolerance to delay of reward in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. *Behav Pharmacol.* 15 (4): 263-71.

**Sun G. Y., Sun A. Y.,** 1985 Ethanol and membrane lipids. *Alcohol Clin Exp Res.* 9 (2): 164-80.

**Swift J. Q., Roszkowski M. T.,** 1998 The use of opioid drugs in management of chronic orofacial pain. *J Oral Maxillofac Surg.* 56 (9): 1081-5.

**Taylor A. N., Tio D. L., Bando J. K., Romeo H. E., Prolo P.,** 2006 Differential effects of alcohol consumption and withdrawal on circadian temperature and activity rhythms in Sprague-Dawley, Lewis, and Fischer male and female rats. *Alcohol Clin Exp Res.* 30 (3): 438-47.

**Toates, F. M.,** 1986 *Motivational systems.* Cambridge: Cambridge University Press.

**Trujillo K. A., Akil H.,** 1995 Excitatory amino acids and drugs of abuse: a role for N-methyl-D-aspartate receptors in drug tolerance, sensitization and physical dependence. *Drug Alcohol Dependence.* 38: 139–154.

**Tsai G., Coyle J. T.,** 1998 The role of glutamatergic neurotransmission in the pathophysiology of alcoholism. *Annu Rev Med.* 49: 173-84.

**Tsai G., Gastfriend D. R., Coyle J. T.,** 1995 The glutamatergic basis of human alcoholism. *Am J Psychiatry.* 152 (3): 332-40. Review.

**Tsuda M., Shimizu N., Yajima Y., Suzuki T., Misawa M.,** 1998 Hypersusceptibility to DMCM-induced seizures during diazepam withdrawal in mice: evidence for upregulation of NMDA receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 357 (3): 309-15.

**Turyabahika-Thyen K., Wolffgramm J.,** 2006 Loss of flexibility in alcohol-taking rats: promoting factors. *Eur Addict Res.* 12 (4): 210-21.

**Van den Brink W., Haasen C.,** 2006 Evidenced-based treatment of opioid-dependent patients. *Can J Psychiatry.* 51 (10): 621-3.

**Vengeliene V., Bilbao A., Molander A. and Spanagel R.,** 2008 Neuropharmacology of alcohol addiction. *British Journal of Pharmacology.* 154: 299–315

**Vengeliene V., Bachteler D., Danysz W., Spanagel R.,** 2005 The role of the NMDA receptor in alcohol relapse: a pharmacological mapping study using the alcohol deprivation effect. *Neuropharmacology.* 48: 822–829.

**Watanabe A., Hobara N., Kobayashi M., Nakatsukasa H., Nagashima H.,** 1985a Lowering of blood acetaldehyde but not ethanol concentrations by pantethine following alcohol ingestion: different effects in flushing and nonflushing subjects. *Alcohol Clin Exp Res.* 9 (3): 272-6.

**Watanabe A., Hobara N., Nagashima H.,** 1985b Lowering of liver acetaldehyde but not ethanol concentrations by pretreatment with taurine in ethanol-loaded rats. *Experientia.* 41 (11): 1421-2.

**Ward R. J., Colantuoni C., Dahchour A., Quertemont E., De Witte P.,** 1997 Acetaldehyde-induced changes in monoamine and amino acid extracellular microdialysate content of the nucleus accumbens. *Neuropharmacology.* 36 (2): 225-32.

**Whitworth A. B., Fischer F., Lesch O. M., Nimmerrichter A., Oberbauer H., Platz T., Potgieter A., Walter H., Fleischhacker W. W.,** 1996 Comparison of acamprosate and placebo in long-term treatment of alcohol dependence. *Lancet.* 347 (9013): 1438-42.

**Wise R. A., Bozarth M. A.,** 1987 A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychol Rev.* 94 (4): 469-92.

**Wolffgramm J.**, 1990 Free choice ethanol intake of laboratory rats under different social conditions. *Psychopharmacology (Berl)*. 101 (2): 233-9.

**Wolffgramm J., Heyne A.**, 1991 Social behavior, dominance, and social deprivation of rats determine drug choice. *Pharmacol Biochem Behav.* 38 (2): 389-99.

**Wolffgramm J., Heyne A.**, 1995 From controlled drug intake to loss of control: the irreversible development of drug addiction in the rat. *Behav Brain Res.* 70 (1): 77-94. Review.

**Wolffgramm J., Galli G., Thimm F., Heyne A.**, 2000 Animal models of addiction: models for therapeutic strategies? *J Neural Transm.* 107 (6): 649-68.

**Wood, W. G., Gorka, C., and Schroeder, F.**, 1989 Acute and chronic effects of ethanol on transbilayer membrane domains. *J. Neurochem.* 52: 1925–1930.

**Wood W. G., Schroeder F.**, 1988 Membrane effects of ethanol: bulk lipid versus lipid domains. *Life Sci.* 43 (6): 467-75.

## **Danksagung**

Die vorliegende Arbeit wurde an der Sektion für Suchtforschung der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie Tübingen unter der Leitung von Prof. Dr. J. Wolffgramm angefertigt. Ihm möchte ich ganz besonders für die Überlassung des sehr interessanten Themas, die Einführung in die präklinische Forschung und der steten Bereitschaft für Diskussionen und seiner unendlichen Geduld danken. Des Weiteren möchte ich Ihn für die Zeit danken, die er mir zur Verfügung stellte, die zahlreichen Erklärungen der komplexen Welt der Statistik die er mir gab und für die Korrektur des Manuskripts.

Herrn Dr. Thimm möchte ich besonders für die Überlassung der Daten des Vorversuches und die statistische Analyse dieser Daten danken.

Der medimod research institute GmbH möchte ich für die Bereitstellung der Laborräume, meines Arbeitsplatzes sowie der Arbeitsmaterialien und selbstverständlich der Zeit ihrer Mitarbeiter danken. Insbesondere Dipl. Biol. Christoph Kießelbach, Dr. Carola Reinhardt, Dipl. Biol. Katja Turyabahika., Dipl. Biol. Gabriel Galli, Clemens Oertel und allen anderen. Ein besonderer Dank gilt auch den Mitarbeitern der Tierhaltung, dort vor allem Thomas Paul, der mir immer eine große Hilfe im Umgang mit den Tieren war.

Prof. Dr. G. Buchkremer und Prof. Dr. A. Batra möchte ich ebenfalls für die Zeit danken, die sie – und die ganze Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie – mir zur Fertigstellung dieser Arbeit gaben.

Mein herzlichster Dank gilt meinen Eltern, ohne die ich nie so weit gekommen wäre, Danke schön. Meinen beiden Brüdern, Dr. Karim C. El Kasmi und Dipl. Biol. Farid El Kasmi, möchte ich besonders für die vielen wissenschaftlichen Diskussionen und für die großartige Unterstützung während meiner Studienzeit danken.

Der größte Dank jedoch gebührt meiner lieben Frau Mónica, welche ich während meiner Promotionsarbeit kennen- und lieben lernte. Sie ist mir immer eine große Stütze gewesen und hat mir stets durch schwierige Zeiten geholfen.

# Curriculum vitae

Name: **El Kasmi, Jamil**  
e-Mail: *jamil.el-kasmi@med.uni-tuebingen.de*

Geburtsdatum: 21. Januar 1979  
Geburtsort: Ruit (Ostfildern)  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Familienstand: verheiratet

## Schulische Laufbahn:

07/85-06/89 Grundsule Filderstadt  
07/89-06/98 Eduard-Spranger-Gymnasium Filderstadt; Abschluss: Hochschulreife

## Berufliche Laufbahn:

Zivildienst:  
08/98-09/99 Psychiatrische Klinik der Universitätskliniken Tübingen

Freiwillig Soziales Jahr:  
10/99-09/00 Psychiatrische Klinik der Universitätskliniken Tübingen

Studium:  
10/00 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Universität Tübingen  
02/03 1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung  
03/05 2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung  
10/05-09/06 Praktisches Jahr an der Universitätsklinik Tübingen (Medizinische Klinik, Allgemein Chirurgie, Neurologie)  
07.11.2006 3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung  
08.12.2006 Approbation als Arzt

## Arbeitserfahrung:

10/00-03/07 Pflegehelfer an der Psychiatrischen Klinik der Universitätskliniken Tübingen  
Seit 03/07 Assistenzarzt an der Psychiatrischen Klinik der Universitätskliniken Tübingen

## Auslandsaufenthalte:

Frühjahr 2004 6 Wochen Famulatur im St. Jude Children's Research Hospital, Memphis TN, USA