

**Auswirkungen der pharmakologischen Modulation
von kognitiven Fähigkeiten auf das Verhalten von
Mäusen in Tests für Angst/Depression und
Charakterisierung eines neuen Mausmodells für
Depression**

Dissertation

an der Fakultät für Biologie

der Ludwig-Maximilian-Universität

München

vorgelegt von

Angelika Rödel

München, 5. Dezember 2005

Erstgutachter:

Prof. Dr. Walter Schartau

Zweitgutachter:

Prof. Dr. Gerd Schuller

Tag der mündlichen Prüfung:

24. 05. 2006

Diese Arbeit ist meinem Vater, Ferdinand Rödel, gewidmet, der deren Vollendung nicht mehr erleben konnte.

1. EINLEITUNG	1
1.1. DEPRESSION ALS KRANKHEIT UND ALS PROBLEM IN DER FORSCHUNG.....	1
1.2. DIE BEDEUTUNG VON TIERMODELLEN.....	2
1.3. DIE MODULATION VON KOGNITION UND DEREN EINFLUSS AUF DEPRESSIONS- ÄHNLICHES VERHALTEN BEI MÄUSEN.....	4
1.4. EIN TIERMODELL FÜR DEPRESSION AUS GENETISCH VERÄNDERTEN MÄUSEN.....	9
1.5. ZIELSETZUNG.....	14
2. MATERIAL UND METHODEN	16
2.1. VERSUCHSTIERE UND HALTUNG.....	16
2.2. DIE ZUCHT DER EXR002 MAUSLINIEN.....	17
2.2.1. Die EXR002 Alpha Mauslinie.....	17
2.2.2. Die Zucht der EXR002 Hybrid Mauslinie.....	17
2.3. VERHALTENSTESTS.....	18
2.3.1. Das modifizierte hole board (mHb).....	18
2.3.1.1. Verhaltensparameter.....	21
2.3.2. Der Forced swim Test.....	25
2.3.2.1. Verhaltensparameter.....	26
2.3.3. Das Elevated Plus Maze (EPM).....	28
2.3.3.1. Verhaltensparameter.....	29
2.4. PHARMAKOLOGISCHE BEHANDLUNG VON VERSUCHSTIEREN	32
2.4.1. R121919.....	32
2.4.2. Skopolamin.....	33
2.4.3. Paroxetin.....	33
2.5. PHYSIOLOGISCHE PARAMETER.....	34
2.5.1. Paroxitin Blutproben.....	34
2.5.2. Gehirnentnahme und Aufbewahrung.....	35
2.5.3. Blutentnahme.....	35
2.5.4. Radioimmunoassay RIA.....	36
2.5.5. Gehirnschnitte am Kryostat.....	36
2.5.6. in-situ-Hybridisation.....	37
2.5.7. Einscannen und Auswertung der in-situ Hirnschnitte.....	39
2.6. VERSUCHSDURCHFÜHRUNG.....	39
2.6.1. Teil 1: Auswirkungen der pharmakologischen Modulation von kognitiven Fähigkeiten auf das Verhalten in Tests für Angst/Depressionsverhalten.....	39
Versuch 1a: Modified hole board mit Skopolamin Behandlung.....	40

Inhaltsverzeichnis

Versuch 1b: Elevated Plus-Maze mit Skopolamin Behandlung.....	40
Versuch 1c: Forced swim Test nach Porsolt mit Skopolamin Behandlung.....	40
2.6.2. Teil 2: Charakterisierung eines neuen Mausmodells für Depression.....	41
Versuch 2a: Initiale Charakterisierung und Konfirmation der EXR002 Alpha Mäuse.....	42
Versuch 2b: Elevated Plus-Maze.....	42
Versuch 2c: Forced swim Test nach Porsolt.....	42
Versuch 2d: mHb mit Paroxetin Behandlung.....	42
Versuch 2e: Initiale Charakterisierung und Konfirmation der EXR002 Hybrid Mäuse.....	43
Versuch 2f: Elevated Plus-Maze	43
Versuch 2g: Forced swim Test nach Porsolt.....	44
Versuch 2h: mHb mit R121919 Behandlung.....	44
2.7. STATISTIK.....	45
3. ERGEBNISSE.....	46
3.1. TEIL 1: AUSWIRKUNG DER PHARMAKOLOGISCHEN MODULATION VON KOGNITIVEN FÄHIGKEITEN AUF DAS VERHALTEN IN TESTS FÜR ANGST UND DEPRESSION.....	46
3.1.1. Versuch 1a: Modified hole board mit Skopolamin Behandlung.....	46
3.1.2. Versuch 1b: Elevated Plus-Maze mit Skopolamin Behandlung	49
3.1.3. Versuch 1c: Forced swim Test nach Porsolt mit Skopolamin Behandlung.....	52
3.1.4. Ergebnisse der CRH in-situ.....	57
3.2. TEIL 2: CHARAKTERISIERUNG EINES NEUEN MAUSMODELLS FÜR DEPRESSION ...	59
3.2.1. Versuch 2a: Initiale Charakterisierung und Konfirmation der EXR002 Alpha Mäuse..	59
3.2.2. Versuch 2b: Elevated Plus-Maze.....	70
3.2.3. Versuch 2c: Forced swim Test nach Porsolt.....	72
3.2.4. Versuch 2d: mHb mit Paroxetin Behandlung.....	75
3.2.5. Versuch 2e: Initiale Charakterisierung und Konfirmation der EXR002 Hybrid Mäuse.....	81
3.2.6. Versuch 2f: Elevated Plus-Maze.....	88
3.2.7. Versuch 2g: Forced swim Test nach Porsolt.....	91
3.2.8. Versuch 11: mHb mit R121919 Behandlung.....	96
3.2.9. Ergebnisse der CRH in-situ.....	102
4. DISKUSSION.....	103
4.1. TEIL 1: DIE TESTS FÜR DEPRESSIONS-ÄHNLICHEM VERHALTEN.....	103
4.1.1. Der mHb Test.....	104
4.1.2. Der Elevated Plus-Maze Test.....	106

4. 1. 3. <i>Der Forced swim Test nach Porsolt</i>	107
4. 1. 4. <i>CRH Analyse im PVN und Amygdala</i>	111
4.2. TEIL 2: CHARAKTERISIERUNG EINES NEUEN MAUSMODELLS FÜR DEPRESSION	113
4. 2. 1. <i>Der Verhaltensphänotyp der EXR002 im mHb</i>	113
4. 2. 2. <i>Die EXR002 im Forced Swim Test nach Porsolt</i>	116
4. 2. 3. <i>Die EXR002 im Elevated Plus-Maze Test</i>	118
4. 2. 4. <i>Die EXR002 im mHb Test mit chronischer Paroxetin Behandlung</i>	119
4. 2. 5. <i>EXR002-Hybriden im mHb</i>	121
4. 2. 6. <i>EXR002-Hybriden im Forced Swim Test</i>	122
4. 2. 7. <i>EXR002-Hybriden im Elevated Plus-Maze Test</i>	123
4. 2. 8. <i>EXR002-Hybriden im mHb Test mit R121919 Behandlung</i>	124
4. 2. 9. <i>CRH Analyse im PVN und Amygdala</i>	126
4. 3. SCHLUSSBETRACHTUNG	126
5. ZUSAMMENFASSUNG	127
6. ANHANG	129
7. LITERATURANGABEN	149
8. DANKSAGUNG	177

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adreno-Corticotropes-Hormon
BL6	C57BL/6J
C3Hwt	C3HeB/FeJ Wildtyp
CORT	Corticosteron
CRH	Corticotropin-releasing hormone
DBA	DBA/2J
ENU	Ethyl-Nitroso-Urease
EPM	elevated Plus-maze
EXR002 Alpha	Explorativ-reduzierte C3HeB/FeJ
EXR002-Hyb	Explorativ-reduzierte Hybrid C3HeB/FeJ/C57BL/6J
FS	Forced swim Test
mHb	modified hole board
PVN	Nukleus Paraventricularis
SEM	Standartfehler des Mittelwertes

1. EINLEITUNG

1. 1. DEPRESSION ALS KRANKHEIT UND ALS PROBLEM IN DER FORSCHUNG

Geistige und körperliche Gesundheit gehören zu den höchsten Gütern, die wir besitzen. Sie zu erhalten oder wiederzuerlangen ist Ziel der modernen, medizinischen Forschung. Psychische Erkrankungen treten in diesem Zusammenhang zunehmend in den Vordergrund. In Deutschland stieg die Zahl der diagnostizierten Fälle von psychischen Erkrankungen zwischen 1997 und 2004 um 70%. Am häufigsten vertreten sind Depression und Angststörungen, dabei sind besonders junge Menschen überproportional betroffen. Als Ursache dieser jüngeren Entwicklung wird hauptsächlich die wirtschaftliche Unsicherheit, geringe Eigenkontrolle im Alltag und überhöhte Anforderung angenommen (DAK Gesundheitsreport, 2005). Schätzungen zu Folge liegt das Risiko, an einer Depression zu erkranken, bei 13% und steht dazu noch im Zusammenhang mit einer geringeren Lebenserwartung. Ein Suizid als Folge von Depression ist die zweithäufigste Todesursache der unter Vierzigjährigen (DoH, 1999; APA, 1998). Psychische Erkrankungen stellen in Deutschland mit 9,8% die viertgrößte Gruppe bei der Anzahl der Krankheitstage im Berufsleben dar, dabei wird eine Depression oft gar nicht erkannt (Prilipp, 2001). Um die bisher unterschätzte „Volkskrankheit“ besser zu verstehen und sie gezielter behandeln zu können, ist daher von grundsätzlicher Bedeutung, die neuronalen Grundlagen und die Regulation der physiologischen und pathologischen Mechanismen zu verstehen, sowie neue psychopharmakologische Methoden und Behandlungskonzepte zu entwickeln.

Die Depression ähnelt einer traurigen Verstimmung, die oft als quälend empfunden wird und in der jeglicher Lebenswille erlischt. Weitere Symptome, die im Zusammenhang mit einer Depression auftreten, sind starke Ängste, Antriebslosigkeit gepaart mit gleichzeitiger innerer Unruhe, Schlafstörungen, Appetitverlust und Veränderungen des vegetativen Nervensystems (DSM-IV). Man nimmt an, dass die Neigung, an einer Depression zu erkranken vererbbar ist und dass nach einer Depressionserkrankung auch weiterhin ein erhöhtes Risiko besteht, erneut an einer Depression zu erkranken (Nesse, 1999). Dabei ist die Depression grundsätzlich zu unterscheiden von den negativen Gefühlszuständen, die auf ein besonders belastendes Ereignis folgen, wie dem Verlust einer nahestehenden Person oder einem Verkehrsunfall. In Deutschland sind etwa 4 Millionen Menschen an einer Depression erkrankt, etwa dreimal so groß ist die Zahl derer, die irgendwann an einer Depression erkranken werden (Holsboer, 1999).

1. 2. DIE BEDEUTUNG VON TIERMODELLEN

Das Wesen der Depression entzieht sich den technischen Möglichkeiten der modernen Untersuchungsmethoden. Auch erlauben ethische Prinzipien keine invasiven oder belastende Untersuchungen am Patienten. Dennoch erfordert die Komplexität dieser Erkrankung, dass Studien der Interaktion zwischen den neurobiologischen Mechanismen und Verhalten, sowie der Einfluss externer Faktoren am lebenden Objekt untersucht wird. Daher ist das Tiermodell aus biomedizinischer Sicht von grundlegender Bedeutung und unverzichtbar in der Forschung (Ohl & Keck, 2003).

Das Interesse an Tiermodellen für Verhaltensstudien dreht sich heute hauptsächlich um die Maus, da sie viele Vorteile bietet. Mäuse haben eine kurze Reproduktionszeit, es existiert ein umfangreiches Wissen über ihre Genetik und ihr Verhalten ist gründlich untersucht (Crawley et al., 1997; Rossi-Arnaud & Ammassari-Teule, 1998). In der modernen Verhaltensneurobiologie haben sich auch zunehmend genetische Methoden etabliert. Es existieren bereits eine Vielzahl an genetisch veränderten Mauslinien und sie bieten die Möglichkeit Fragestellungen anzugehen, die auf andere Weise kaum zu untersuchen wären (Malakoff, 2000; Keck & Mueller, 2002).

Natürlich lässt sich eine komplexe, menschliche Erkrankung wie die Depression nicht einfach in ihrer Gesamtheit im Tiermodell darstellen, allerdings können einzelne Aspekte der Krankheit untersucht werden (Holsboer et al., 1997; Müller & Keck 2002). In der Vergangenheit wurden bereits eine Reihe von Tiermodellen entwickelt die einzelne Elemente der Depression studierten, sogenannte Endophänotypen, die in der Psychiatrie zu den begleitenden Symptomen der Erkrankung gezählt werden (Holsboer, 1997; Müller & Keck, 2002). Bisher gibt es aber kein Modell, das alle Aspekte umfassen könnte. Es kann aber auch nicht als realistisch angesehen werden, ein solches allumfassendes Modell finden zu können, da die meisten psychischen Erkrankungen nicht nur auf einem einzigen Gendefekt basieren und somit in ihrer Komplexität nicht darstellbar sind. Daher zielt man auf elementar zugrunde liegende Faktoren ab, von denen man annimmt, dass sie mit der Krankheitsentwicklung zu tun haben. Tiermodelle basieren auf verschiedenen methodischen Ansätzen. Die bekanntesten bisher entwickelten Modelle, beinhalten Tests, die bestimmte Symptome simulieren, wie Selbstaufgabe (*behavioral despair*), oder die Verhaltenstheorien untersuchen, wie *learned helplessness* (Erlernte Hilflosigkeit) (Vaugeois & Costentin, 1998; Trullas et al., 1989; Telner & Singhal, 1984; Zur Übersicht: Kalueff & Tuohimaa, 2004). Andere Modelle nutzen die Möglichkeit, neurobiologische oder genetische Manipulationen anzuwenden (Zur Übersicht:

Willner, 1984; Cryan & Mombereau, 2004). Einige Modelle studieren die Effekte durch eine Behandlung mit gängigen Antidepressiva, die bereits mit Erfolg beim Menschen eingesetzt wurden. Dabei werden die endokrinologischen und Verhaltens-Effekte an verschiedenen Mauslinien bei chronischer oder akuter Behandlung analysiert (Dulawa et al., 2004). Genetische Manipulationen wie Knock-out- und transgene Mäuse stellen eine weitere Möglichkeit dar, die Mechanismen von Depression oder die Wirkungsweise von Antidepressiva zu untersuchen (Boyle et al., 2005). Die Tiermodelle für Depression beinhalten Verhaltensdimensionen, die mit einer Depression beim Menschen assoziiert werden können oder in der Lage sind, spezifische Effekte von Antidepressiva aufzudecken (Dalvi & Lucki, 1999; Petit-Demouliere et al., 2005). Darüber hinaus wird in der tierexperimentellen Grundlagenforschung der Biomedizin von den Modellen gefordert, dass sie prädikative, phänotypische und Konstrukt-Validität besitzen (Willner, 1984; Kalueff & Tuohimaa, 2004). Für die phänotypische Validität (*face validity*) bedeutet dies, dass es sich um ein evolutionär konserviertes Verhalten handeln muss, das beim Tier und Mensch zu analogen Verhaltensreaktionen in der entsprechenden Situation führen sollte. Dabei sollen keine der Depression widersprüchlichen Elemente im Tiermodell auftauchen. Ebenso sollte ein Pharmaka im Tiermodell eine vergleichbare Reaktion wie beim Patienten erreichen, die von klinischer Relevanz ist, um das Kriterium der prädikativen Validität zu erreichen (*predictive validity*). Schließlich sollte es möglich sein, zwischen dem Tiermodell und den Elementen der Depression, für die es Modell stehen will, eine Homologie annehmen zu können, besonders in einem klinischen Kontext, um das Kriterium der Konstrukt-Validität (*construct validity*) erfüllen zu können (Harro, 2004; Willner, 1984).

1. 3. 1. Die Modulation von Kognition und deren Einfluss auf Depressions-ähnlichen Verhalten bei Mäusen

Um die verschiedenen Aspekte der Depression im Tiermodell darstellen und für eine Studie heranziehen zu können, ist eine Identifikation eines Depressions-ähnlichen Verhaltensphänotyps ausschlaggebend. Bei der Depression sind unterschiedliche motivationale Systeme betroffen, daher werden eine ganze Reihe von verschiedenen selektiven Tests dafür eingesetzt, die einzelne Elemente herausgreifen, um sie zu studieren. In weiten Teilen ergänzen sich hier Versuchsanordnungen, die sowohl Ängstlichkeit und Depressions-ähnliches Verhalten gleichermaßen analysieren können, wie der Open Field Test, der Elevated Plus-Maze Test (EPM), die Light/Dark Box, der Hole Board Test (mHb) und der Forced Swim Test nach Porsolt (1977) (FS), um hier nur die wichtigsten zu nennen

(Andreatini & Bacellar, 1999; Kalueff & Tuohimaa, 2004; Cryan & Mombereau, 2004. Zur Übersicht der Tests: Lister, 1990; Zur weiteren Definition der Tests siehe: Material und Methoden, Seite 13-24). Bisher konnten so mit der Hilfe von selektiven Verhaltenstests im Tiermodell Exploration, soziale Interaktion, Abwehrverhalten, Neugierde, konditioniertes Verhalten, Ahedonie und konditioniertes Angstverhalten für Angst- und Depressionsstudien herangezogen werden (Wall & Messiers, 2001; Ohl & Keck, 2003).

Bei der klinischen Erforschung der Depression und Angsterkrankung stehen besonders kognitiv-psychologische Modelle im Vordergrund, da die psychiatrische und neurobiologische Forschung in den letzten Jahren einen engen Zusammenhang zwischen Depression, Angst und Kognition zeigen konnte (Belzung & Beuzen, 1995; McNaughton, 1997; Becker & Rinck, 2000; Ohl et al., 2001, 2003). Leider können viele klinisch wichtige Aspekte der Depression, besonders auf Kognition basierende, nicht direkt im Tiermodell dargestellt werden. Dieser Aspekt ist aber für die Forschung von Bedeutung, da beim Menschen eine Depression oft von Veränderungen der Aufmerksamkeit, des Gedächtnisses und kognitiven Defiziten begleitet wird (Becker & Rinck, 2000; Paterniti et al., 1999). Die Untersuchung dieses Zusammenhanges wurde aber meist nicht mit kognitiv wirksamen Substanzen vorgenommen, stattdessen wurden in den Modellen Antidepressiva und Angstlösende Medikamente verwendet, bestenfalls wurde deren Interaktion mit anderen Medikamenten studiert, um die zu Grunde liegenden neurologischen Mechanismen zu verstehen (Willner, 1984).

Um die Interaktion von Depression und kognitiven Leistungen tiefer zu untersuchen, ist es notwendig, die bereits bestehenden Verhaltenstests zu revalidieren, indem man einen anderen Angriffswinkel wählt. Durch eine pharmakologische Manipulation der kognitiven Prozesse sollten die daraus resultierenden Auswirkungen auf das Angstverhalten der Mäuse in denjenigen Verhaltenstests untersucht werden, die häufig für die Identifikation von Depression und Angst eingesetzt werden. In der vorliegenden Studie wurden die Verhaltenseffekte durch den muskarinen-Rezeptor Antagonist Skopolamin in den ausgewählten Tests mHb, EPM und dem FS Test analysiert. Skopolamin hat sich für diese Untersuchung angeboten, da in einer Reihe früheren Studien gezeigt werden konnte, dass Skopolamin bei Mäusen das räumliche Arbeitsgedächtnis, Lernen und Erinnern (Giovanni et al., 1999), die Aufmerksamkeit (Humby et al., 1999) und die kognitiven Fähigkeiten stört (Bratt et al., 1996). Man kann die Verhaltenstests, die das Angst- und Depressionsverhalten bei Mäusen untersuchen, in zwei Kategorien unterteilen (Griebel, 1995): Zum einen in solche, die auf konditioniertem Verhalten basieren und zum anderen in solche, die auf spontanen,

nicht konditionierten Antworten beruhen (Lister, 1990; Treit, 1985). Besonders häufig werden der FS Test oder das EPM, die die verschiedenen emotionalen Systeme untersuchen können, für Angst- und Depressionsstudien herangezogen.

Das EPM ist ein angesehenes und oft verwendetes Modell, um Stadium-Angst bei Nagern zu messen (Griebel et al., 1995). Zwei, kreuzförmig verbundene Arme, wobei einer offen ist und einer durch Seitenwände geschlossen ist, stehen erhöht auf einem Ständer montiert (ca. 70cm). Das Versuchstier hat 5 Minuten Zeit, beide Arme zu explorieren. Nager zeigen in einer neuen Umgebung zunächst ein vorsichtiges Verhalten. Sie halten sich nahe der Wand oder bleiben im Dunklen bis ihre Neugierde ihre Angst überwiegt und sie den hellen, ungeschützten Teil des Areal untersuchen (Rodger & Dalvi, 1997). Daher ist die Latenz bis zum ersten Betreten des ungeschützten Areal und die Zeit, die das Tier in dem Areal verbringt, ein Maß für Angst. Das EPM gehört zu den Tests, die sich dieses Verhalten der Mäuse zu nutze machen (Wall & Messier, 2001).

Der Forced swim Test nach Porsolt (1977) ist ohne Zweifel der meist verwendete Depressionstest in der Verhaltensforschung mit einer sehr guten Sensivität für Antidepressiva (Luki & Dalvi, 1999). Er kombiniert einen psychischen mit einem physischen Stressor. Dabei müssen die Tiere in einem Glaszylinder mit 23-25°C kaltem Wasser für 5 Minuten schwimmen. Nach kurzer Zeit bewegen sich die Tiere nur noch gerade soviel, um im Wasser die Balance zu halten (Petit-Demouliere et al., 2005).

Der FS Test baut auf die Beobachtung auf, dass ein Nager, wenn er in ein Zylinderglas mit Wasser gesetzt wird, nach anfänglichen vergeblichen Fluchtversuchen eine immobile Haltung einnimmt. Wenn man das Tier 24 Stunden später erneut in den Glaszylinder mit Wasser setzt, fängt es früher an sich treiben zu lassen. Diese beobachtete Immobilität betrachtet man als „Selbstaufgabe“ (*behavioral despair*) oder das Entwickeln eines passiven Verhaltens, welches das Tier an Stelle einer aktiven Form von Stressbewältigung zeigt (Borsini & Meli, 1988; Vaugois & Costentin, 1998; Trullas et al., 1989; Telner & Singhal, 1984). Andere Studien belegen, dass möglicherweise kognitive Funktionen für das Fluchtverhalten im FS verantwortlich sind (Montkowski et al., 1995). Die beobachtete Immobilität kann als eine erfolgreiche Anpassungsstrategie auf eine gegebene Situation betrachten werden (West, 1990). Die Gabe eines Antidepressivum vor dem Test lässt das Tier für eine längere Zeit Fluchtversuche unternehmen. Die pharmakologische Validität dieses Modells ist bei den meisten bekannten Antidepressiva sehr hoch (Borsini & Meli, 1988; Cryan et al., 2004).

Die Untersuchung der basalen Interaktion von Depression und Kognition dagegen erfordert eine möglichst stressfreie Testsituation, die gleichzeitig eine Untersuchung emotionaler und

kognitiver Parameter ermöglicht. Einen solchen Test stellt das mHb dar, welches erlaubt, gleichzeitig verschiedene kognitive Prozesse und eine Vielzahl von Verhaltensdimensionen in nur einem Test bei Mäusen zu erforschen (Ohl et al., 2001b).

Für die Revalidierung der vorgestellten Verhaltensversuche wurden die zwei Mauslinien C57BL/6J (BL6) und DBA/2J (DBA) ausgewählt, die in der Literatur in einer Vielzahl von Studien als unterschiedlich beschrieben worden waren, was das emotionale Verhalten und die kognitiven Leistungen anbelangt. So sind DBA Mäuse im Vergleich zu BL6 Mäusen als ängstlicher dargestellt worden (Trullas & Skolnick, 1993; Crawley et al., 1997; Griebel et al., 1997). Ebenso wurden sie als unterschiedlich in ihren kognitiven Fähigkeiten dokumentiert (Rossi-Arnaud & Ammassari-Teule, 1998; Ohl et al., 2003). Die DBA Mauslinie wurde, basierend auf ihren schlechten Leistungen bei der Bewältigung von räumlichen Gedächtnis-Tests (Thinus-Blanc et al., 1996) und ihrer unterschiedlichen hippocampalen Anatomie, als Tiermodell für hippocampale Dysfunktionen bevorzugt. Dagegen zeigten sich keine Unterschiede zwischen DBA Mäusen und BL6 Mäusen bei visuellen Tests, wie dem Radial-maze Test (Rossi-Arnaud & Ammassari-Teule, 1999; Passino & Ammassari-Teule, 1999).

1. 4. 1. Ein Tiermodell für Depression aus genetisch veränderten Mäusen

Die Verhaltenstests, die in der vorangegangenen Studie mit bekannten Mauslinien revalidiert wurden, wurden nun genutzt, um ein neues Mausmodell für Depression zu validieren.

Neben den umfangreichen genetischen Analysen, die üblicherweise an Maus-Mutanten durchgeführt werden, spielen gleichzeitig durchgeführte phänotypische Analysen eine immer größere Rolle. Dabei ist die Verknüpfung von Phänotyp zu Genotyp nicht immer direkt kausal, da Verhaltensphänotypen auf komplexen genetischen Interaktionen basieren können und durch den Einfluss von Faktoren aus der Umwelt ausgeprägt werden (Ohl & Keck, 2003). Dies gilt auch für psychiatrische Erkrankungen, deren Diagnose auf Grund einer Reihe von Symptomen, wie sie in den medizinischen Standardwerken wie dem ICD-10 oder DSM-VI kategorisiert sind, erstellt wird. Versuche, bestimmte Gene psychiatrischen Krankheiten zuzuordnen, waren bisher nur im geringen Maße möglich auf Grund der genetischen Komplexität, die ihnen zu Grunde liegen (Kendler, 2002). So konnten bisher nur wenige genetische Faktoren gefunden werden, die zu Erkrankungen wie der Depression im Zusammenhang stehen (Hyman, 1999; Owen, 2000).

Eine Erweiterung des „Gene-driven“ Ansatzes, um die zu Grunde liegenden genetische Funktionen zu erforschen, die Verhaltensveränderungen verursachen, stellt der „Phenoty-

driven“ Ansatz dar. Dieser Ansatz stellt eine weitere Möglichkeit dar, um geeignete Kandidatengene für menschliche Erkrankungen zu finden.

Das Ziel des Ethyl-Nitrosourea (ENU)-Mutagenese Programms des Forschungszentrums für Umwelt und Gesundheit (GSF) war es, neue Phänotypen zu finden, um die Gene zu identifizieren, die Erkrankungen verursachen. Männliche Mäuse wurden mit N-ethyl-N nitrosourea (ENU) behandelt und mit unbehandelten Weibchen verpaart. Jedes seiner Nachkommen war genetisch einzigartig und wurde auf Veränderung im Phänotyp untersucht. Durch weitere Zucht wurde festgestellt, ob es sich um eine stabile, genetische Mutation handelte und ob es sich um ein rezessives oder dominantes Gen handelte. Bei rezessiven Mutanten wurden die F1 Mäuse noch mal mit Wildtyp Mäusen verpaart und die weiblichen Nachkommen mit ihren Vätern verpaart. Deren Nachkommen sind zu 25% homozygot (Balling et al., 2001). ENU bewirkt eine Alkylierung der Basen der Desoxyribonukleinsäure (DNS). Es ist stark mutagen und verursacht hauptsächlich Punktmutationen, die weiter vererbt werden (Nolan et al., 2000; Balling et al., 2001). ENU wirkt besonders auf die männlichen premeiotischen spermatogonialen Stammzellen in Mäusen. Dies führt zu einer großen Anzahl Nachkommen in der F1 Generation mit genetischen Mutationen. Auf Grund der Mutationsrate kann man annehmen, dass eine ENU-Mutante 25-40 mutierte Gene hat (Balling et al., 2001). Da mehrere Gene betroffen sind, die das Verhalten beeinflussen können, werden die Mutanten über mehrere Generationen gezüchtet, da es unwahrscheinlich ist, dass alle Gene zusammen weitervererbt werden. Somit werden nur Mutanten weitergezüchtet, die eine stabile Penetranz des Phänotyps zeigen. In einigen Fällen konnten so bereits Mutagenesis-Screens erfolgreich durchgeführt werden (Balling, 2001; Brown & Hardesty, 2003). Im Rahmen dieses Programms wurde eine Maus identifiziert, die ein explorativ-reduziertes Verhalten im mHb Test zeigte (Binder, 2004). Diese Maus wurde Stammutter einer Zuchtlinie, die über mehrere Generationen gezüchtet wurde und die Bezeichnung: EXR002 für Explorativ-Reduziert bekam (EXR002-Alpha). Da bei der Verpaarung der Stammutter sich das reduzierte Explorationsverhalten nur bei einem Prozentsatz von etwa 25% der Nachkommen zeigte, handelte es sich um ein rezessives Merkmal. Auf Grund dessen wurden alle Nachkommen verhaltensphänotypisiert.

In der Vergangenheit gab es bereits Tiermodelle für Angst und Depression, die Exploration zum Inhalt hatten (Kalueff, 2004). Um das Explorationsverhalten von Mäusen zu untersuchen, stehen eine ganze Reihe von Apparaten und Prozeduren zur Verfügung (Zur Übersicht: File, 2001; Barnett & Cowan, 1976; Crawley, 1985). Meist wird die Exploration in

einem Areal, das in Gestalt und Funktion unterschiedlich sein kann, studiert, wobei das Tier freiwillig aber ohne Fluchtmöglichkeit das Areal explorieren kann. Es werden in diesen Tests eine Reihe von Parametern erhoben und dabei wird ihre Anzahl, die Latenz bis zum ersten Auftreten und die Dauer des gezeigten Verhaltens berücksichtigt. Mäuse werden von neuen Objekten oder Arealen angezogen und explorieren sie meist gründlich (Crusio, 2001).

Exploration steht in direktem Zusammenhang mit etwas Neuem. Eine Definition nach O'Keefe und Nadel (1978) besagt, dass ein Objekt oder Areal als neu betrachtet werden kann, wenn es davon keine Gedächtnisrepräsentation gibt. Exploration besteht zum Teil also aus Informationsgewinnung, Kognition und Gedächtnisleistungen. Sie kann in drei Typen unterteilt werden, die meist aufeinander folgen: die Orientierung, die Lokomotion und das Untersuchen. Darüber hinaus gibt es noch die Unterteilung in die extrinsische Exploration, bei der ein bestimmtes Ziel gesucht wird und die intrinsische Exploration, bei der etwas Neues gesucht wird (Hughes, 1997). Die suchende Aktivität wird ausgelöst durch ein inneres Defizit, wie Hunger, Durst oder Frieren. Die Aktivität wird schließlich abgebrochen, wenn die Diskrepanz ausgeglichen ist oder das Tier erschöpft ist (Barnett & Cowan, 1976). Es gibt aber auch Überlegungen, die für ein Individuum die sich bietende Möglichkeit zur freien Exploration als eine emotionale Belohnung an sich zu sehen (Barnett & Cowan, 1976). Exploration ist im Tier ein evolutionär konserviertes Verhalten, da es für das Überleben einer Spezies von großer Bedeutung ist. Die Fähigkeit, die mögliche Risiken in einer neuen Umgebung richtig einzuschätzen und daraufhin eine dementsprechend angemessene Bewältigungsstrategie anzuwenden, ist elementar wichtig für das Überleben eines Tieres (Lima & Dill, 1990). Auf Grund dessen ist exploratives Verhalten, zumindest zum Teil, kontrolliert durch das Streben, eine optimale Balance zwischen Kosten/Nutzen durch ein entsprechendes Verhalten zu erreichen (Augustsson & Meyerson, 2004). Bei der Begegnung mit etwas Neuem wird die Reaktion der Mäuse von zwei miteinander im Widerstreit stehenden Verhaltensweisen beeinflusst, zum einen die Neugierde, das neue Objekt oder Areal zu erkunden, zum anderen, eine mögliche Gefahrensituation zu vermeiden. Das normale Explorationsverhalten einer Maus kann daher durch Angst unterdrückt sein, aber durch die Gabe eines angstlösenden Medikamentes ist es möglich, das Neugierde-Verhalten wiederherzustellen (Crawley et al., 1985; Griebel et al., 1993). Das geht allerdings nur, wenn Angst der auslösende Faktor für das reduzierte Explorationsverhalten ist (Belzung, 1999). Exploration ist ein multidimensionales Verhalten, dass sich in vielen sichtbaren Elementen bei der Maus ausdrückt, z.B. wie sich aufrichten (*rearing*), herumlaufen, klettern, beschnuppern und manipulieren von Objekten (Kelly, 1993; Crawley, 1985). In diesem

Zusammenhang kann *novelty-seeking*, also etwas Neues suchend, als Persönlichkeitsaspekt und ein wichtiger quantitativer Endophenotyp für psychiatrische Erkrankungen sein (Powell et al., 2001).

Die C3H/HeJ Mauslinie (C3H), die für das ENU-Mutagenesis Programm verwendet wurde und auf der die EXR002 Mutantenlinie basiert, ist bisher in Verhaltensstudien nicht so gut dokumentiert worden wie andere Mauslinien. Das mag unter anderem daran liegen, dass diese Mauslinie eine retinale Photorezeptorendegeneration hat, die verursacht wird durch die Mutation in dem Gen *Pde6brd*. Die Tiere erblinden im Adultstadium und sind nur in der Lage, einen hell/dunkel Kontrast wahrzunehmen (Kopp et al., 2000). Sie werden oft in der Krebs-, Immunologie- und kardiovaskulären Forschung verwendet (Jax mice data sheet, Jackson Laboratories, USA). C3H Mäuse zeigen in räumlich-visuellen Tests meist schlechte Ergebnisse, vermutlich wegen ihrer teilweisen Blindheit. Die Leistungen werden aber deutlich besser, wenn sie die Möglichkeit haben, ihre Umgebung taktil mit den Schnurrhaaren zu erforschen (Ammassari-Teule, 1993). In Verhaltensstudien wurden sie als eine emotionale Mauslinie beschrieben (Beuzen & Belzing, 1995; Kopp et al., 1991). Sie wurden auch als ängstlich, wenig explorativ und sensibel gegenüber chronischem Stress charakterisiert (Kopp et al., 1999).

Der mHb Test stellt eine Screening Methode dar, die erlaubt, eine Vielzahl von Verhaltensdimensionen und deren Interaktionen miteinander innerhalb eines einzigen Tests zu erfassen (Ohl et al., 2001; Ohl & Keck, 2003). Der mHb Test wird zweimal in einem Abstand von einer Woche durchgeführt, um zu überprüfen, ob die im ersten Test beobachteten Verhaltensweisen sich im zweiten Test so oder so ähnlich wiederholen und nicht durch die zum Testzeitpunkt herrschenden Umweltfaktoren beeinflusst werden (Binder, 2003). Anschließend an die Phänotypisierung im mHb wurden weitere selektive Verhaltenstests durchgeführt, wie oben beschrieben, um das Verhalten der EXR002-Alpha und der EXR002-Hybrid Mäuse zu validieren. Es wurden mit beiden Mauslinien ein EPM und ein FS Test durchgeführt. Abgeschlossen wurde die Versuchsreihe durch eine pharmakologische Validierung im mHb, wobei die EXR002 Mäuse chronisch mit Paroxetin und die EXR002-Hybrid Mäuse akut mit R121919 behandelt wurden. Paroxetin, ein Selektiver-Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer (*selective-serotonin-reuptake-inhibitor*: SSRI), ist ein weitverbreitetes Medikament für die Behandlung von Depressionen, Zwangsstörungen und Panik Attacken (Christensen et al., 2000). Im Vergleich zu andern SSRI Medikamente hat Paroxetin weniger Nebenwirkungen und wurde schon in einer Reihe von Tierversuchen eingesetzt (Zur Übersicht: Griebel, 1995; Tejani-Butt et al., 2003; Landgrebe et al., 2002).

R121919 (Janssen, Beerse, Belgien) ist ein selektiver CRH-R1 Antagonist. In früheren Studien konnte gezeigt werden, dass R121919 bei extrem ängstlichen Ratten bereits in niedriger Dosierung die Angstsymptome reduziert, bei hohen Dosen sogar ganz verschwinden lässt (Keck et al., 2001).

1. 5. ZIELSETZUNG

Im Tiermodell wurde im Gegensatz zur klinischen Forschung die Bedeutung von kognitiven Effekten bei Depressionserkrankungen bisher zu wenig Beachtung geschenkt. Da für die klinische Relevanz eines Tiermodells für Depression wichtig ist die kognitiven Systeme zu kennen, sollte im ersten Teil der Arbeit untersucht werden, in wie weit Verhaltenscharakteristika der Maus, die als Angst- bzw. Depressions-ähnlich interpretiert werden, auf kognitiven Prozessen beruhen.

Hierfür wurden zwei Mauslinien verwendet, die in der Literatur weitreichend beschrieben sind. Die Revalidierung der bekannten Verhaltenstests sollte als Basis dienen, um ein neues Mausmodell für Depression zu überprüfen.

Mit Hilfe des muskarinen Rezeptor-Antagonist Skopolamin sollte die Interaktion von kognitiven und emotionalen Prozessen bei den beiden Mauslinien DBA und BL6 überprüft werden und in wie weit sich diese Manipulation auf das Angstverhalten der Tiere auswirken würde. In den selektiven Verhaltenstests mHb, EPM und Forced-swim Test sollten die beiden Mauslinien einander gegenüber gestellt werden und deren Reaktionen durch die Gabe einer akute Skopolamin- oder Vehikel-Behandlung analysiert werden.

Im zweiten Teil der Arbeit sollte ein neues Mausmodell für depressives Verhalten verhaltensneurobiologisch charakterisiert und verhaltenspharmakologisch validiert werden. Die rezessive EXR002-Alpha Mauslinie, deren Explorationsverhalten im mHb reduziert war, wurden durch selektive Zucht erhalten, wobei die Nachkommen im mHb verhaltensphänotypisiert wurden, um die Penetranz und Stabilität des Phänotyps über mehrere Generationen zu untersuchen. In weiteren selektiven Verhaltenstests, wie dem EPM und dem Forced-swim Test, sollte überprüft werden, in wie weit sich der besondere Phänotyp der EXR002-Alpha Mäuse unter anderen Versuchsbedingungen ausprägt. Die physiologische Stressreaktion sollte sowohl auf neuronaler Ebene mittels eines CRH mRNA Nachweises im PVN und der Amygdala, als auch auf hormonaler Ebene durch eine Analyse der ACTH und

Corticosteron Konzentration im Blut ermittelt werden. Abschließend sollte mittels einer pharmakologischen Behandlung durch ein Antidepressivum die klinische Relevanz dieses Tiermodells im mHb überprüft werden.

2. MATERIAL UND METHODEN

2. 1. VERSUCHSTIERE UND HALTUNG

Für die kognitiven Versuche wurden männliche, naive Mäuse der Stämme DBA/2OlaHsd (DBA) und C57BL/6J0laHsd (BL6) aus der Zucht der Harlan Winkelmann GmbH (Borchheim, Deutschland) verwendet. Das Alter der Tiere lag bei Versuchsbeginn zwischen acht und zehn Wochen. Nach der Anlieferung wurden alle Tiere eine Woche lang in dem Raum habituiert, in welchem später auch die Versuche stattfanden. Der Versuchsraum befand sich im Tierstall des Max-Planck-Instituts (MPI) für Psychiatrie in München. Alle Tiere wurden einzeln in Plexiglaskäfigen (30 x 20 x 14 cm) unter Standardbedingungen gehalten (12 Stunden hell-dunkel Zyklus, Licht an um 6:00 Uhr, Beleuchtungsstärke ca. 50 Lux, 22±2°C Raumtemperatur, 60±5 % Luftfeuchtigkeit, Wasser und Futterpellets (Altromin 1314, Lage, Deutschland) *ad libitum*). Ein Käfigwechsel mit frischem Streu fand einmal pro Woche jeweils an demselben Wochentag statt.

Die EXR002 Mauslinien für die Untersuchung des Explorationsverhaltens wurden im Max-Planck-Institut für Psychiatrie (München) gezüchtet und getestet. In den Zuchträumen des Max-Planck-Instituts wurden die Mäuse in Plexiglaskäfigen (30 x 20 x 14 cm) in Geschwistergruppen von maximal 5 gleichgeschlechtlichen Tieren gehalten. Bei verpaarten Mäusen verblieben die Jungtiere bis zum Alter von 3 Wochen bei der Mutter und wurden dann abgesetzt. Es herrschten dieselben standardisierten Haltungsbedingungen wie oben beschrieben. Es wurden, bis auf eine Ausnahme, keine weiblichen Mäuse in den Versuchen verwendet, da der viertägige Östrus Zyklus bei den Weibchen zu einem Zyklus-abhängigen Verhalten führt.

2. 2. DIE ZUCHT DER EXR002 MAUSLINIEN

2. 2. 1. Die EXR002-Alpha Mauslinie

Die EXR002-Alpha Zucht basiert auf einer C3HeB/FeJ (C3H) Maus, die als *founder* der Zuchtlinie bezeichnet wird. Sie entstammt ursprünglich dem ENU Projekt, das im Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit (GSF, Neuherberg) durchgeführt wurde. Die Tiere entstammten Stammlinien von C3HeB/FeJ und C57BL/6J (BL6) Mäusen aus den Jackson Laboratorien (Bar Harbor, Maine, USA; 1996). Bei einer Verhaltensphänotypisierung

im mHb wurde ein Profil definiert, das, basierend auf den im mHb darstellbaren Charakteristika, einen depressions-ähnlichen Verhaltensphänotyp bei der Maus am besten darstellt. Die Stammutter der EXR002 Linie, die bei der Verhaltensphänotypisierung im mHb identifiziert wurde, wurde mit einem Wildtyp Männchen verpaart. Die Nachkommen, die F1 Generation, wurden Geschwister-verpaart. Die Nachkommen dieser Geschwisterverpaarung (G1) wurden wiederum im mHb verhaltensphänotypisiert. Die Mäuse (G1), die im initialen mHb Test und in einem weiteren Test im mHb, dem Konfirmationstest, signifikant abweichendes Verhalten zeigten, wurden wiederum miteinander verpaart. Auf deren Nachwuchs (G2) basiert die EXR002 Zucht, die für diese Studien verwendet wurden. Als Kontrollgruppe wurden C3HeB/FeJ Wildtyp Mäuse (C3Hwt) verwendet, die aus der GSF Zucht stammten, und im MPI für Psychiatrie gemeinsam mit den EXR002-Alpha Mäusen gezüchtet wurden.

2. 2. 2. Die Zucht der EXR002 Hybrid Mauslinie

Die EXR002-Hybriden Zucht entstammt einer Verpaarung eines EXR002 *founder*-Weibchens mit einem C57BL/6J Männchen (GSF). Deren Nachkommen wurden Geschwisterverpaart. Der Nachwuchs dieser Hybrid-Verpaarung wurde im mHb verhaltensphänotypisiert. Diejenigen Mäuse, die im initialen mHb und im mHb Konfirmations-Test signifikant abweichende Werte zeigten, wurden für weitere selektive Tests ausgewählt. Parallel wurde eine C3H/BL6 Wildtyp Zuchtlinie (C3H/BL6wt-Hybriden) als Kontrollgruppe gezüchtet, die auf dem selben Zuchtschema wie die EXR002-Hybrid Mäuse basiert. Eine weibliche C3Hwt Maus wurde mit einem BL6 Männchen, die beide aus der GSF Zucht stammten, verpaart. Deren Nachkommen wurden wie die EXR002 Hybrid Mäuse weiterverpaart. Die C3H/BL6wt-Hybrid Linie wurde gemeinsam mit den EXR002-Hybrid Mäusen unter denselben Haltungsbedingungen im MPI für Psychiatrie gezüchtet. Von dieser Zuchtlinie wurden für einen Versuch auch weibliche Mäuse verwendet (siehe: 3. 2. 7. Versuch 2g: Forced swim Test nach Porsolt (1977))

2. 3. DIE VERHALTENSTESTS

2. 3. 1. Das modifizierte hole board (mHb)

Der für die Verhaltensphänotypisierung verwendeten Test stellte eine Kombination aus zwei selektiven Verhaltenstests, dem *open field* und dem *hole board* dar. Das klassische *hole board*

ist primär ein Test zur Untersuchung des explorativen Verhaltens von Nagern (File & Wardill, 1975), während das *open field* die Lokomotion bei Nagetieren untersucht (Kelley, 1993). Eine modifizierte Version des *hole board* wurde entwickelt, um die kognitiven Eigenschaften von Tupajas zu analysieren (Ohl et al., 1998; Ohl & Fuchs, 1999). Später wurde diese Version weiter modifiziert und als komplexer, ethologischer Test (*modified hole board*) für Nagetiere etabliert (Ohl et al., 2001a,b).

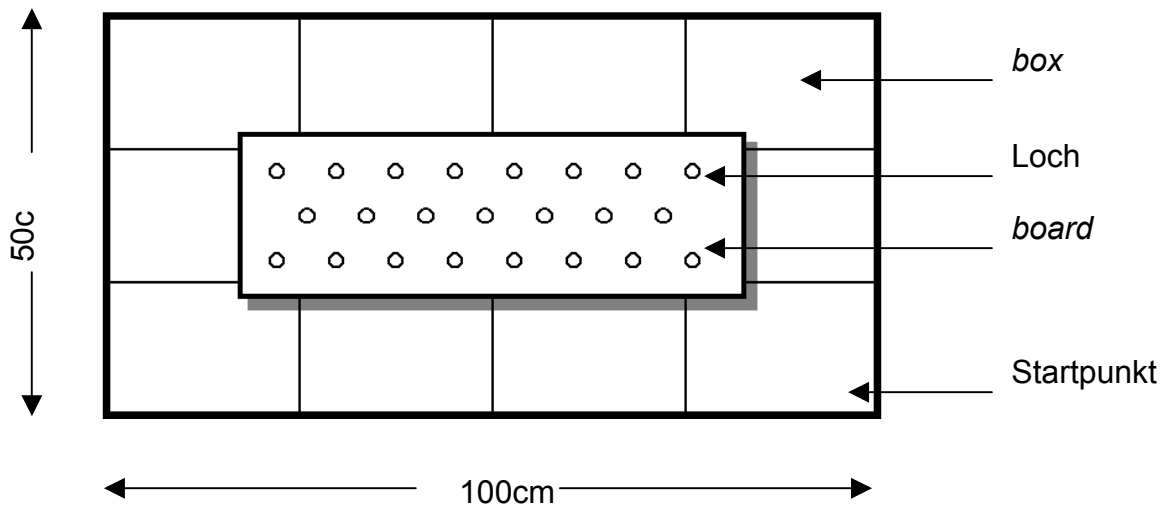


Abbildung 1: Schematische Darstellung des mHb.

Das *board* bestand aus einem grauen PVC Brett (60 x 20 x 1 cm) mit 23 gebohrten Löchern (\varnothing 1,5 x 0,5 cm), die jeweils versetzt zueinander in 3 Reihen angeordnet waren (Abbildung 1). Alle Löcher waren mit einem auf dem mHb befestigten Deckel aus identischem PVC bedeckt. Die Deckel ließen sich von einer Maus leicht zur Seite drehen und erlaubten dem Tier dann freien Zugang zu dem darunter liegenden Loch. Das *hole board* befand sich in der Mitte einer grauen PVC *box* (150 x 50 x 50 cm) und repräsentierte somit den zentralen Bereich dieser *box*. Der Boden war mit hellgrauem Klebeband (0,5 cm breit) in zwölf Rechtecke (25 x 17 cm) unterteilt. Ein Drittel des Versuchsareals wurde mit einer durchsichtigen Wand aus PVC abgetrennt, die durch 120 Löcher flächendeckend in Reihen angeordnet durchbrochen waren. Dieser kleinere Teil der *box* (50 x 50 x 50 cm) diente als Gruppenkompartiment für die nicht am Versuch teilnehmende soziale Gruppe eines Heimkäfigs (Abbildung 2). Durch diese Maßnahme konnte das Versuchstier in olfaktorischem und visuellem Kontakt mit seiner sozialen Gruppe treten, was zu einer Stressreduzierung für das Versuchstier während der Testsituation beitrug.

Alle Versuche wurden vormittags zwischen 8:00 – 12:00h durchgeführt. Während des Testdurchlaufes wurden die Parameter mit einem PC Programm (Observer 3.0, Noldus, Wageningen, Holland) aufgezeichnet. Zusätzlich wurden die Versuche mit einer Videokamera aufgezeichnet.

Während eines Versuchsdurchganges wurden verschiedene Parameter gemessen und entsprechend der Kategorisierung in früheren Arbeiten (Ohl et al., 2001a, b) bestimmten Verhaltensdimensionen zugeordnet.

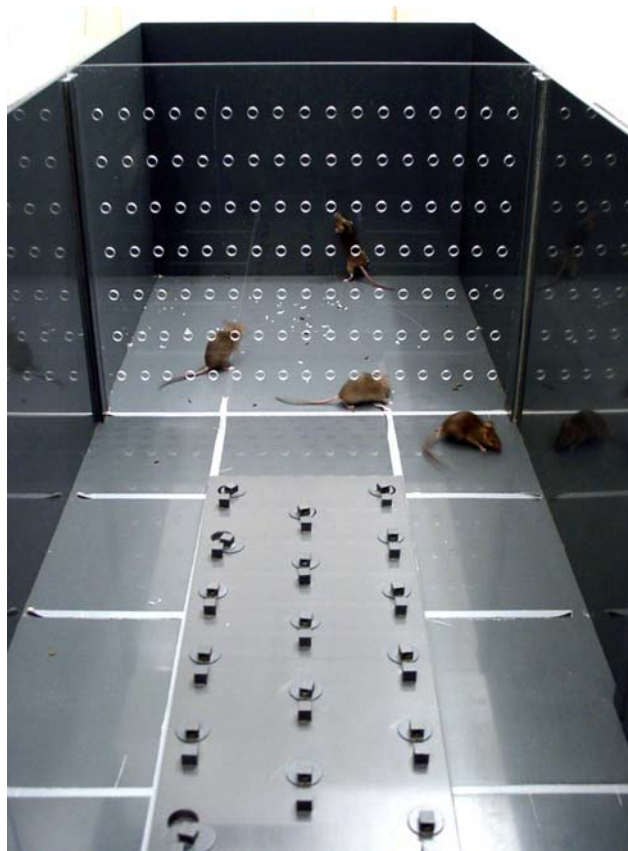


Abbildung 2: modified hole board

2. 3. 1. 1. Verhaltensparameter

Angstverhalten:

Mäuse zeigen bei der Exploration eines für sie neuen Areals artspezifische Verhaltensmuster, wie z.B. ein Vermeidungsverhalten gegenüber offenen Flächen, welches als Angst interpretiert wird (Crawley, 1981). Ebenso bevorzugen Mäuse es, in einer unbekanntem Umgebung an den Wänden entlang zu laufen (Thigmotaxis), d.h. in einer geschützten

Situation zu bleiben und erst später die freien Flächen zu explorieren (Crawley, 2000). Im mHb wird das ungeschützte Areal durch das *board* als zentralem Bereich der *box* definiert. Entsprechend wurden in den Versuchen folgende Parameter als Indikatoren für Angstverhalten gemessen bzw. berechnet:

-> Zeit in Prozent, während der sich ein Tier mit mindestens 2 Beinen und dem Kopf auf dem *board* befindet (*Zeit % board*).

-> Latenz bis zum ersten Betreten des *boards* (*Latenz board*).

-> Anzahl der Eintritte auf das *board* (*Eintritte board*).

Ebenfalls dem Angstverhalten zugeordnet wird die vorsichtige Exploration der unmittelbaren Umgebung, bei der das Tier eine nach vorne gerichtete und völlig durchgestreckte Körperhaltung einnimmt zur vorsichtigen Exploration des näheren Umfeldes. Dieses Verhalten wird als *stretched attends* bezeichnet und innerhalb des Angstverhaltens spezifisch als Risikoabschätzung eingestuft (Rodgers & Johnson, 1996).

-> Anzahl des Auftretens der durchgestreckten Körperhaltung (*stretched attends*).

Exploration:

In bezug auf Exploration kann zwischen gerichteter und ungerichteter Exploration unterschieden werden. Als gerichtet wird dabei die Exploration definierter Objekte betrachtet (File & Wardill, 1975). Im mHb wurde die Exploration von Löchern und das Hineinstecken der Nase in ein Loch als gerichtete Exploration gewertet. Die ungerichtete Exploration der Umgebung in Form des Aufrichtens des Oberkörpers und des Sitzens auf den Hinterbeinen, das sogenannte *rearing*, wird als Indikator für eine generelle, ungerichtete Exploration verstanden. Bei den gemessenen Parametern im mHb Test wurde entsprechend unterschieden.

Gerichtete Exploration:

-> Anzahl der explorierten Löcher (*explorierte Löcher*).

-> Latenz bis zur ersten Exploration eines Loches (*Latenz Loch*).

Ungerichteter Exploration:

-> Anzahl der *rearings* in der *box* (*rearing box*).

Lokomotion:

Jedes sichtbare Verhalten eines Tieres basiert auf Bewegung (Lokomotion) oder deren Abwesenheit (Lister, 1987). Während eines Versuchsdurchlaufes muss daher jeder Parameter in Bezug zur Lokomotion gesetzt werden. Die lokomotorische Aktivität wurde anhand von drei Parametern gemessen:

-> Linienübertritte (*Linienübertritte*).

-> Latenz bis zum ersten Linienübertritt (*Latenz Linienübertritt*).

-> Zeit in Prozent der vollständigen Bewegungslosigkeit (*% Immobilität*).

Physiologische Erregung:

Die physiologische Erregung eines Tieres zeigt sich in dem Absetzen von Kotbällchen (Flint et al. 1995) und dem Reinigen des eigenen Fells (*grooming*) (Ammassari-Teule et al., 1994; To et al., 1999; Choleris et al., 2001). Entsprechend wurden folgende Parameter erfasst:

-> Anzahl der Kotbällchen (*Defäkation*).

-> Latenz bis zum ersten *grooming* (*Latenz grooming*).

-> Zeit in Prozent des *grooming* während des Versuches (*% grooming*).

Objekterkennung:

Frühere Studien konnten zeigen, dass eine Maus sich mehr für ein unbekanntes als für ein bekanntes Objekt interessiert. Demzufolge kann man die längere Exploration eines unbekanntes Objektes in Relation zu dem bekannten Objekt als Indiz für eine Gedächtnisleistung betrachten (Spreng et al., 2001; Ennaceur & Delacour, 1988; Zhu et al., 1996; Brown & Aggelton, 2001; Misslin, 1981). Ein unbekanntes Objekt stellt jedoch auch einen aversiven Reiz dar und so ist die Latenz bis zur ersten Exploration des unbekanntes

Objektes, im Vergleich zu der Latenz des bekannten Objektes, meist vergrößert. Zur Erfassung der Objektwiedererkennung wurden folgende Parameter erfasst:

-> Anzahl, wie oft ein bekanntes oder unbekanntes Objekt besucht wurde (Anzahl *bekanntes/unbekanntes Objekt*).

-> Latenz bis zum ersten Besuch eines bekannten oder unbekanntes Objektes (Latenz *bekanntes/unbekanntes Objekt*).

-> Zeit in Prozent, die die Maus mit dem bekannten oder unbekanntes Objekt verbringt (% *bekanntes/unbekanntes Objekt*).

Soziale Affinität:

Im mHb Test wird das basale Verhalten einer Maus untersucht, daher sollte der Stress für das Tier so gering wie möglich gehalten werden. Während des Versuchsdurchlaufes im mHb ist es dem Tier daher ermöglicht, den Kontakt mit seiner sozialen Gruppe aufrecht zu erhalten. Die Zeit, die eine Maus in Kontakt mit seiner sozialen Gruppe verbringt, wurde als Indikator für soziale Affinität gewertet (Ohl et al., 2001c). Folgende Parameter wurden dafür erfasst:

-> Latenz bis zum ersten Kontakt mit der sozialen Gruppe (Latenz *Gruppe*).

-> Zeit in Prozent, die die Maus an der durchsichtigen Trennwand mit sozialem Kontakt verbrachte (% *Gruppe*).

2. 3. 2. Der Forced swim Test

Das „erzwungene Schwimmen“ gilt als Test für Depressions-ähnliches Verhalten in Form von *behavioral despair* und kombiniert einen physischen mit einem psychischen Stressor. Die Mäuse mussten dabei für 5 Minuten in einem 2L Becherglas (Ø 14 cm) schwimmen, das bis zu einer Höhe von 15 cm mit 25°C warmen Leitungswasser gefüllt war. Die Mäuse hatten dabei keine Berührung zum Boden des Becherglases oder die Möglichkeit, aus dem Glas zu klettern (Abbildung 3). Das Wasser im Becherglas wurde nach drei Versuchsdurchgängen gewechselt. Um den Grad der Wasserverschmutzung für alle Versuchstiere in etwa gleich zu belassen, wurde nur ein Teil des verschmutzten Wasser ausgegossen und dann mit frischem

Wasser nachgefüllt. Es wurde in den folgenden Versuchen ein *Forced swim* Test nach Porsolt angewandt (Porsolt et al., 1977), bei dem mit jedem Versuchstier zwei Forced swim Tests durchgeführt wurden, die mit einem Zeitabstand von 24h durchgeführt wurden. Nach Versuchsende wurden die Mäuse kurz abgetrocknet, anschließend wurde ihnen für eine spätere Corticosteron Analyse Blut aus dem Schwanzende abgenommen. Nach dem ersten Versuchstag des *Forced swim* Test wurden die Versuchstiere in ihre Heimkäfige zurückgesetzt. Am zweiten Versuchstag wurden sie sofort nach der Schwanzblut-Abnahme getötet und dekapitiert um Torakalblut und Hirne zu gewinnen.

Alle Versuche wurden vormittags zwischen 8:00 – 12:00h durchgeführt. Während des Testdurchlaufes wurden drei Parameter mit einem PC Programm (Observer 3.0, Noldus, Wageningen, Holland) aufgezeichnet.

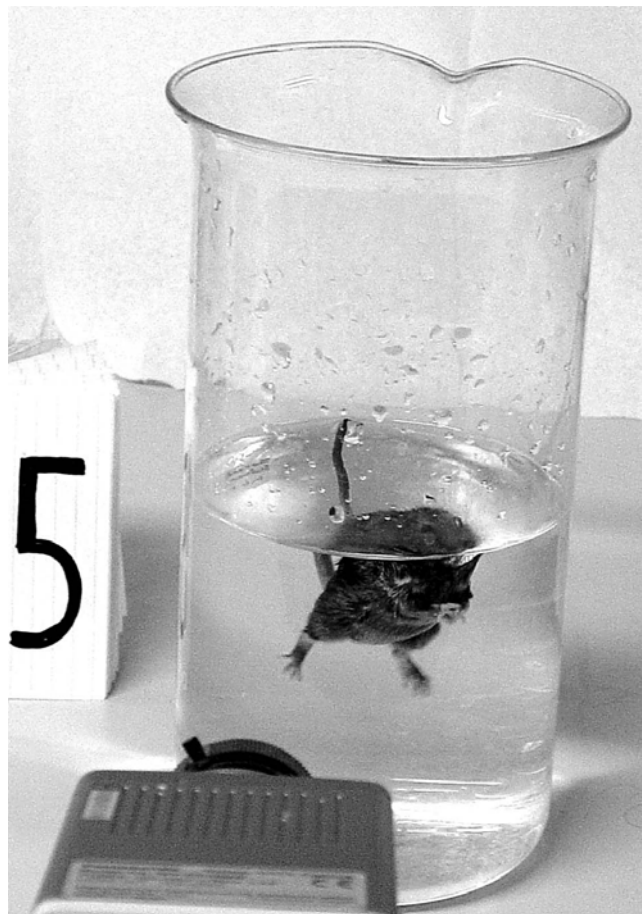


Abbildung 3: Forced swim Test

2. 3. 2. 1. Verhaltensparameter

Struggling:

Das *struggling* zeigt sich als heftige, stoßweise Bewegung mit allen vier Pfoten, wobei sich die Vorderpfoten der Maus an der Glaswand des Becherglases aus dem Wasser erheben, um dort Halt zu finden. Dieses Verhalten ist der aktive Versuch, der Situation zu entkommen (Cryan et al., 2002).

-> Anzahl der *struggle* (*struggling*).

-> Latenz bis zum ersten *struggling* (Latenz *struggling*).

-> Zeit in Prozent des *struggling* im Versuch (% *struggling*).

Swimming:

Bei diesem Verhalten führt die Maus eine normale, vorwärts gerichtete Schwimmbewegung aus, bei der die Hinterpfoten ein gleichmäßiges Schwimmen zeigen (Cryan et al., 2002).

-> Anzahl des Schwimmens (*swimming*).

-> Latenz bis zum ersten Schwimmen (Latenz *swimming*).

-> Zeit in Prozent des Schwimmens im Versuch (% *swimming*).

Floating:

Die Maus läßt sich ruhig im Wasser treiben und nutzt hier den körpereigenen Auftrieb. Der Kopf bleibt über Wasser und leichte Bewegungen einzelner Pfoten dienen zur Aufrechterhaltung der Balance im Wasser (Cryan et al., 2002).

-> Anzahl des *floating* (*floating*).

-> Latenz bis zum ersten *floating* (Latenz *floating*).

-> Zeit in Prozent des *floating* im Versuch (% *floating*).

2. 3. 3. Der Elevated Plus-Maze Test (EPM)

Das *Elevated Plus-Maze* Test (EPM) ist einer der häufigst verwendeten Angsttests, der sowohl für Ratten (Pellow et al., 1985) als auch für Mäuse (Lister, 1987) validiert ist. Mit dem EPM wird die natürliche Aversion von Nagern gegenüber offenen, exponiert erhöhten Plätzen, welche in Konflikt steht zu ihrer Neugierde, unbekannte Areale zu explorieren, genutzt um ihr Angstverhalten zu messen. Zahlreiche frühere Studien konnten zeigen, dass angstlösende Medikamente die Zeit erhöhten, die eine Maus auf dem offenen Areal verbrachte, während Angst-auslösende Medikamente das Gegenteil bewirkten (Pellow et al., 1985; Korte & De Boer, 2003).

Das EPM bestand aus zwei kreuzförmig angeordneten, gleichlangen Armen (60 x 10 x 0,5 cm) aus grauem Plexiglas, die durch eine Plattform (10 x 10 cm) in der Mitte des Kreuzes verbunden waren. Zwei sich gegenüberliegende Arme waren durch durchsichtige Plexiglaswände (h: 25 cm) seitlich und am Ende des Armes eingefasst und stellten den „geschlossenen Arm“ dar. Die anderen beiden „offenen Arme“ ragten frei und ohne Begrenzung in den Raum. Das Kreuz des EPM war auf einem Ständer von 70 cm Höhe montiert (Abbildung 4).

Das Versuchstier wurde zu Beginn des Versuches auf die Plattform in der Mitte des Kreuzes gesetzt mit Blickrichtung zwischen den offenen und geschlossenen Arm. Die Maus hatte 5 Minuten Zeit, alle Arme zu explorieren. Alle Versuche wurden vormittags zwischen 8:00 – 12:00h durchgeführt. Der Test wurde von mir aufgezeichnet und in einem PC Programm (Observer 3.0, Noldus, Wageningen, Holland) eingegeben, gleichzeitig wurde der Versuch auf Videoband aufgezeichnet.

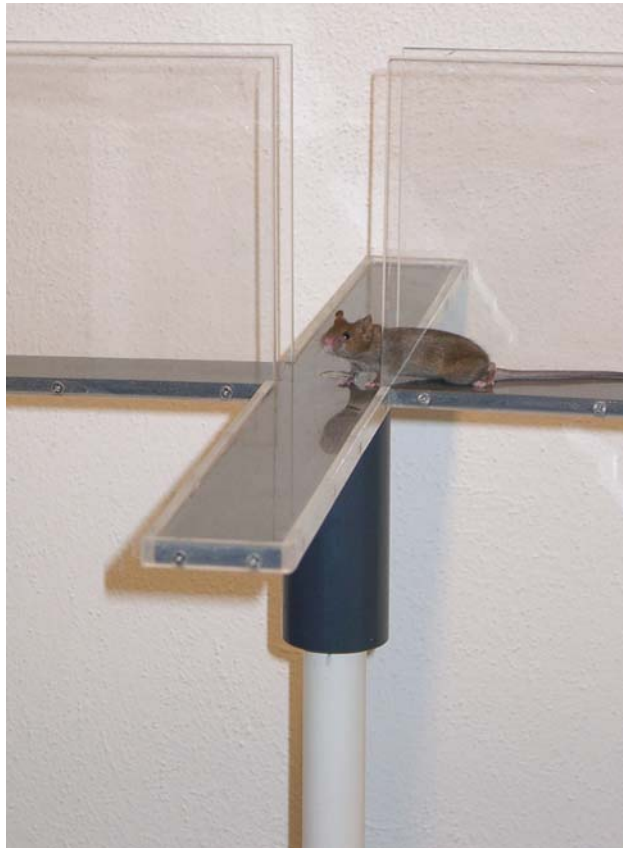


Abbildung 4: Elevated Plus-Maze

2. 3. 3. 1. Verhaltensparameter

Angstverhalten:

Als Betreten der Arme oder der Plattform wurde gewertet, wenn die Maus mit zwei Vorderpfoten, Kopf und Schultergürtel den Bereich betrat (Hogg, 1996). Für die Testauswertung wurde auch ermittelt, wann und wie oft sich die Mäuse im Endbereich des jeweiligen Armes aufgehalten haben (Tompkins et al., 1990).

-> Anzahl der Entritte in den offenen Arm (Eintritt *offener Arm*).

-> Latenz bis zum ersten Eintritt auf den offenen Arm (Latenz *offener Arm*).

-> Zeit in Prozent auf dem offenen Arm (*% offener Arm*).

-> Anzahl der Entritte in den geschlossenen Arm (Eintritt *geschlossener Arm*).

-> Latenz bis zum ersten Eintritt in den geschlossenen Arm (Latenz *geschlossener Arm*).

-> Zeit in Prozent auf dem geschlossenen Arm (*% geschlossener Arm*).

-> Anzahl der Eintritte in das Ende des geschlossenen Armes (Eintritt *Ende geschlossener Arm*).

-> Latenz bis zum ersten Betreten des Endes des geschlossenen Armes (Latenz *Ende geschlossener Arm*).

-> Anzahl der Eintritte in das Ende des offenen Armes (Eintritt *Ende offener Arm*).

-> Latenz bis zum ersten Betreten des Endes des offenen Armes (Latenz *Ende offener Arm*)

Risikoabschätzung:

Die vorsichtige Exploration der unmittelbaren Umgebung, bei der das Tier eine nach vorne gerichtete und völlig durchgestreckte Körperhaltung einnimmt, wie für das mHb beschrieben, zeigt sich ebenso im EPM. Dieses Verhalten wird als *stretched attends* bezeichnet und innerhalb des Angstverhaltens spezifisch als Risikoabschätzung eingestuft. Auf dem offenen Arm zeigt sich das Risikoverhalten durch das Hinunterblicken (*head dip*) der Tiere über den Rand des Armes (Rodgers & Johnson, 1996).

-> Latenz bis zum ersten *risk assessment* (Latenz *risk assessment*).

-> Anzahl der *risk assessments* (*risk assessment*).

-> Latenz bis zum ersten *head dip* (Latenz *head dip*).

-> Anzahl der *head dip* (*head dips*).

Exploration:

Das Explorationsverhalten drückt sich im geschlossenen Arm durch Aufrichten auf beide Hinterbeine (*rearing*) aus (Almeida et al., 1996).

-> Latenz bis zum ersten *rearing* (Latenz *rearing*).

-> Anzahl der *rearings* (*rearings*).

Lokomotion:

Die Lokomotion gibt die Aktivität der Tiere an. Gemessen wird sie an der Anzahl der Übertritte zwischen den Armen und der Plattform (Korte & De Boer, 2003).

-> Anzahl der Übertritte über die Plattform (Eintritt *Plattform*).

Physiologische Erregung:

Wie auch im mHb zeigt sich die physiologische Erregung einer Maus im EPM in dem Absetzen von Kotbällchen (Flint et al., 1995) und dem Reinigen des eigenen Fells (*grooming*) (Ammassari-Teule et al., 1994; To et al., 1999; Choleris et al., 2001).

-> Anzahl der Kotbällchen (*Defäkation*).

-> Latenz bis zum ersten *grooming* (Latenz *grooming*).

-> Zeit in Prozent des *grooming* während des Versuches (% *grooming*).

2. 4. PHARMAKOLOGISCHE BEHANDLUNG VON VERSUCHSTIEREN

2. 4. 2. R121919

Zur pharmakologischen Validierung der EXR002-Hybrid Mäuse im mHb wurde R121919 (3-phenyl pyrazolo-pyrimidin) verwendet. R121919 (Janssen, Beerse, Belgien), auch bekannt als NBI30775, ist ein spezifischer, nicht-peptidreger CRH1 Rezeptor Antagonist (Johnson & Johnson, Beerse, Belgien), der bereits in Human Studien angewendet wurde (Zobel et al., 2000). In Tierstudien konnte gezeigt werden, dass R121919 bei extrem ängstlichen Ratten die Angstsymptome reduzierte (Keck et al., 2001. Post et al., 2005) In einer Studie mit Mäusen konnte der anxiolytische Effekt von R121919 unter basalen Bedingungen ebenfalls nachgewiesen werden (Post et al., 2005). Für den Versuch wurde das wasserlösliche Salz des Antagonisten verwendet und in Wasser gelöst den Tieren 30 Minuten vor Versuchsbeginn oral verabreicht. Zur Behandlung wurde basierend auf dem durchschnittlichen Körpergewichtes der Mäuse (ca. 25 g) eine Dosis von 1 mg/kg Körpergewicht berechnet.

2. 4. 2. Skopolamin

Skopolamin oder auch Hyoscin ($C_{17}H_{21}NO_4$, Sigma-Chemie, Deutschland) ist ein muskariner Rezeptor Antagonist, der bei Mäusen zu Amnesie und Einschränkungen des Gedächtnisses führt (Naveen & Kohli, 2003). In Wasser gelöst wurde 5 mg/kg Körpergewicht Skopolamin den Mäusen 30 Minuten vor Versuchsbeginn oral verabreicht. Das Skopolamin wurde in Wasser gelöst. Die Lösung wurde mit Schokoladen Aroma (Schokoladen-Aroma, in Wasser gelöst (0,02 %); Micro-Plus, Stadtoldendorf, Deutschland) versetzt. Als Träger der Lösung wurden grobe Haferflocken verwendet, die maximal 0.05 ml der Lösung aufsaugen konnten. Entsprechend des individuellen Körpergewichtes der Mäuse wurden eine festgelegte Menge der Lösung auf eine Haferflocke gegeben, die der Maus am nächsten Tag zum Fressen gegeben wurde. Um die Tiere an die Futtergabe zu gewöhnen, wurde den Mäusen an den zwei Tagen vor dem Versuchstag jeweils eine Haferflocke mit Schokoladengeschmack angeboten. Eine Skopolamin Behandlung wurde bei den Verhaltenstests mHb, Forced swimming und EPM angewandt.

2. 4. 3. Paroxetin

Paroxetin (Paxil, PAX, Paroxetin HCl hemihydrat, GlaxoSmithKline, Worthing, Westsussex, England, UK) ist ein selektiver-Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer (selective serotonin reuptake inhibitor, SSRI) indem er an den 5-HT (5-hydroxy-tryptamine) Transporter bindet. Paroxetin hat in hohen Dosen einen schwächeren Effekt auf die neuronale Wiederaufnahme von Dopamin und Noradrenalin (Nibuya et al., 1996. Chen et al., 2001). Das Medikament wird bei Patienten zur Behandlung depressiver Erkrankungen, bei Zwangsstörungen und Panikerkrankungen angewendet. In verschiedenen Studien mit chronischer Paroxetin Behandlung konnte eine anxiolytische Wirkung nachgewiesen werden (Griebel, 1995). Zu den bekannten Nebenwirkungen des Medikamentes beim Menschen gehören u.a. Gewichtszunahme. Den Mäusen wurde 20 mg/kg Körpergewicht Paroxetin für 21 Tage chronisch mit dem Trinkwasser in speziellen Trinkflaschen (Mouse Drinking Bottle, Caldex LTP Halifax), die lichtundurchlässig verpackt waren, verabreicht. Um die Mäuse an die neuen Trinkflaschen zu gewöhnen, bekamen die Tiere die Flaschen 3 Tage vor Behandlungsbeginn mit reinem Trinkwasser. Das Paroxetin wurde in Wasser gelöst und entsprechend dem individuellen Körpergewicht jeder Maus wurde eine festgelegte Menge der Stammlösung Paroxetin einem abgemessenen Volumen Trinkwasser zugefügt. Der tägliche Trinkwasserbedarf eines jeden Tieres war vorher ermittelt worden. Die Trinkflaschen wurden

abends, zu Beginn der Aktivphase der Mäuse, an die Käfige gehängt. Zu Beginn und am Ende der chronischen Behandlung wurden die Mäuse gewogen.

2. 5. PHYSIOLOGISCHE PARAMETER

2. 5. 1. Paroxetin Blutproben

Zur Überprüfung, ob durch das Trinkwasser eine ausreichende Paroxetin Aufnahme gewährleistet war, wurde nach Versuchsende das Blutplasma der behandelten Mäuse auf dessen Paroxetiningehalt gemessen. Es wurden solche Proben verwendet, bei denen genügend Plasma für eine Analyse zur Verfügung stand (150-200 µl). Die Plasma Analyse wurde in den Labors der AG Uhr (MPI für Psychiatrie, München) durchgeführt, mit freundlicher Unterstützung durch Dr. Manfred Uhr.

2. 5. 2. Gehirnentnahme und Aufbewahrung

Für die Gehirnentnahme wurden die Mäuse unmittelbar nach Versuchsende in einen anderen Raum gebracht und dort mit Isofluran (Curamed Pharma, Karlsruhe, Deutschland) kurz anästhesiert und sofort dekapitiert. Das vollständige Gehirn wurde in weniger als 2 Minuten aus der Schädelkalotte heraus präpariert und in gekühltes 2-Methylbutan (-30° bis -40°C; Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland) mit Trockeneis schockgefroren. Die tiefgekühlten Gehirne wurden bis zur Weiterverarbeitung bei -80°C gelagert.

2. 5. 3. Blutentnahme

Für die Gewinnung von Torakal Blut wurde nach der Dekapitation der Maus das Blut in einem eisgekühlten, mit EDTA (Ethylendiamintetraacetat) beschichteten, Röhrchen (KABE Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Eisenroth), die mit 5 µl Trasylol (Bayer, Leverkusen, Deutschland) versetzt worden waren, aufgefangen und auf Eis gelagert. Bei der Entnahme von Blut aus der Schwanzspitze der Mäuse wurde die Schwanzspitze abgeschnitten (ca. 5 mm) und maximal 400 µl Blut in einem EDTA Gefäß, wie oben beschrieben, aufgefangen. Für die Corticosteron (Cort) und Adreno-Corticotropes-Hormon (ACTH) Bestimmung im Blutplasma wurde das gewonnene Blut daraufhin bei 4°C für 15 min bei 3500 rpm zentrifugiert und das Plasma abgenommen. Davon wurden für die spätere Corticosteron Analyse 10 µl Plasma auf 1,4 ml 1xPBS (Phosphat Buffer Saline) gegeben, das vorgelegt worden war. Der Rest des

Blutplasmas wurde in ein Eppendorf Gefäß pipetiert. Die Plasmaproben wurden bis zur weiteren Analyse bei -20°C aufbewahrt.

2. 5. 4. Radioimmunoassay RIA

Zur quantitativen Bestimmung von ACTH und Cort im Blutplasma der Mäuse wurde ein Radioimmunoassay (RIA) verwendet. Das Plasma Corticosteron wurde mit einem kommerziell bezieharen Radioimmunoassay Kit (ImmuChem Double Antibody Corticosteron, MP Biomedicals Germany GmbH, Eschwege) bestimmt. Ein solches RIA Kit wurde ebenfalls für die Plasma ACTH Bestimmung verwendet (ImmuChem Double Antibody humanes Adrenocorticotropes Hormon (hACTH), ICN Biomedicals GmbH, Eschwege). Der Inter- und Intra-Assay Koeffizient der Varianz lag für ACTH bei 10,7 % und 6,0 %, das Detektionslimit lag bei 2 pg/ml. Für Corticosteron lagen die Varianzkoeffizienten bei 6,5 % und 4,4 % mit einem Detektionslimit bei 0,4 ng/ml. Es wurden alle zu vergleichenden Gruppen eines Experimentes mit derselben Testcharge gemessen.

2. 5. 5. Gehirnschnitte am Kryostat

Für eine CRH und Vasopressin in-situ Hybridisation wurden von den Gehirnen Schnittserien von einer Schnittdicke von 18µm angelegt, die den Bereich des Nukleus Paraventricularis (PVN), Teile des Hippocampus und der Amygdala einschlossen (Atlas Paxinos & Franklin, 2000). Die Schnitte wurden im Kryostaten (Reichert-Jung, 2800 Frigocut E) bei -16°C ohne Vorbehandlung geschnitten und auf Superfrost Plus Objektträger (Super Frost Plus, Menzel Gläser, Merck, Ismaning, Deutschland) aufgezogen. Zum Schutz des Gewebes vor osmotischer Verquellung und Kondenswasserbildung wurden die Objektträger mit den Schnitten auf einer Wärmeplatte (1h, 30°C) entdampft und bis zu ihrer weiteren Verwendung bei -20°C für kurzfristige oder bei -80°C bei längerfristiger Lagerung aufbewahrt.

2. 5. 6. in-situ Hybridisation

Die in-situ Hybridisation diente der Quantifizierung von CRH mRNA in selektiven Hirnregionen mit Hilfe von ³⁵S-UTP markierten Riboproben. Das in-situ Protokoll basiert auf dem Protokoll von Dr. Mathias Schmidt (Schmidt et al., 2002). Für die Herstellung von cRNA-Proben aus der ringförmigen Plasmid-DNS wurde durch eine Restriktionspaltung mit Hilfe spezifischer Restriktionsenzyme das Plasmid linearisiert. Der analytische Standardansatz bestand aus 1 µg Plasmid-DNS, 10 Units Restriktionsenzym (Xba I für Anti-Sense (AS); BanH I für Sense (S)), 1/10 des Gesamtvolumens Restriktionspuffer und sterilem

H₂O. Das Reaktionsgemisch wurde für mindestens 3 h bei 37°C inkubiert. Im Anschluss wurde die DNS präzipitiert. Vorher wurde der Fortschritt bei der Restriktionsspaltung durch eine Gelelektrophorese überprüft, wobei 1 µl der Lösung auf 1%iges Agarosegel aufgetragen wurde (5 µl Smartletter (blau); 7 µl H₂O_{DEPC}; 2 µl Stop-solution (orange) und 1 µl Probe; 90 V; 300 mA; 1 h). Die extrahierte DNS wurde mit 3-fachem Vol 100% reinem Ethanol und 1/10-fachem Vol 3M NaAc pH 5,2 der eingesetzten Menge versetzt. Die Lösung wurde bei –80°C für 30 min präzipitiert und anschließend für 30 min bei 4°C zentrifugiert (13000 rpm). Der Überstand wurde abgegossen und das Pellet wiederum mit 250 µl 70% Ethanol gewaschen und erneut für 15 min bei 4°C zentrifugiert (13000 rpm). Der Überstand wurde verworfen und das Pellet bei 40°C für 20 min getrocknet. Abschließend wurde das Pellet in H₂O bidest (20 µl pro 10 µg DNS) bei 40°C für 10 min gelöst und die gewonnene DNS Konzentration im Photometer gemessen. Dabei wurde 1 µl der Probe mit 99 µl H₂O_{DEPC} gemischt und im geeichten Photometer wurden 100 µl dieser Lösung bei 260 nm Absorption gemessen. Bei der Herstellung der radioaktiv markierten cRNA-Sonde wurden 2 µl 10x Transkriptions-Puffer (1/10 des Gesamtvolumens), 3 µl NTP- Mix (rATP/ rCTP/ rGTP je 10 mM von jedem), 1 µl 0,1 mM UTP, 2 µl 0,1 M DTT, 1 µl Rnasin (=RNase-Inhibitor; 40 U/µl; Promega), 1,5 µl des linearisierten Plasmids, 5 µl ³⁵S-thio-rUTP (MP Biomedicals) und 1 µl T7, T3 oder SP6 RNA Polymerase (20 U/µl) zugefügt. Nach kurzem Zentrifugieren wurde die Probe bei 37°C für 90 min inkubiert. Um das DNS-Template zu zerstören, wurde es mit 1 µl RNase-freier DNase I für 30 min bei 37°C inkubiert. Die Reagenzien wurden bei Roche Molecular Diagnostics, Mannheim, Deutschland, bezogen, außer wenn anders angegeben. Die Aufreinigung der Probe erfolgte mit Hilfe eines RNeasy Mini Kits (Quiagen, Hilden, Deutschland). Die gewonnene Probe wurde durch Liquid-Scintillation (Zinsser Analytics, Frankfurt, Deutschland) im Gamma-Counter (Beckmann LS 6000 IC) bestimmt. Die Hirnschnitte wurden nach ihrem Auftauen kurz in 4% Paraformaldehyd (30 min) fixiert, darauf zwei mal in 1x PBS_{DEPC} gewaschen und mit 0.25% Essigsäure Anhydrid/HCl in 0.1 M Triethanolamin-HCl für 10 min acetyliert. Daraufhin wurden die Schnitte in 2xSSC gewaschen und in einer Ethanol/Chloroform/Ethanol Reihe (70 %; 80 %; 96 %; 100 %; Chloroform; 100 %) dehydriert und staubfrei luftgetrocknet. Die radioaktiv markierten cDNA-Sonde mit dem Hybridisations-Mix (1M Tris HCl; 250 mM EDTA; 5M NaCl; Formamide; 1M DTT; Denhardt's Lösung; DEPC-H₂O; 50 % Dextransulfat; 10 % NTS; 10 % SDS) wurde auf die Objektträger aufgetragen. Die Objektträger wurden mit Deckgläsern bedeckt und bei 55°C über Nacht inkubiert. Auf RNase freies Arbeiten wurde bei allen beschriebenen Schritten geachtet. Am nächsten Tag wurden die Hirnschnitte nach der

Entfernung der Deckgläser vier mal in 2xSSC (5 min) gewaschen und dann mit RNase A (20 mg/L) bei 37°C für 30 min inkubiert. Es folgte eine Waschung mit SSC (5 min 1xSSC bei RT; 10 min 0.5xSSC bei RT; 30 min 0.1xSSC bei 65°C) zur Senkung der Salzkonzentration. Abschließend wurden die Schnitte durch eine Alkohol-Reihe von aufsteigender Konzentration (70 %; 90 %; 96 %; 100 %) dehydriert. Die trockenen Hirnschnitte wurden mit Kodak Biomax MR Film bedeckt (Eastman Kodak Co., Rochester, NY) und der Film nach 12 Tagen Belichtung entwickelt.

2. 5. 7. Einscannen und Auswertung der in-situ Hirnschnitte

Für das Einscannen der Hirnschnitte wurde das Programm ArcSoft Photostudio 5.0 (ArcSoft, Inc., Fremont, USA) und ein Scanner (Canon, CanoScan 9990F, Canon Inc., Tokyo, Japan) verwendet. Als Einstellungsmodi wurde schwarz-weiss DIA Film, Graustufen, 2000 dpi und Format 4x5 gewählt. Die Belichtung wurde vor Scanbeginn kalibriert auf 100% Belichtung. Die Bilder wurden als .tif Dateien abgespeichert. Zur Auswertung der Scans wurde das Programm Scion Image (Scion Image für Windows 2000, Beta 4.02, Scion Corporation, USA) benutzt. Dabei wurde in dem gescannten Bild das zu analysierende Areal (PVN oder Amygdala) und ein Teil des Hintergrundes (HG) markiert und gemessen. Die ermittelten Daten werden nach der Formel: $\text{Mittelwert} = ((\text{PVN links} - \text{HG}) + (\text{PVN rechts} - \text{HG})) / 2$ bestimmt. Dasselbe wurde mit den Ergebnissen der Amygdala durchgeführt.

2. 6. VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

2. 6. 1. Teil 1: Auswirkungen der pharmakologischen Modulation von kognitiven Fähigkeiten auf das Verhalten in Tests für Angst- und Depressionsverhalten

Der Versuch wurde mit den beiden Mauslinien DBA (n=20) und BL6 (n=20) durchgeführt. Nach einer einwöchigen Habituationsphase der Mäuse in dem Versuchsraum wurde jede Mauslinie in 2 Gruppen eingeteilt mit 10 Tieren pro Gruppe. Eine Gruppe wurde mit Skopolamin behandelt und die andere Gruppe bekam eine Vehikel-Lösung. An beiden Versuchstagen, jeweils 30 min vor dem Test, wurde den Mäusen eine präparierte Haferflocke zu fressen gegeben. Eine Testgruppe (n=10) bekam mit Skopolamin behandelte Haferflocken, die andere Gruppe (n=10) mit Wasser (Vehikel) behandelte Haferflocken. Die Mäuse wurden in abwechselnder Reihenfolge von Behandlung und Mauslinie getestet, um eine gleichmäßige Verteilung der vier Mausgruppen über den Versuchszeitraum und herrschenden

Versuchsbedingungen zu gewährleisten. Der Versuch wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt, mit je einem Versuchsdurchgang bei jedem Tier. Unmittelbar anschließend an den Versuch wurden die Mäuse getötet und Blut und Hirne entnommen. Dieser Versuchsablauf wurde bei allen drei Versuchen durchgeführt.

Versuch 1a: Modified hole board mit Skopolamin Behandlung

Mit den beiden Mauslinien DBA (n=20) und BL6 (n=20) wurde ein Test im mHb durchgeführt. Auch hier wurde nach einer einwöchigen Habituationsphase der Mäuse in dem Versuchsraum jede Mauslinie in 2 Gruppen zu je 10 Tieren aufgeteilt und je eine Gruppe jeder Mauslinie wurde mit Skopolamin, bzw. mit Vehikel, behandelt.

Versuch 1b: Elevated Plus-Maze mit Skopolamin Behandlung

Es wurde ein EPM Test mit beiden Mauslinien DBA (n=20) und BL6 (n=20) durchgeführt. Nach einer einwöchigen Habituationsphase der Mäuse in dem Versuchsraum wurde jede Mauslinie in 2 Gruppen zu je 10 Tieren aufgeteilt und je eine Gruppe jeder Mauslinie wurde mit Skopolamin, bzw. mit Vehikel, behandelt.

Versuch 1c: Forced swim Test nach Porsolt (1977) mit Skopolamin Behandlung

Mit den beiden Mauslinien DBA (n=20) und BL6 (n=20) wurde ein Forced swim Test durchgeführt. Es wurde nach einer einwöchigen Habituationsphase der Mäuse in dem Versuchsraum jede Mauslinie in 2 Gruppen zu je 10 Tieren aufgeteilt und je eine Gruppe jeder Mauslinie wurde mit Skopolamin, bzw. mit Vehikel, behandelt. In diesem Versuch wurden mit jedem Tier 2 Testdurchläufe an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt.

2. 6. 2. Teil 2: Charakterisierung eines neuen Mausmodells für Depression

Versuch 2a: Initiale Charakterisierung und Konfirmation der EXR002-Alpha Mäuse

Der Verhaltensphänotyp der EXR002-Alpha Mäuse (n=30) wurde im mHb analysiert und mit C3Hwt Mäusen (n=24) verglichen. Nach einer einwöchigen Habituationsphase der Mäuse in dem Versuchsraum wurde zunächst eine initiale Verhaltenscharakterisierung mit den Tieren durchgeführt. Eine Woche später fand dann ein Konfirmationstest statt, um die Ergebnisse des ersten mHb Testes zu verifizieren. Drei Tage vor einem Verhaltenstest wurde in die Heimkäfige der Mäuse ein viereckiges, pyramidenförmiges Objekt (1 x 1 x 1 cm) aus PVC gelegt, damit sich die Tiere zwei Tage lang damit vertraut machen konnten. Einen Tag vor

dem Verhaltenstest wurde das Objekt wieder entfernt. Das Objekt wurde später im Test als bekanntes Objekt (*bekanntes Objekt*) verwendet. Für den Konfirmationstest wurde dasselbe Objekt nur für einen Tag in die Heimkäfige gelegt und am Tag vor dem Versuch aus dem Käfig genommen. Vor Versuchsbeginn wurden alle Mäuse eines Heimkäfigs für 20 min gemeinsam in das Gruppenkompartiment gesetzt, damit sich die Tiere an die neue Umgebung gewöhnen konnten. Am Beginn eines Versuchsdurchlaufes wurde jeweils eine Maus in eine Ecke des mHb gesetzt (Abbildung 1). In die diagonal gegenüber diesem Startpunkt liegende Ecke wurde je das bekannte Objekt (*bekanntes Objekt*) und in 4 cm Abstand davon ein unbekanntes Objekt (*unbekanntes Objekt*) gelegt. Das *unbekannte Objekt* war im initialen Versuchsdurchlauf ein Messingzylinder (2 x 2 x 1 cm) und im Konfirmationstest ein rotes Dreieck aus Gummi (1,5 x 1,5 x 1,5 cm). Die Versuchsdauer betrug 5 Minuten. Nach jedem Versuchsdurchlauf wurde der Boden der *Box* und das *hole board* mit einem feuchten Lappen abgewischt und mit Zellstoffpapier getrocknet.

Versuch 2b: Elevated Plus-Maze (EPM)

Eine Woche nach dem zweiten mHb Test (Konfirmation) wurde mit einer Gruppe von EXR002-Alpha Mäusen (n=10) und C3Hwt Mäusen (n=14) ein EPM Test durchgeführt. Die Mäuse wurden in abwechselnder Reihenfolge der Mauslinie getestet. Die Tiere wurden unmittelbar anschließend an den Versuch getötet und Blut und Hirne entnommen.

Versuch 2c: Forced swimming nach Porsolt

Der Forced swim Test wurde mit EXR002-Alpha Mäusen (n=7) und mit C3Hwt Mäusen (n=7) durchgeführt. Die Mäuse wurden in abwechselnder Reihenfolge der Mauslinie getestet. Der Versuch wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt, mit je einem Versuchsdurchgang bei jedem Tier pro Tag. Die Mäuse wurden unmittelbar anschließend an den Versuch getötet und Blut und Hirne entnommen.

Versuch 2d: mHb mit Paroxetin Behandlung

Eine Woche nach dem zweiten mHb Test (Konfirmation) wurden die EXR002-Alpha Mäuse (n=8) und C3Hwt Mäuse (n=8) für 21 Tage durch das Trinkwasser mit Paroxetin behandelt. Eine weitere Gruppe EXR002-Alpha Mäuse (n=8) und C3Hwt Mäuse (n=7) wurde in der Zeit mit Vehikel ebenfalls durch das Trinkwasser behandelt. Anschließend wurde ein mHb Test durchgeführt. Da die Tiere für die Behandlung einzeln gehalten wurden, gab es keine Ergebnisse zur sozialen Affinität, da die Tiere ohne ihre Käfiggruppe in den mHb Test

gingen. Die Mäuse wurden in abwechselnder Reihenfolge von Behandlung und Mauslinie getestet. Die Mäuse wurden unmittelbar anschließend an den Versuch getötet und Blut und Hirne entnommen.

Versuch 2e: Initiale Charakterisierung und Konfirmation der EXR002-Hybrid Mäuse

Der Verhaltensphänotyp der EXR002-Hybrid Mäuse wurde im mHb analysiert und mit C3H/BL6wt-Hybrid Mäusen verglichen. Alle Mäuse wurden zweimal im mHb getestet. Im initialen Test wurden naive EXR002-Hybrid Mäuse (n=39) und C3H/BL6wt-Hybrid Mäuse (n=26) verwendet. Der zweite mHb Test wurde zur Konfirmation der im ersten Test ermittelten Verhaltensdaten eine Woche später mit den selben Mäusen durchgeführt. Die Durchführung des mHb Tests ist auf dieselbe Weise wie bei den EXR002-Alpha Mäusen (wie oben beschrieben) durchgeführt worden.

Versuch 2f: Elevated Plus Maze (EPM)

Eine Woche nach dem zweiten mHb Test (Konfirmation) wurde mit einer Gruppe von EXR002-Hybrid Mäusen (n=7) und C3H/BL6wt-Hybrid Mäusen (n=14) ein EPM Test durchgeführt. Die Mäuse wurden in abwechselnder Reihenfolge der Mauslinie getestet. Die Mäuse wurden unmittelbar anschließend an den Versuch getötet und Blut und Hirne entnommen.

Versuch 2g: Forced swim Test nach Porsolt (1977)

Dies war der einzige Test mit EXR002-Hybriden bei dem auch Weibchen getestet wurden (Siehe: 2. 1. Versuchstiere und Haltung). An dem Test nahmen EXR002-Hybrid Männchen (n=7), EXR002-Hybrid Weibchen (n=10), C3H/BL6wt-Hybrid Männchen (n=6) und C3H/BL6wt-Hybrid Weibchen (n=14) teil. Eine Woche nach dem zweiten mHb Test (Konfirmation) wurden die Mäuse in abwechselnder Reihenfolge der Mauslinie im Forced swim Test getestet. Der Versuch wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt, mit je einem Versuchsdurchgang bei jedem Tier pro Tag.

Versuch 2h: mHb mit R121919 Behandlung

Es wurde mit EXR002-Hybriden (n=7) und einer Gruppe von Kontrolltieren (n=7) ein mHb Test durchgeführt bei dem die Mäuse mit R121919 behandelt wurden. Für den Test sind die EXR002-Hybriden und die Kontrolltiere in zwei vorhergehenden mHb Verhaltenstests phänotypisiert worden. Auf Grund der geringen Tierzahl aus der Zucht konnten in diesem

Versuch keine Vehikeltiere eingesetzt werden. Da die Tiere für die Behandlung mit R121919 einzeln gehalten wurden, gab es keine Ergebnisse zur sozialen Affinität, da die Tiere ohne ihre Käfiggruppe in den mHb Test gingen. Die Mäuse wurden in abwechselnder Reihenfolge von Behandlung und Mauslinie getestet. Die Mäuse wurden unmittelbar anschließend an den Versuch getötet und Blut und Hirne entnommen.

2. 7. STATISTIK

Die statistischen Auswertungen wurden an einem PC mit Hilfe der Software „Statistica 6.0“ (Statsoft, 1984-1996, Tulas, USA) durchgeführt. Alle ermittelten Daten der Verhaltenstests wurden mit einer einfaktorieller, einer zweifaktorieller Varianzanalyse oder einer Varianzanalyse mit Messwiederholung analysiert. Die unabhängige Variable war jeweils die Experimentalgruppe, d.h. die zwei Mauslinien, oder die pharmakologische Behandlung. Die Intra- bzw. Intergruppenvergleiche wurden mit Hilfe eines post-hoc LSD Tests durchgeführt. Als signifikant wurde ein Unterschied gewertet, wenn er $p < 0.05$ war.

3. ERGEBNISSE

3. 1. TEIL 1: AUSWIRKUNGEN DER PHARMAKOLOGISCHEN MODULATION VON KOGNITIVEN FÄHIGKEITEN AUF DAS VERHALTEN IN TESTS FÜR ANGST UND DEPRESSION

3. 1. 1. Versuch 1a: Modified hole board mit Skopolamin Behandlung

Um das generelle Verhalten der beiden Mauslinien DBA (n=20) und BL6 (n=20) unter dem Einfluss von Skopolamin zu untersuchen wurden mit beiden Linien ein Test im mHb durchgeführt (Siehe Material und Methoden: S. 12 und S. 30). Die Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse sind in der Tabelle 2 aufgeführt.

Im Vergleich Skopolamin-Behandlung mit Vehikel-Behandlung konnten bei keiner der Mauslinien signifikante Behandlungseffekte im mHb Test gefunden werden. Unabhängig von der Behandlung mit Skopolamin zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den beiden Mauslinien in den Parametern, die Angst- und Neugierdeverhalten messen: Latenz bis zum ersten Betreten des *boards*, Anzahl *board* Eintritte, Zeit in Prozent auf dem *board*, Anzahl besuchte *Löcher* und Latenz bis zum ersten *Lochbesuch* (Abbildung smHb1). Die DBA Mäuse betreten das *board* später, weniger oft und verbrachten weniger Zeit auf dem *board* als die BL6 Mäuse. Die DBA Mäuse besuchten auch später und weniger die *Löcher* auf dem *board*. Bei der Lokomotion ergab sich ein signifikanter Unterschied in der Latenz bis zum ersten *Linienübertritt* und der Anzahl der *Linienübertritte*, wobei die DBA Mäuse weniger aktiv waren als die BL6 Mäuse (Abbildung smHb3). Bei der Exploration der *bekannt-* und *unbekannten Objekte* zeigten die DBA Mäuse eine signifikant längere Latenz bis zur ersten Exploration eines Objektes und sie explorierten die Objekte weniger oft als die BL6 Mäuse. Die BL6 Mäuse zeigten eine signifikant längere Latenz bis zum ersten *grooming* als die DBA Mäuse.

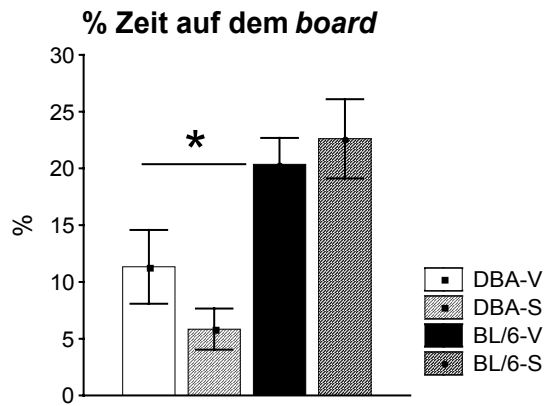


Abbildung smHb1:

Die Behandlung mit Skopolamin zeigte bei keiner Mauslinie einen Effekt auf das Angstverhalten (% Zeit auf dem *board*) der Tiere, allerdings verbrachten die DBA Mäuse weniger Zeit auf dem *board* unabhängig von der Behandlung (DBA-V: DBA Vehikel-Behandlung; DBA-S: DBA Skopolamin-Behandlung; BL6-V: BL6 Vehikel-Behandlung; BL6-S: BL6 Skopolamin-Behandlung; * $p < 0.05$ für DBA vs. BL6; Mittelwert \pm SEM).

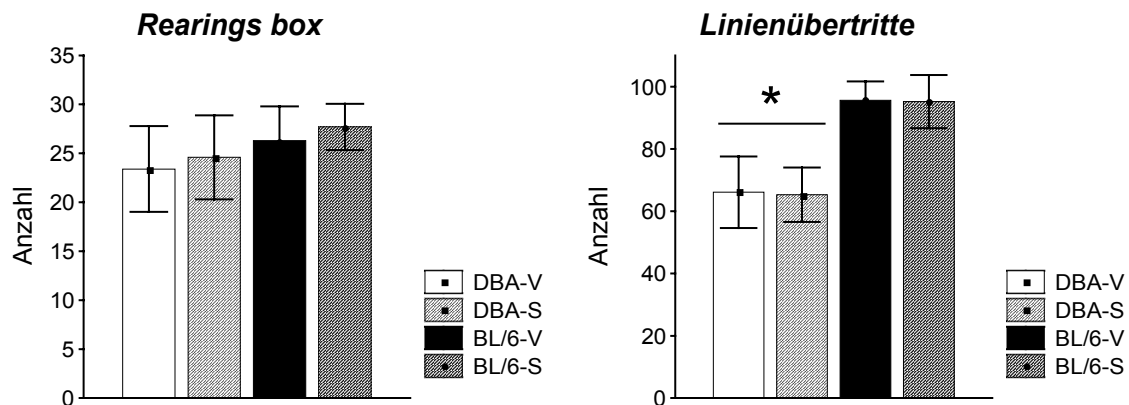


Abbildung smHb2-3:

Bei den Parametern generelle Exploration (*rearings box*) und Lokomotion (*Linienübertritte*) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Vehikel-behandelten Mäusen und den mit Skopolamin-behandelten Mäusen. Die BL6 Mäuse liefen mehr als die DBA Mäuse, unabhängig von der Behandlung (DBA-V: DBA Vehikel-Behandlung; DBA-S: DBA Skopolamin-Behandlung; BL6-V: BL6 Vehikel-Behandlung; BL6-S: BL6 Skopolamin-Behandlung; * $p < 0.05$ für DBA vs. BL6; Mittelwert \pm SEM).

Bei der Analyse des Blutplasma ergab sich keine Verringerung der ACTH und Cort Konzentration bei den mit Skopolamin-behandelten Mäusen (Abbildung smHb5). Die BL6 Mäuse zeigten allerdings höhere Cort und ACTH Konzentration als die DBA Mäuse (Abbildung smHb4).

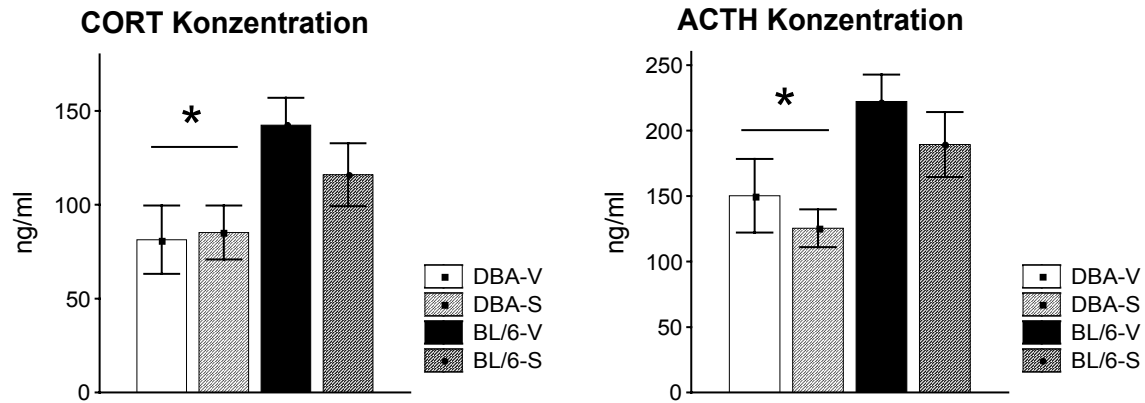


Abbildung smHb4-5:

Die Auswertung der Blutproben auf ihre Cort und ACTH Konzentration im Blut ergab bei den BL6 Mäusen eine leicht verringerte Cort und ACTH Konzentration bei den Skopolamin-behandelten Tieren (DBA-V: DBA Vehikel-Behandlung; DBA-S: DBA Skopolamin-Behandlung; BL6-V: BL6 Vehikel-Behandlung; BL6-S: BL6 Skopolamin-Behandlung; * $p < 0.05$ für DBA-V und DBA-S vs. BL6-V; Mittelwert \pm SEM).

3. 1. 2. Versuch 1b: Elevated Plus-Maze mit Skopolamin Behandlung

Zur Überprüfung des Effektes von Skopolamin auf das Angstverhalten der beiden Mauslinien DBA (n=20) und BL6 (n=20) wurde ein EPM Test durchgeführt (Siehe Material und Methoden: S. 21 und S. 30). Die Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse sind in der Tabelle 3 aufgeführt.

Bei dem Vergleich der Resultate zeigten sich Behandlungseffekte bei beiden Mauslinien: Das Skopolamin verursachte bei beiden Mauslinien eine Reduktion sowohl der Eintritte in die zentrale *Plattform* (Abbildung sepm1), als auch der Anzahl der Eintritte auf den *offenen Arm* (Abbildung sepm2). Signifikante Unterschiede zeigten sich auch in der Anzahl der Eintritte auf die *Plattform*, ausgenommen bei den unbehandelten DBA und BL6 Mäuse.

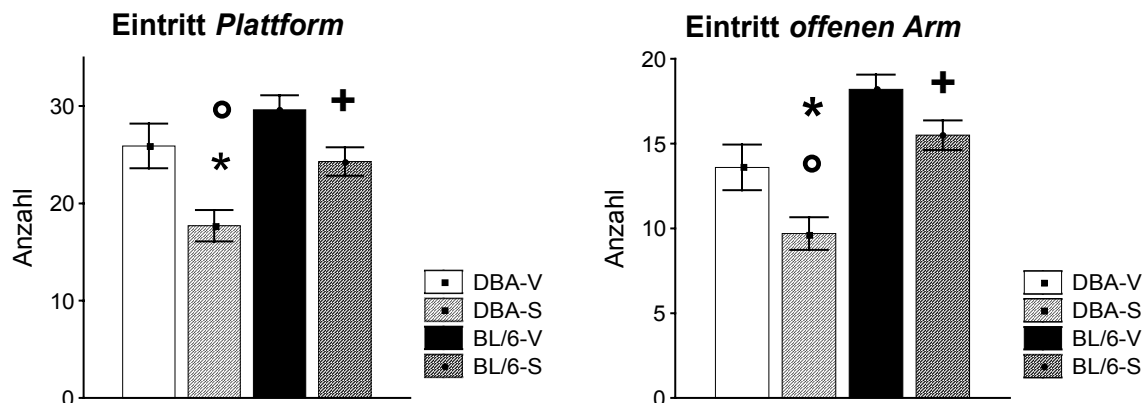


Abbildung sepm1-2:

Die mit Skopolamin-behandelten Mauslinien DBA und BL6 betraten weniger oft die *Plattform* und den *offenen Arm* des EPM als die Vehikel behandelten Tiere. Die Skopolamin-behandelten DBA Mäuse betraten den *offenen*

Arm und die *Plattform* weniger als die BL6 Mäuse, unabhängig von der Behandlung (DBA-V: DBA Vehikel-Behandlung; DBA-S: DBA Skopolamin-Behandlung; BL6-V: BL6 Vehikel-Behandlung; BL6-S: BL6 Skopolamin-Behandlung; * $p < 0.05$ für DBA-V vs. DBA-S; + $p < 0.05$ für BL6-S vs. BL6-V; ° $p < 0.05$ für DBA-S vs. BL6-V und BL6-S; Mittelwert \pm SEM).

Die mit Skopolamin-behandelten DBA Mäuse verbrachten signifikant mehr Zeit mit *grooming* als die BL6 Mäuse ($F_{1/36} = 4.964$; $p < 0.01$; Abbildung sepm3). Die BL6 Mäuse zeigten signifikant weniger *grooming* als die DBA Mäuse, unabhängig von der Behandlung ($F_{1/36} = 40.573$; $p < 0.00$).

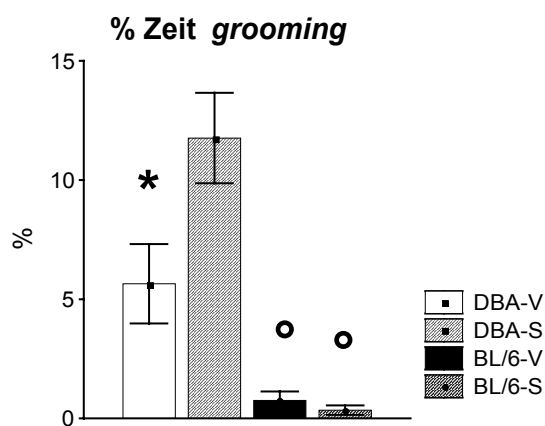


Abbildung sepm3:

Die Skopolamin-behandelten DBA Mäuse verbrachten mehr Zeit mit ihrer Fellpflege (*grooming*) als die mit Vehikel-behandelten DBA Mäuse (DBA-V: DBA Vehikel-Behandlung; DBA-S: DBA Skopolamin-Behandlung; BL6-V: BL6 Vehikel-Behandlung; BL6-S: BL6 Skopolamin-Behandlung; * $p < 0.05$ für DBA-V vs. DBA-S; ° $p < 0.05$ für BL6-V und BL6-S vs. DBA-V und DBA-S; Mittelwert \pm SEM).

Keine Unterschiede zeigte sich im Explorationsverhalten (*rearing*) bei den BL6 Mäusen, während die DBA Mäuse durch die Behandlung mit Skopolamin signifikant weniger *rearings* auf den geschlossenen Armen des EPM machten als die unbehandelten DBA Mäuse (Abbildung sepm4). Die BL6 Mäuse zeigten insgesamt signifikant weniger *rearings* als die DBA Mäuse. In dem Parameter Latenz bis zum ersten *rearing* unterschieden sich die beiden Mauslinien unabhängig von der Behandlung signifikant voneinander.

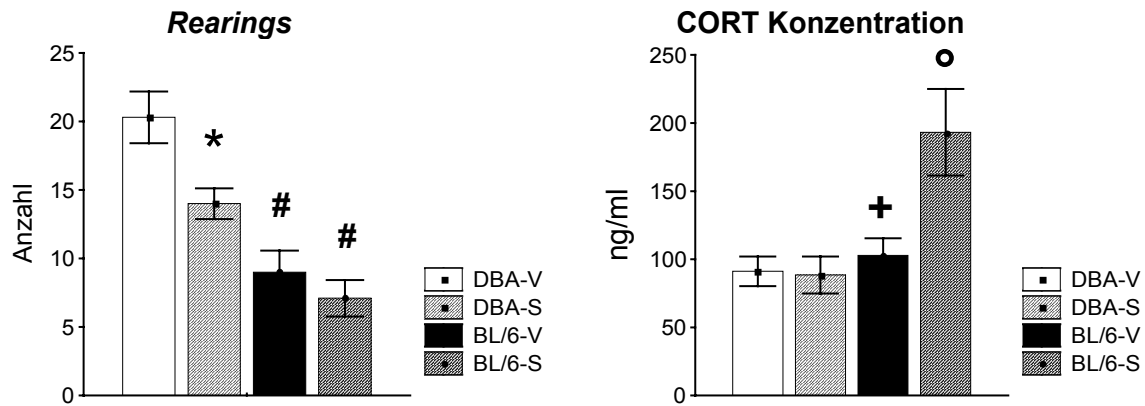


Abbildung sepm4 + 7:

Die Skopolamin-behandelten DBA Mäuse zeigten weniger oft *rearings* auf dem EPM als die unbehandelten Mäuse. Die Skopolamin-behandelten BL6 Mäusen zeigten einen erhöhten Cort- Wert (DBA-V: DBA Vehikel-Behandlung; DBA-S: DBA Skopolamin-Behandlung; BL6-V: BL6 Vehikel-Behandlung; BL6-S: BL6 Skopolamin-Behandlung; * $p < 0.05$ für DBA-V vs. DBA-S; + $p < 0.05$ für BL6-S vs. BL6-V; ° $p < 0.05$ für BL6-S vs. DBA-V und DBA-S; # $p < 0.05$ für BL6-V und BL6-S vs. DBA-V und DBA-S; Mittelwert \pm SEM).

Bei dem Parameter *head dip*, der das Explorationsverhalten auf dem offenen Arm indiziert, zeigten sich keine Effekte durch die Behandlung. Durch die Skopolamin-Behandlung machten die DBA Mäuse aber signifikant später den ersten *head dip* und weniger *head dips* als die BL6 Mäuse. In den Parametern Anzahl der Eintritte in den *geschlossenen Arm*, Zeit in Prozent im *geschlossenen Arm* (Abbildung sepm5), der Latenz bis zum ersten Betreten des *offenen Armes*, Anzahl und Zeit in Prozent *offener Arm* zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen beiden Mauslinien. Die DBA Mäuse betraten später und weniger den *offenen Arm* als die BL6 Mäuse (Abbildung sepm6). Die Risikoabschätzung der Tiere blieb unbeeinflusst durch die Behandlung mit Skopolamin, nur die Anzahl der *stretched attends* war bei den DBA Mäusen unabhängig von der Behandlung höher als bei den BL6 Mäusen.

Die Analyse der ACTH und Cort Konzentration im Blut ergab keinen signifikanten Befund bei den DBA Mäusen. Das Ergebnis der Cort Konzentration für die BL6 Mäuse war bei den Skopolamin-behandelten Mäusen signifikant erhöht ($F_{1/36} = 6.288$; $p < 0.01$; Abbildung sepm7).

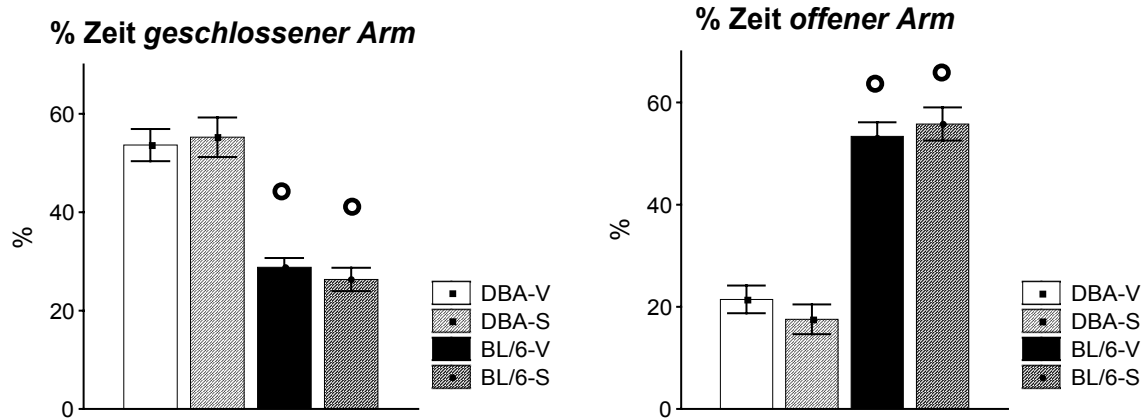


Abbildung sepm5-6:

Die DBA Mäuse verbrachten weniger Zeit auf dem offenen Arm und mehr Zeit im geschlossenen Arm als die BL6 Mäuse (DBA-V: DBA Vehikel-Behandlung; DBA-S: DBA Skopolamin-Behandlung; BL6-V: BL6 Vehikel-Behandlung; BL6-S: BL6 Skopolamin-Behandlung; ° $p < 0.05$ für BL6-V und BL6-S vs. DBA-V und DBA-S; Mittelwert \pm SEM).

3. 1. 3. Versuch 1c: Forced swim Test nach Porsolt mit Skopolamin Behandlung

Zur weiteren Untersuchung des Angstverhaltens der beiden Mauslinien DBA ($n=20$) und BL6 ($n=20$) unter dem Einfluss von Skopolamin wurde ein Forced swim Test nach Porsolt (1977) durchgeführt. Mit jedem Tier wurden 2 Testdurchläufe an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt (Siehe Material und Methoden: S. 18 und 30). Die Ergebnisse wurden mit einer ANOVA mit Messwiederholung analysiert, wobei Behandlung und Mauslinie als unabhängige Variable definiert wurde. Bei einer signifikanten Interaktion der Faktoren wurde eine post-hoc Analyse gemacht. Die aufgeführten Freiheitsgrade und p-Werte beziehen sich hier auf die Interaktion von Mauslinie und Behandlung und deren Ergebnisse der post-hoc Analyse. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 4 aufgeführt.

Die Skopolamin-behandelten DBA Mäuse fingen am 1. Versuchstag signifikant später an das erste *swimming* zu zeigen ($F_{1/36}=4.369$; $p < 0.009$; Abbildung: sfs1) als am 2. Versuchstag und als die Vehikel-behandelten DBA Mäuse. Darüber hinaus war die Latenz bis zum ersten *swimming* signifikant höher als bei allen anderen Testgruppen. Am 2. Versuchstag konnten keine Unterschiede mehr festgestellt werden. Die Vehikel-behandelten BL6 Mäuse zeigten am 2. Versuchstag signifikant mehr *swimming* als die Vehikel-behandelten DBA Mäuse ($F_{1/36}=5.001$; $p < 0.01$; Abbildung: sfs2).

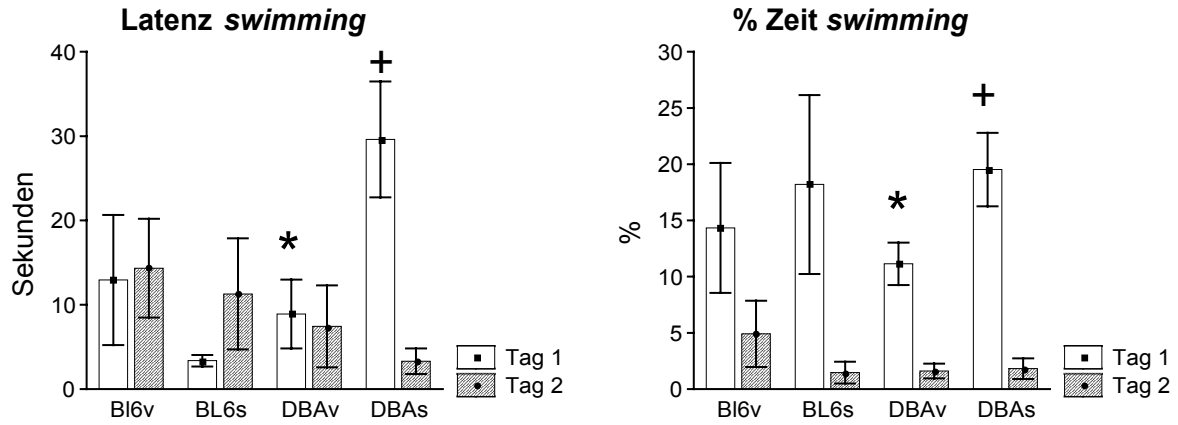
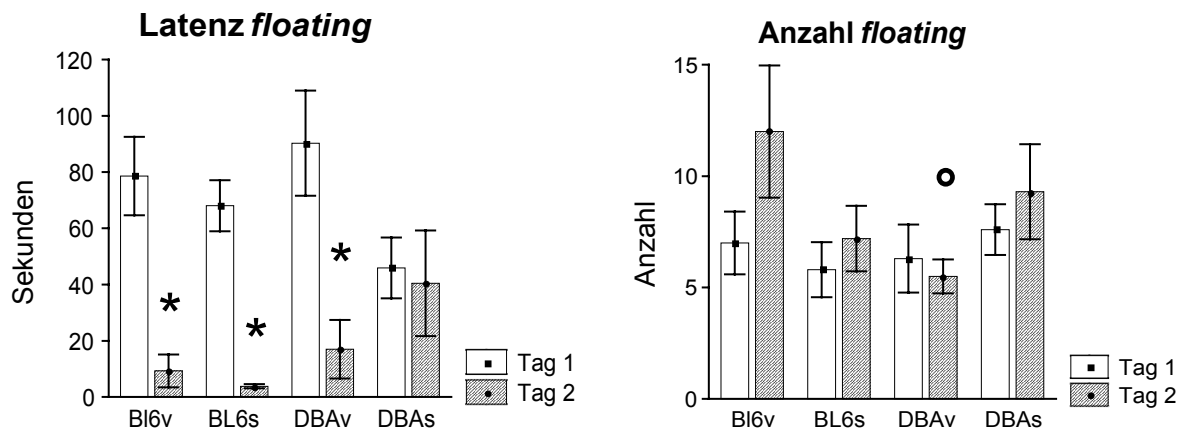


Abbildung sfs1-2:

Die Skopolamin-behandelten DBA Mäuse fingen später an *swimming* zu zeigen als die mit Vehikel-behandelten Mäuse. Die Skopolamin-behandelten DBA Mäuse zeigten am ersten Versuchstag ein signifikant längeres *swimming*. Dagegen zeigten sich am zweiten Versuchstag keine Unterschiede mehr zwischen den beiden Behandlungsgruppen (DBA-V: DBA Vehikel-Behandlung; DBA-S: DBA Skopolamin-Behandlung; BL6-V: BL6 Vehikel-Behandlung; BL6-S: BL6 Skopolamin-Behandlung; * $p < 0.05$ für DBAv vs. DBAs; + $p < 0.05$ für DBAs, 1. Tag vs. BL6v, BL6s, DBAv und DBAs, 2. Tag; Mittelwert \pm SEM).

Bei den Parametern Latenz *floating* zeigte sich eine signifikant höhere Latenz am 1. Versuchstag gegenüber dem 2. Versuchstag bei allen Versuchsgruppen, mit Ausnahme des Skopolamin-behandelten DBA Mäuse (Abbildung sfs3). Im Parameter Anzahl *floating* zeigte sich am 2. Versuchstag zwischen den Vehikel-behandelten BL6 Mäusen und DBA Mäusen ein signifikanter Unterschied, wobei die BL6 Mäuse mehr *floaten* ($F_{1/36} = 5.934$; $p < 0.03$; Abbildung sfs4). Die Vehikel-behandelten DBA und BL6 Mäuse verbrachten signifikant mehr Zeit in Prozent mit *floating* am 2. Versuchstag, als die Skopolamin-behandelten Mauslinien ($F_{1/36} = 18.320$; $p < 0.00$; Abbildung sfs5).



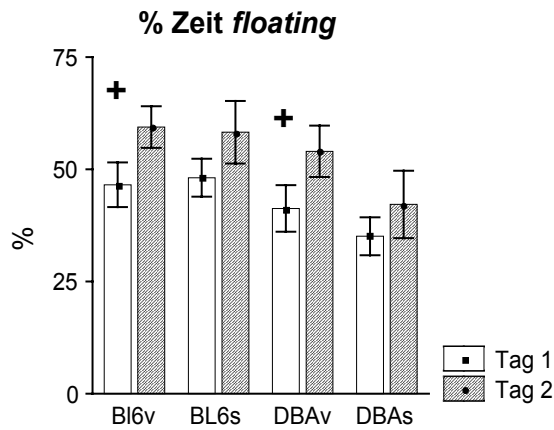
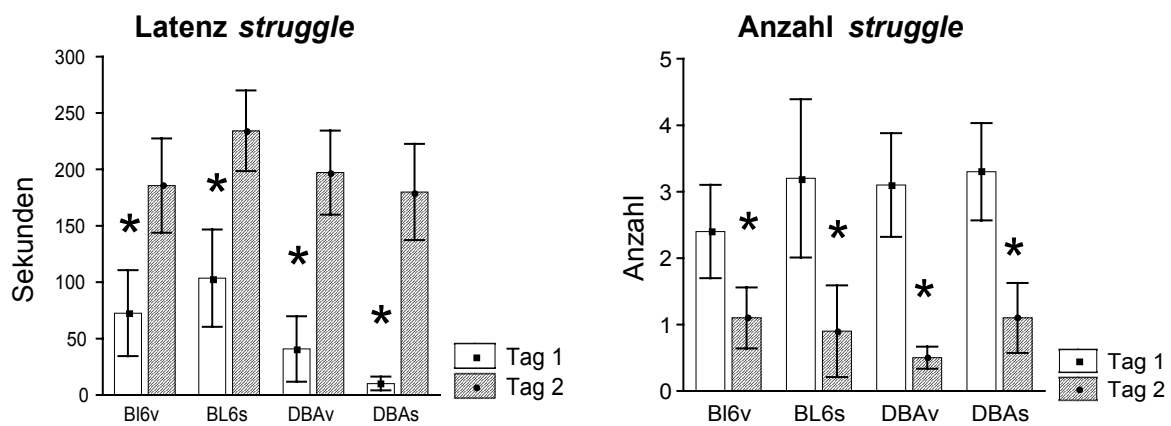


Abbildung sfs3-5:

Die Skopolamin-Behandlung beeinflusste bei den DBA Mäusen die Latenz *floating* am 2. Versuchstag. Die Vehikel-behandelten DBA und BL6 Mäuse zeigten am 2. Versuchstag einen signifikanten Unterschied bei der Anzahl der *floatings* (DBA-V: DBA Vehikel-Behandlung; DBA-S: DBA Skopolamin-Behandlung; BL6-V: BL6 Vehikel-Behandlung; BL6-S: BL6 Skopolamin-Behandlung; * $p < 0.05$ für 1. Tag vs. 2. Tag bei BL6v, BL6s und DBAv; ° $p < 0.05$ für DBAv, 2. Tag vs. BL6v, 2. Tag; + $p < 0.05$ für 1. Tag vs. 2. Tag bei BL6v und DBAv; Mittelwert \pm SEM).

In dem Parameter *struggling* waren Latenz und Anzahl am 1. Versuchstag bei allen Versuchsgruppen signifikant erhöht gegenüber dem 2. Versuchstag ($F_{1/36} = 4.369$; $p < 0.04$; Abbildung: sfs6-7). Die Skopolamin-behandelten DBA Mäuse verbrachten am 1. Versuchstag signifikant mehr Zeit mit *struggling* als am 2. Versuchstag und als die Vehikel-behandelten DBA Mäuse ($F_{1/36} = 32.062$; $p < 0.001$; Abbildung: sfs8).



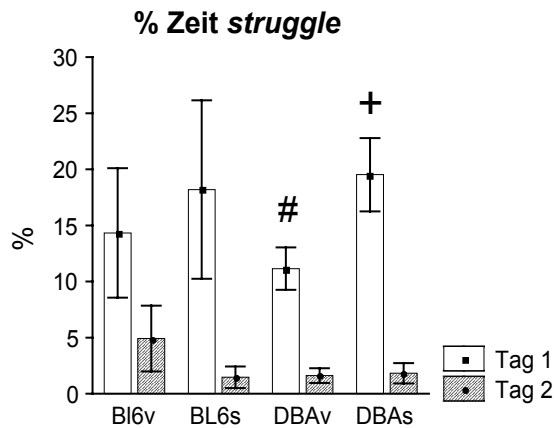


Abbildung fs6-8:

Unabhängig von der Skopolamin-Behandlung zeigten die DBA und BL6 Mäuse am 2. Versuchstag einen signifikanten Unterschied zum 1. Versuchstag in den Parametern Latenz *struggle* und Anzahl *struggle*. Die Skopolamin-behandelten DBA Mäuse verbrachten am 1. Versuchstag signifikant mehr Zeit mit *struggling* als am 2. Versuchstag (DBA-V: DBA Vehikel-Behandlung; DBA-S: DBA Skopolamin-Behandlung; BL6-V: BL6 Vehikel-Behandlung; BL6-S: BL6 Skopolamin-Behandlung; * $p < 0.05$ für 1. Tag vs. 2. Tag bei allen Gruppen; + $p < 0.05$ für 1. Tag vs. 2. Tag bei DBAs; # $p < 0.05$ für DBAv vs. DBAs, 1. Tag; Mittelwert \pm SEM).

Bei der Analyse der Cort Konzentration im Blut fand sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Mauslinien. Die Vehikel-behandelten BL6 Mäuse hatten am ersten Versuchstag signifikant höhere Cort-Werte als die DBA Mäuse, mit Ausnahme der Vehikel-behandelten DBA Mäuse am 1. Versuchstag (Abbildung fs8).

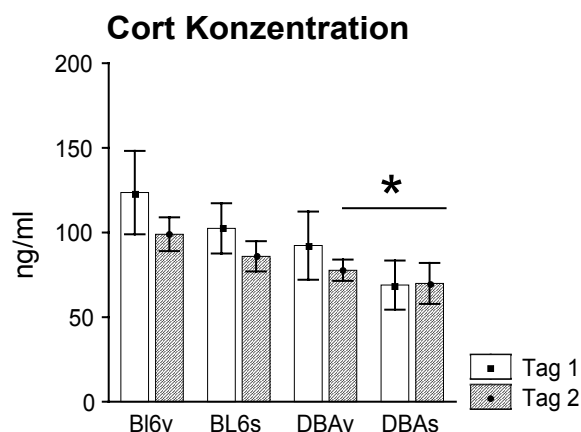


Abbildung fs8:

Die Vehikel-behandelten BL6 Mäuse hatten am ersten Versuchstag höhere Cort Werte im Blut als die DBA Versuchsgruppen, mit Ausnahme der Vehikel-behandelten DBA Mäuse am 1. Versuchstag (DBA-V: DBA Vehikel-Behandlung; DBA-S: DBA Skopolamin-Behandlung; BL6-V: BL6 Vehikel-Behandlung; BL6-S: BL6 Skopolamin-Behandlung; * $p < 0.05$ für BL6v 1. Tag vs. DBAv 2. Tag und DBAs 1.+ 2. Tag; Mittelwert \pm SEM).

3. 1. 4. Ergebnisse der CRH in-situ Hybridisierung

Bei der Analyse der Hirnschnitte durch eine CRH (Corticotropin-releasing hormone) in-situ Hybridisation zeigten sich bei den beiden unbehandelten Mauslinien BL6 und DBA keine signifikanten Unterschiede in der Konzentration der mRNA, sowohl bei der Amygdala als auch bei dem PVN (Abbildung IS 1-2) (Siehe Material und Methoden: S. 27-29).

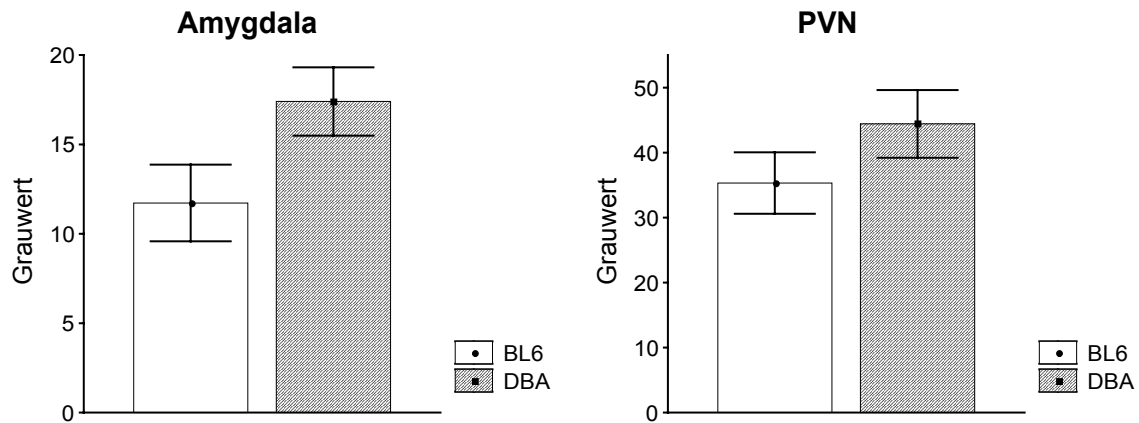


Abbildung IS1-2:

Bei der Analyse der basalen CRH in-situ Hybridisierung zeigen sich keine signifikanten Unterschiede bei den beiden Mauslinien (Mittelwert ± SEM).

Ergebnisse der einfaktoriellen Varianzanalyse für alle Parameter der in-situ Hybridisation für BL6 und DBA Mäuse

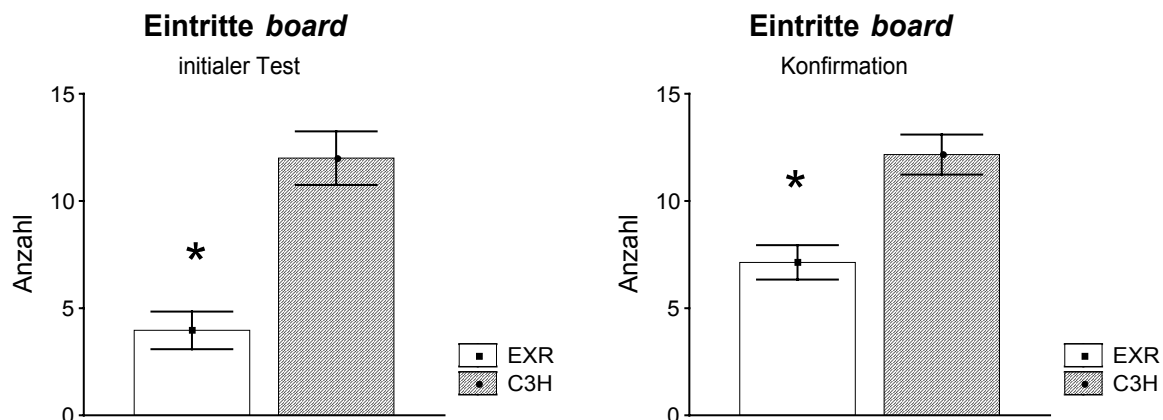
Effekt	Testgröße	Freiheitsgrad	p-Level
CRH in-situ			
Amygdala	1/5	3.922	ns
PVN	1/8	1.542	ns

3. 2. Teil 2: CHARAKTERISIERUNG EINES NEUEN MAUSMODELLS FÜR DEPRESSION

3. 2. 1. Versuch 2a: Initiale Charakterisierung und Konfirmation der EXR002 Alpha Mäuse

Der Verhaltensphänotyp der EXR002-Alpha Mäuse (n=30) wurde im mHb analysiert und mit C3Hwt Mäusen (n=24) verglichen. Zunächst wurde ein initialer Test zur Verhaltenscharakterisierung der Mäuse durchgeführt. Eine Woche später fand dann ein Konfirmationstest statt, um die Ergebnisse des ersten mHb Testes zu verifizieren (Siehe Material und Methoden: S. 12 - 13). Die Ergebnisse wurden mit einer ANOVA mit Messwiederholung analysiert, wobei die Mauslinie als unabhängige Variable definiert wurde. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 5 aufgeführt. Bei einer signifikanten Interaktion der Faktoren wurde eine post-hoc Analyse gemacht. Die aufgeführten Freiheitsgrade und p-Werte beziehen sich hier auf die Interaktion von Mauslinie und Versuchsdurchgang und deren Ergebnisse der post-hoc Analyse.

Die EXR002-Alpha Mäuse zeigten eine signifikant geringere Anzahl von Eintritten auf das *board* und eine längere Latenz bis zum ersten Betreten des *boards* im initialen Test. Diese Ergebnisse wiederholten sich im Konfirmations-Test, wobei bei den EXR002-Alpha Mäusen bei beiden Parametern ein signifikanter Unterschied zum initialen Test besteht ($F_{1/103}=3.998$, $p<0.00$). Bei der Zeit in Prozent auf dem *board* gab es keine Unterschiede zwischen den beiden Mauslinien. Die Anzahl der *stretched attends* war bei den EXR002-Alpha Mäusen signifikant höher als bei den C3Hwt Mäusen. Im Konfirmations-Test ist dieses Verhalten bei den beiden Mauslinien nicht mehr aufgetreten (Abbildung eamHb1-7).



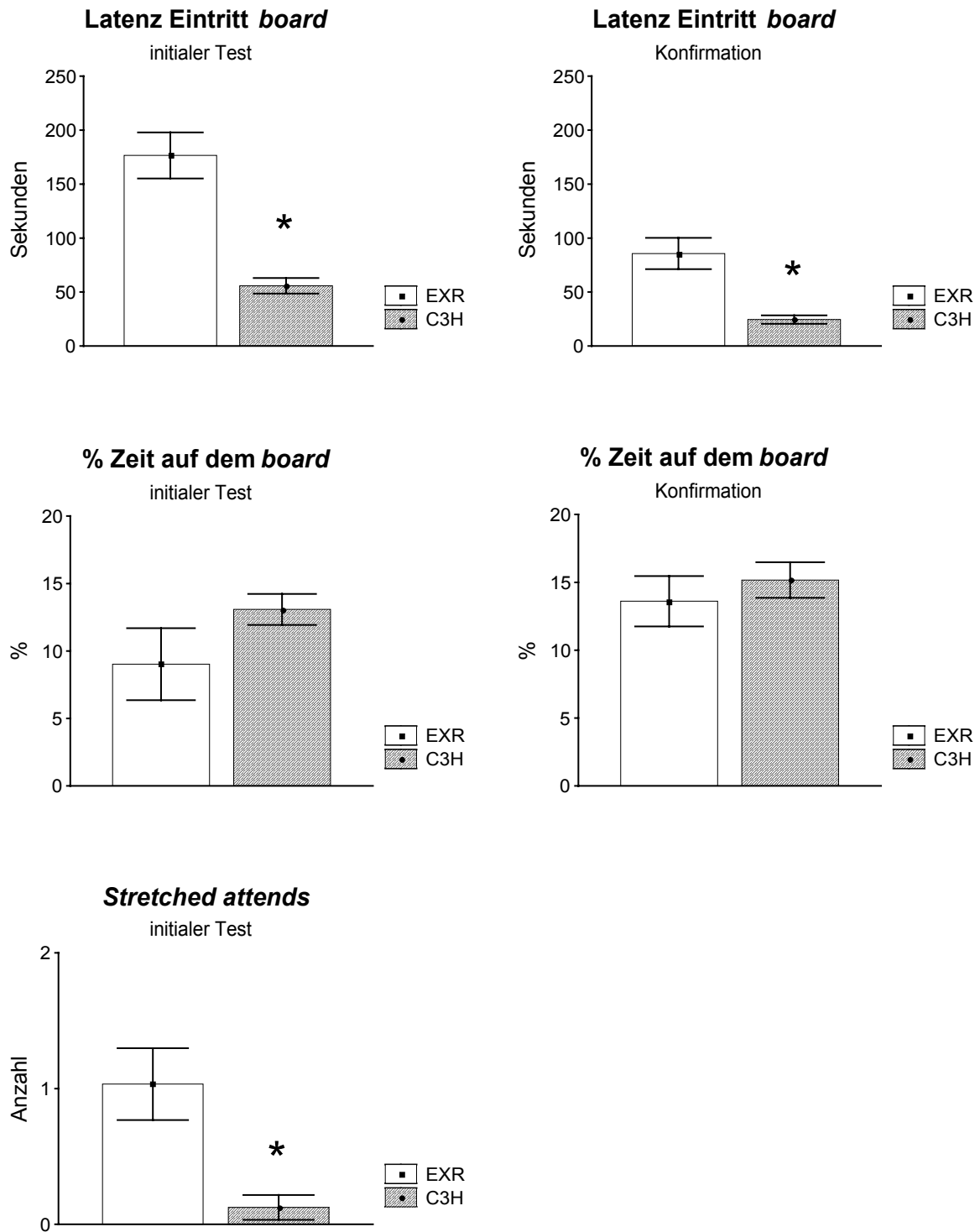


Abbildung eamHb1-7:

Die EXR002-Alpha Mäuse verbrachten ebenso viel Zeit in der ungeschützten Mitte des *hole boards* wie die C3Hwt Mäuse. Es zeigten sich bei den EXR002-Alpha Mäuse signifikante Unterschiede bei der Latenz bis zum ersten Betreten des *boards* und der Anzahl der *board* Eintritte (EXR: EXR002-Alpha, C3H: C3Hwt; * $p < 0.05$ für EXR vs. C3H; Mittelwert \pm SEM).

Explorationsverhalten:

In der gerichteten Exploration war bei den EXR002-Alpha Mäusen die Anzahl der besuchten *Löcher* signifikant verringert und die Latenz bis zum ersten *Lochbesuch* signifikant länger im Vergleich zu den C3Hwt Mäusen. Dieser Verhaltensunterschied wiederholte sich im Konfirmations-Test. Ein signifikanter Unterschied bestand in beiden Parametern bei den EXR002-Alpha Mäusen, wenn man den initialen- und den Konfirmationstest vergleicht (Latenz Loch: $F_{1/103}=6.405$, $p<0.01$; Abbildung eamHb8-11).

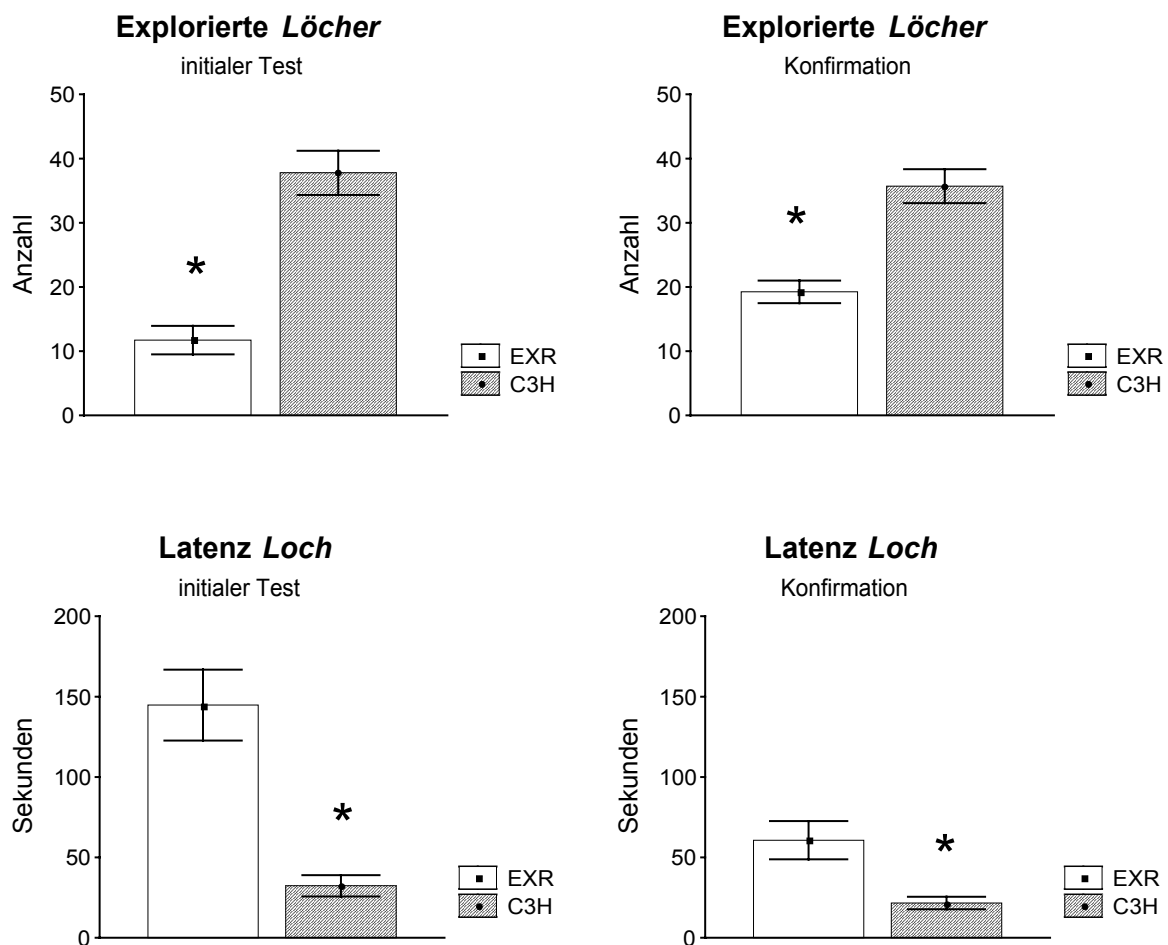


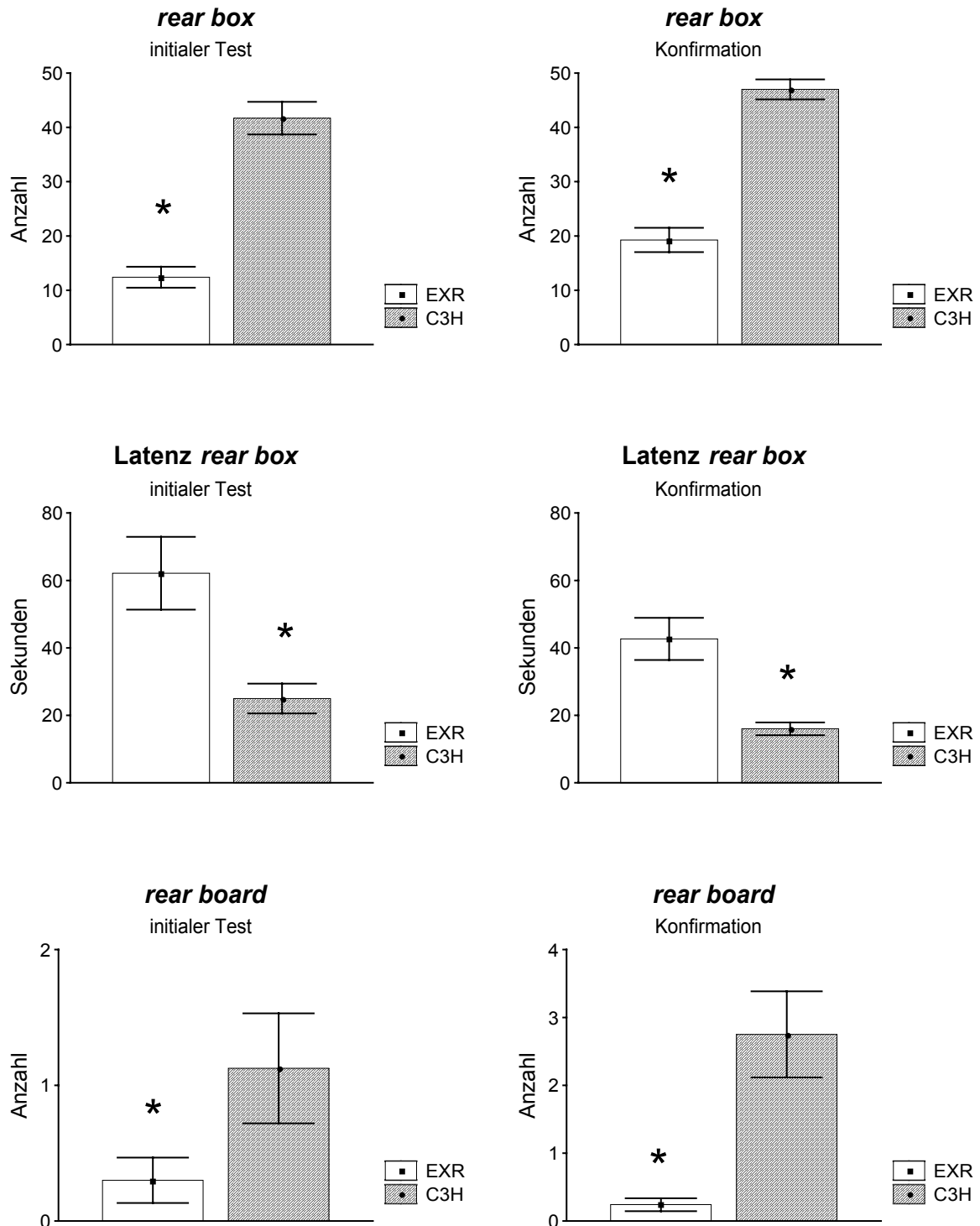
Abbildung eamHb8-11:

Die EXR002-Alpha Mäuse zeigten weniger Explorationsaktivität bei den Löchern als die C3Hwt Mäuse (EXR: EXR002-Alpha, C3H: C3Hwt; * $p<0.05$ für EXR vs. C3H; Mittelwert \pm SEM).

Bei der ungerichteten Exploration war die Anzahl der *rearings* bei den EXR002-Alpha Mäusen, sowohl im initialen- als auch im Konfirmations-Test, signifikant reduziert gegenüber den C3Hwt Mäusen. Die Latenz bis zum ersten *rearing* in der *box* war in beiden Tests signifikant verschieden, wobei bei den EXR002-Alpha Mäusen die Latenz länger war als bei C3Hwt Tiere. In beiden Parametern bestand bei den EXR002-Alpha Mäusen ein signifikanter

Ergebnisse

Unterschied zum initialen Test, bei dem die Anzahl der *rearings* geringer und die Latenz bis zum ersten *rearing* länger war als im Konfirmations-Test. Im Konfirmations-Test hatten die EXR002-Alpha Mäuse eine signifikant längere Latenz bis zum ersten *rearing* auf dem *board*. Ebenso im Konfirmations-Test zeigten die C3Hwt Mäuse einen signifikanten Anstieg bei der Anzahl der *rearings* auf dem *board* ($F_{1/103}=3.998$, $p<0.00$; Abbildung eamHb12-19).



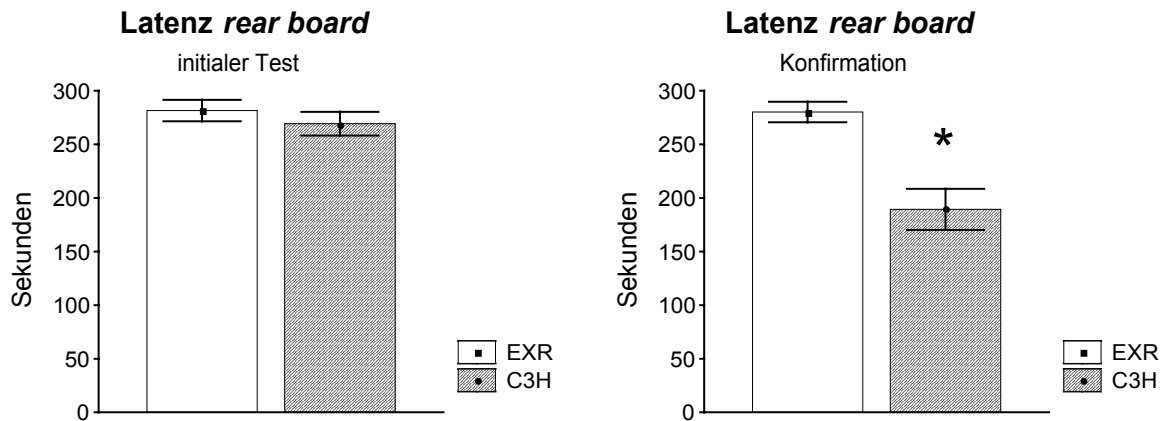
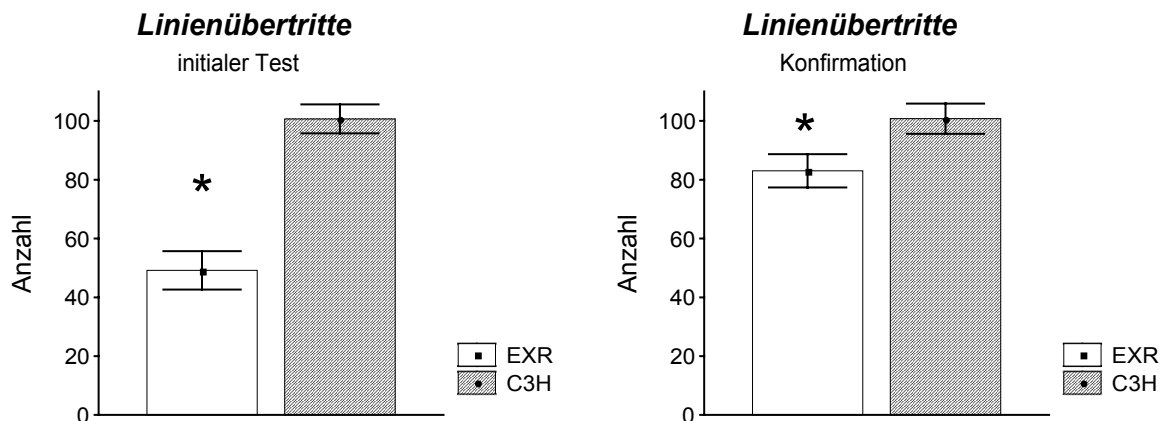


Abbildung eamHb12-19:

Bei den EXR002-Alpha Mäusen wurde eine geringere generelle Exploration sichtbar als bei den C3Hwt Mäusen. Dies wurde hervorgehoben durch die geringere Anzahl der *rearings* und der erhöhten Latenz bis zum ersten *rearing* (EXR: EXR002-Alpha, C3H: C3Hwt; * $p < 0.05$ für EXR vs. C3H; Mittelwert \pm SEM).

Die Lokomotion war bei den EXR002-Alpha Mäusen in beiden Tests signifikant geringer als bei den C3Hwt Mäusen, wobei die Anzahl der *Linienübertritte* bei den EXR002-Alpha Mäusen im Konfirmations-Test deutlich höher war als im initialen Test ($F_{1/103} = 6.063$, $p < 0.01$). Die Latenz bis zum ersten *Linienübertritt* war ohne signifikante Unterschiede (Abbildung eamHb20-23).



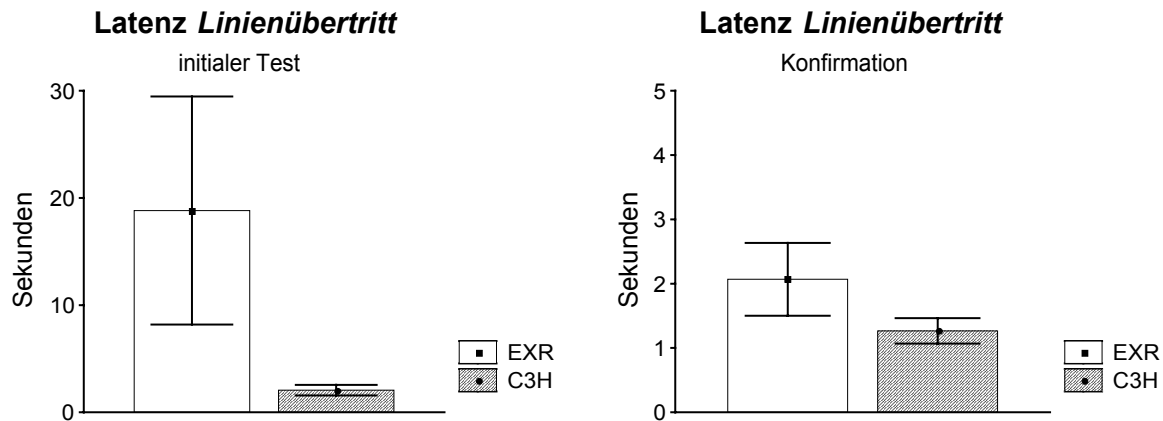


Abbildung eamHb20-23:

Bei den EXR002 Alpha Mäusen war die Lokomotion deutlich reduziert gegenüber den C3Hwt Mäusen (EXR: EXR002-Alpha, C3H: C3Hwt; * $p < 0.05$ für EXR vs. C3H; Mittelwert \pm SEM).

Bei der Fellpflege (*grooming*) trat nur im Konfirmations-Test ein signifikanter Unterschied auf. Die EXR002-Alpha Mäuse begannen später zu *groomen* als die C3Hwt Mäuse. Die C3Hwt Mäuse hatten im Konfirmations-Test eine signifikant kürzere Latenz als im initialen Test ($F_{1/103} = 4.749$, $p < 0.03$; Abbildung ehmHb24-25). Bei der *Defäkation* gab es nicht genug Daten für eine statistische Auswertung, da beide Mauslinien während der Versuche wenig Kot absetzten.

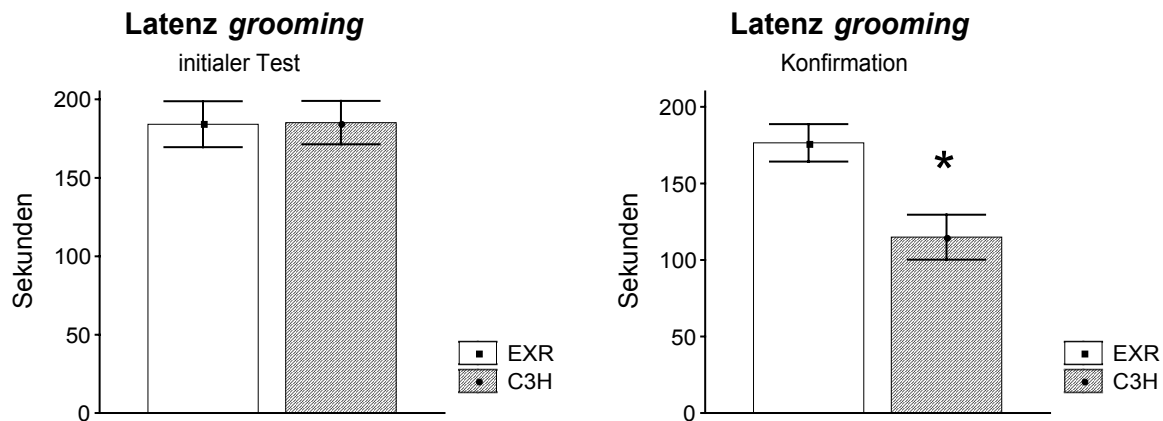


Abbildung eamHb24-25:

Bei der Fellpflege (*grooming*) wurde nur ein signifikanter Unterschied im Konfirmations-Test bei der Latenz bis zum ersten *grooming* gefunden (EXR: EXR002-Alpha, C3H: C3Hwt; * $p < 0.05$ für EXR vs. C3H; Mittelwert \pm SEM).

Bei der Exploration des *bekanntes Objektes* war die Latenz bis zum ersten Besuch des *bekanntes Objektes* bei den EXR002-Alpha Mäusen signifikant länger und die Anzahl der

besuchten *bekanntes Objekte* signifikant geringer als bei den C3Hwt Mäusen. Diese signifikanten Unterschiede wiederholten sich nicht im Konfirmations-Test, da die Latenz bei den EXR002-Alpha Mäusen gegenüber dem initialen Test signifikant kürzer wurde ($F_{1/103}=6.9070$, $p<0.00$). In beiden Tests war die Zeit in Prozent, die die Mäuse mit der Exploration des *bekanntes Objektes* verbrachten, nicht signifikant verschieden (Abbildung eamHb26-31).

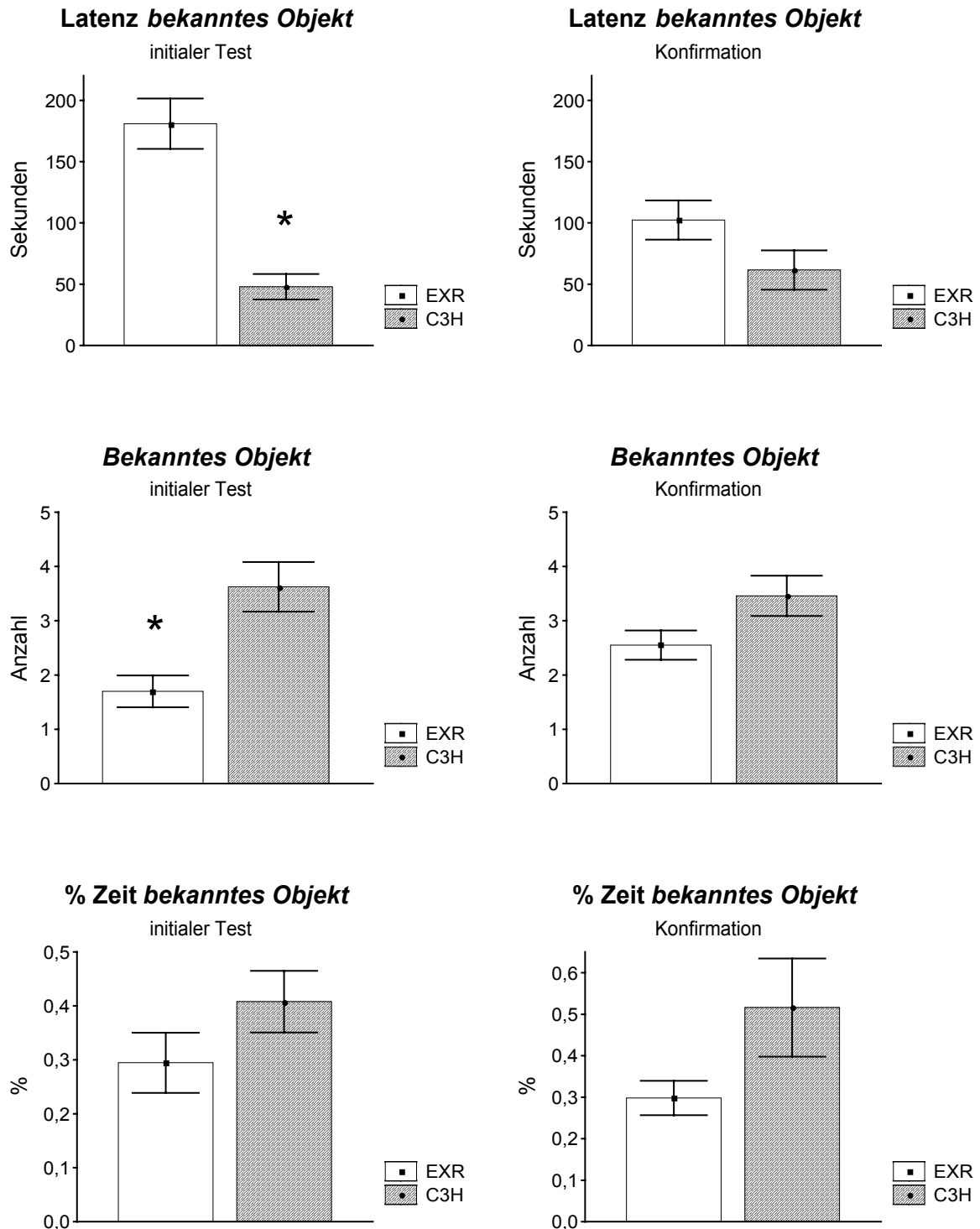
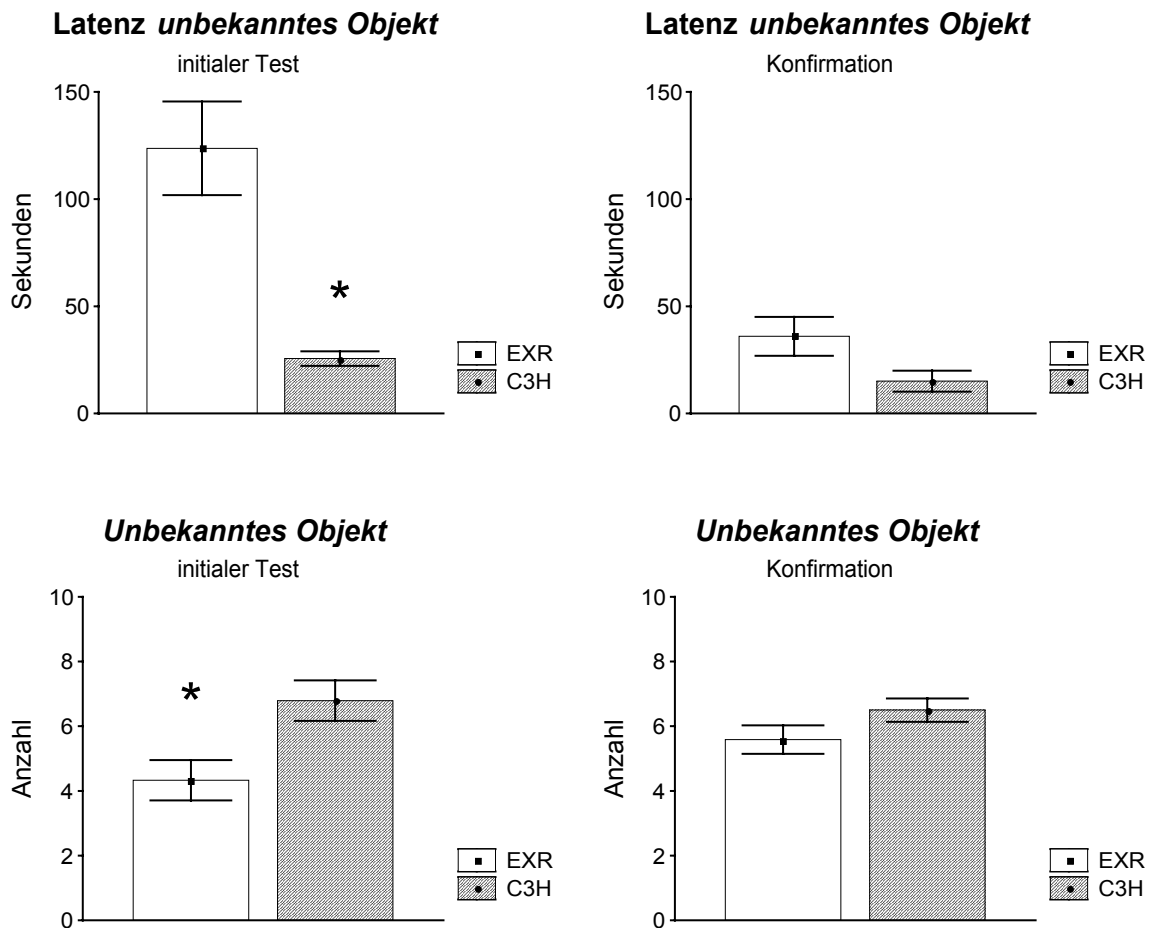


Abbildung eamHb26-31:

Bei der Exploration des *bekanntes Objektes* traten nur im initialen Test signifikante Unterschiede auf (EXR: EXR002-Alpha, C3H: C3Hwt; * $p < 0.05$ für EXR vs. C3H; Mittelwert \pm SEM).

Ähnlich waren im initialen Test die Ergebnisse der Exploration des *unbekanntes Objektes*: Bei den EXR002-Alpha Mäuse bestand eine signifikant längere Latenz bis zum ersten Besuch des *unbekanntes Objektes* und die Anzahl der Besuche war signifikant geringer als bei den C3Hwt Mäusen. Die Latenz bis zum ersten Besuch des *unbekanntes Objektes* war bei den EXR002-Alpha Mäusen im Konfirmations-Test signifikant kürzer gegenüber dem initialen Test ($F_{1/103} = 8.112$, $p < 0.00$). Im Konfirmations-Test traten in den beiden Parametern keine signifikanten Unterschiede mehr auf. Die Zeit in Prozent der Exploration des *unbekanntes Objektes* war ohne signifikante Effekte in beiden Tests (Abbildung eamHb31-36).



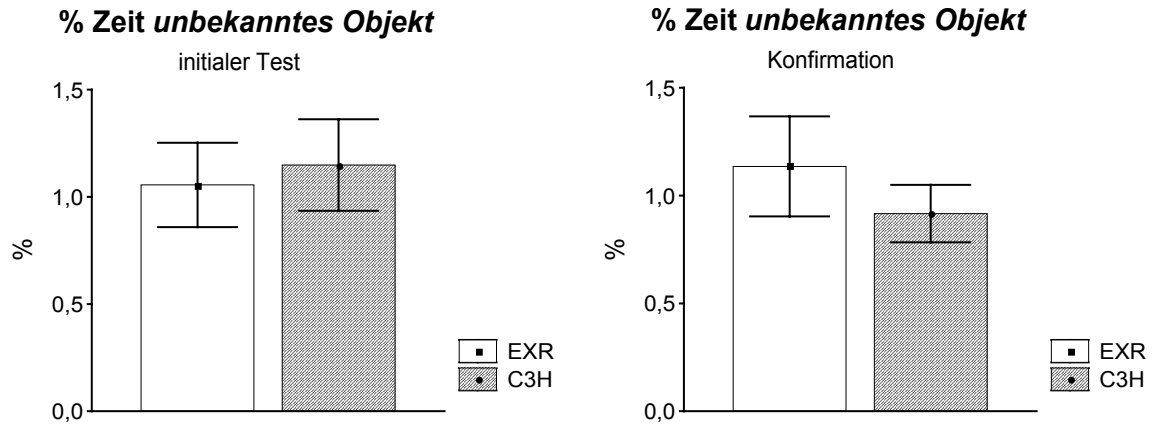


Abbildung eamHb31-36:

Bei der Exploration des *unbekannten Objektes* wurden nur im initialen Test signifikante Unterschiede deutlich (EXR: EXR002-Alpha, C3H: C3Hwt; * $p < 0.05$ für EXR vs. C3H; Mittelwert \pm SEM).

In den Parametern Latenz bis zum ersten Besuch der Trennwand in Kontakt mit der *Gruppe* und Zeit in Prozent an der Trennwand mit der *Gruppe* konnten in beiden Tests keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden (Abbildung eamHb37-40).

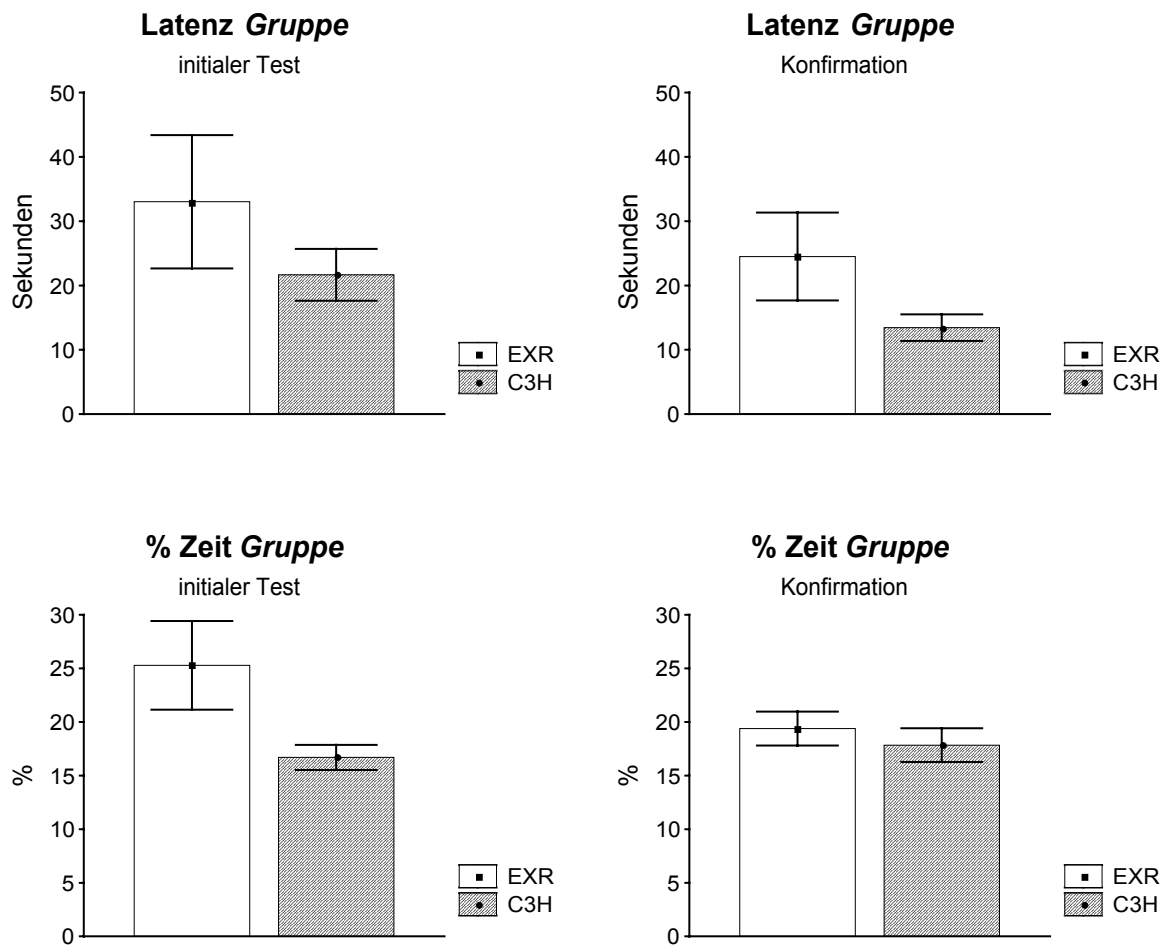


Abbildung eamHb37-40:

Bei der sozialen Affinität (Gruppenkontakt) ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in beiden Tests (EXR: EXR002-Alpha, C3H: C3Hwt; * $p < 0.05$ für EXR vs. C3H; Mittelwert \pm SEM).

3. 2. 2. Versuch 2b: Elevated Plus-Maze

Eine Woche nach dem zweiten mHb Test (Konfirmation) wurde mit einer Gruppe von EXR002-Alpha Mäusen (n=10) und C3Hwt Mäusen (n=14) ein EPM Test durchgeführt um ihr Angstverhalten zu überprüfen (Siehe Material und Methoden: S. 21). Die Ergebnisse der einfaktoriellen Varianzanalyse sind in der Tabelle 6 aufgeführt.

Bei dem Vergleich von EXR002-Alpha Mäusen mit C3Hwt Mäusen zeigte sich, dass die Parameter des Explorationsverhalten, *rearings* und *head dips*, bei den EXR002-Alpha Mäusen signifikant reduziert waren gegenüber den C3Hwt Mäusen (Abbildung eapm1+3). Ebenso war bei den EXR002 Alpha Mäusen die Latenz bis zum ersten *rearing* signifikant länger (Abbildung: eaepm2)

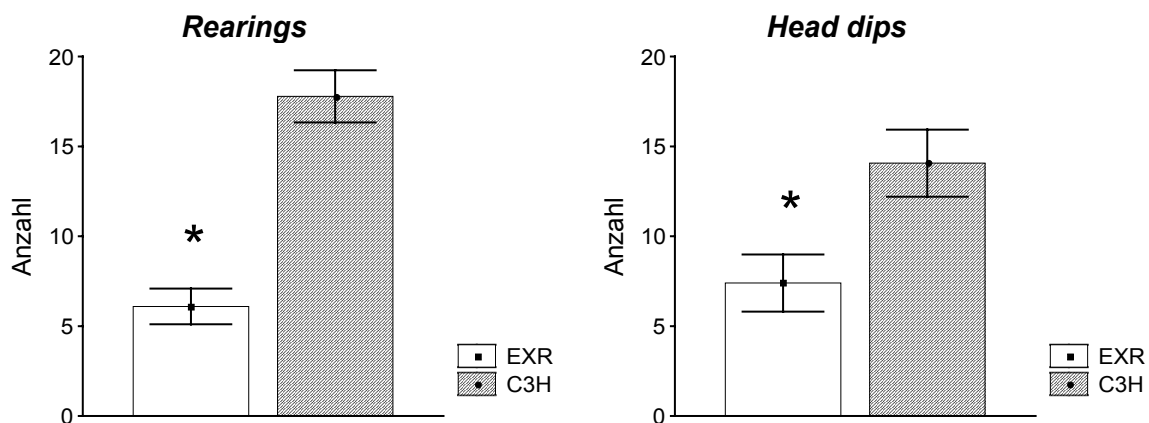


Abbildung eaepm1 + 3:

Bei den Parametern für das Explorationsverhalten, *rearings* und *head dips*, zeigte sich eine signifikant niedrigere Aktivität bei den EXR002-Alpha Mäusen gegenüber den C3Hwt Mäusen (EXR: EXR002-Alpha, C3H: C3Hwt; * $p < 0.05$ für EXR vs. C3H; Mittelwert \pm SEM).

Bei den Parametern, die das Angstverhalten im EPM indizieren, zeigte sich nur bei der Anzahl der Eintritte in den *offenen Arm* ein signifikanter Unterschied: die EXR002-Alpha Mäuse betraten weniger oft den *offenen Arm* als die C3Hwt Mäuse (Abbildung: eaepm4). Die Latenz bis zum ersten Betreten des *offenen Armes* blieb ohne signifikantes Ergebnis.

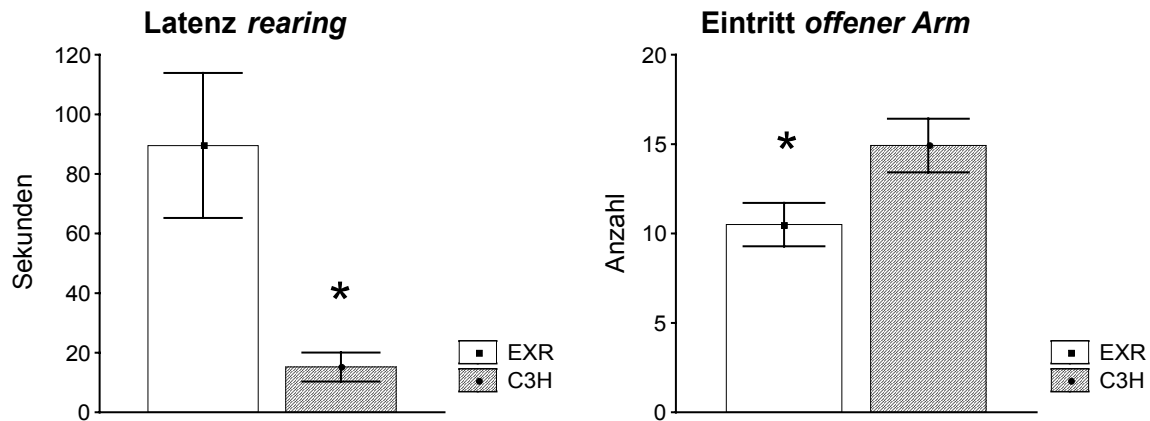


Abbildung eaepm2 + 4:

Die EXR002-Alpha Mäuse benötigten signifikant länger bis sie zum ersten mal ein *rearing* im geschlossenem Arm zeigten und sie betreten den *offenen Arm* weniger oft als die C3Hwt Mäuse (EXR: EXR002-Alpha, C3H: C3Hwt; * $p < 0.05$ für EXR vs. C3H; Mittelwert \pm SEM).

Insgesamt zeigten die EXR002-Alpha Mäuse eine etwas verringerte Aktivität. Sie betreten weniger den *geschlossenen Arm* und die *Plattform*, ebenso verbrachten sie weniger Zeit auf dem *offenen Arm*. Keine Unterschiede zeigten sich bei den beiden Mauslinien bei den folgenden Parametern: verbrachte Zeit auf der *Plattform* und im *geschlossenen Arm*, sowie Latenz bis zum ersten Betreten des *geschlossenen Armes*. Die Parameter für die physiologische Erregung, Latenz *grooming* und Zeit in Prozent *grooming*, waren ohne signifikante Unterschiede. Ebenso verhielt es sich bei dem Parameter der Risikoabschätzung (*risk assessment*). Bei beiden Mauslinien zeigten sich keine Unterschiede in der Cort Konzentration bei der Blutanalyse.

3. 2. 3. Versuch 2c: Forced swim Test nach Porsolt

Zur weiteren Überprüfung des Angstverhaltens wurde ein Forced swim Test nach Porsolt (1977) mit EXR002-Alpha Mäusen ($n=7$) und mit C3Hwt Mäusen ($n=7$) durchgeführt. Der Versuch wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt, mit je einem Versuchsdurchgang mit jedem Tier pro Tag (Siehe Material und Methoden: S. 18). Die Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung sind in der Tabelle 7 aufgeführt.

Die EXR002-Alpha Mäuse verbrachten am 2. Versuchstag signifikant mehr Zeit mit *floating* als die C3Hwt Mäuse (Abbildung exrafs3). Am 2. Versuchstag war die Latenz bis zum ersten mal *floating* bei den C3Hwt Mäusen signifikant länger als bei den EXR002-Alpha Mäusen (Abbildung exrafs1). Bei den C3Hwt Mäusen war die Anzahl *floating* am 2. Versuchstag

signifikant geringer als am 1. Versuchstag. Ebenso signifikant geringer war sie gegenüber den EXR002-Alpha Mäusen am 1. Versuchstag (Abbildung exrafs2).

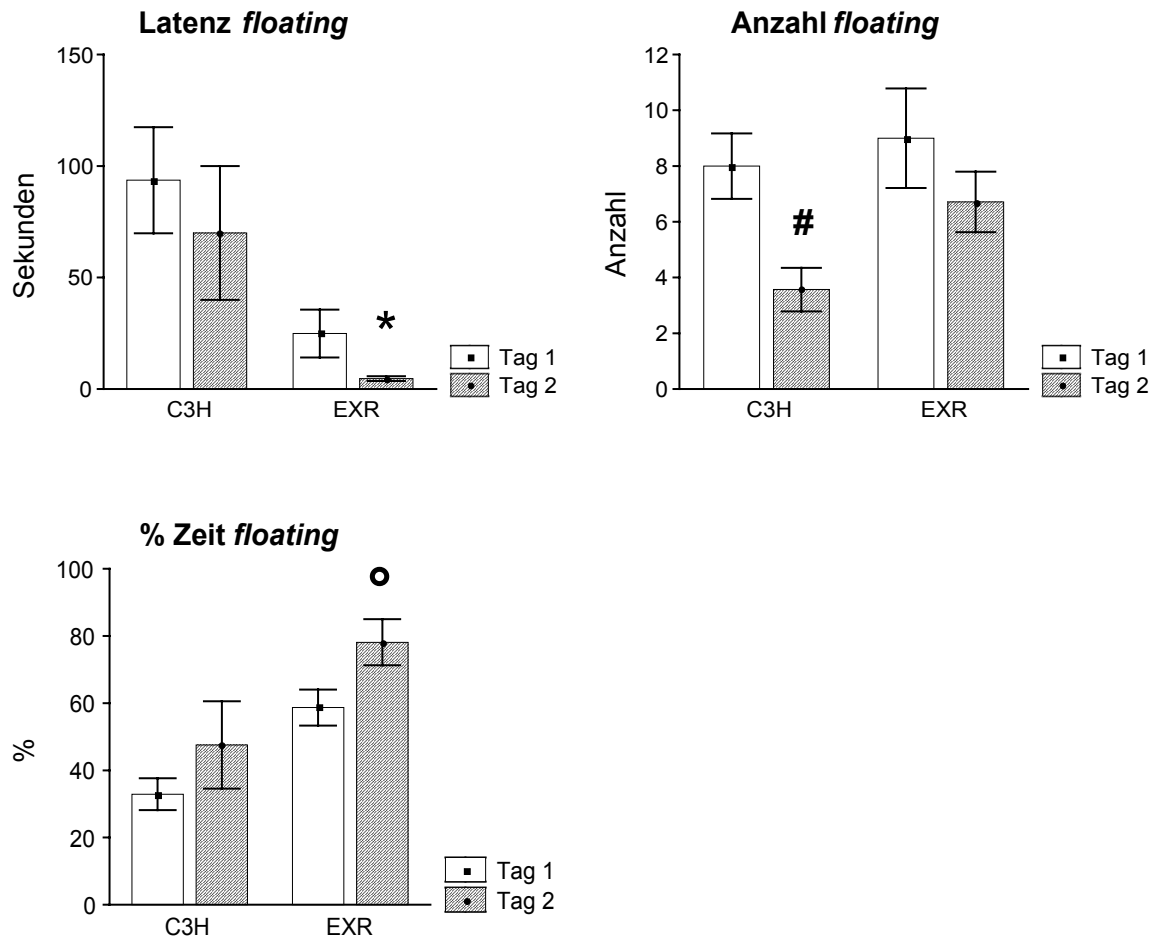


Abbildung exrafs1-3:

Am 2. Versuchstag war die Latenz bis zum ersten *floating* bei den C3Hwt Mäusen signifikant länger als bei den EXR002-Alpha Mäusen. Die C3Hwt Mäuse zeigten am 1. Versuchstag mehr Anzahl *floating*. Die EXR002-Alpha Mäuse verbrachten am 2. Versuchstag signifikant mehr Zeit mit *floating* als die C3Hwt Mäuse (EXR: EXR002-Alpha, C3H: C3Hwt; * $p < 0.05$ für EXR 2. Tag vs. C3H; # $p < 0.05$ für C3H 2. Tag vs. C3H 1. Tag und EXR 1. Tag; ° $p < 0.05$ für EXR 2. Tag vs. C3H 1. + 2. Tag; Mittelwert \pm SEM).

Die EXR002-Alpha Mäuse und die C3Hwt Mäuse zeigten am 1. Versuchstag eine signifikant höhere Anzahl *swimming* als am 2. Versuchstag (Abbildung exrafs4). Am 2. Versuchstag war die Zeit in Prozent *swimming* bei den EXR002-Alpha Mäusen signifikant reduziert gegenüber den C3Hwt Mäusen.

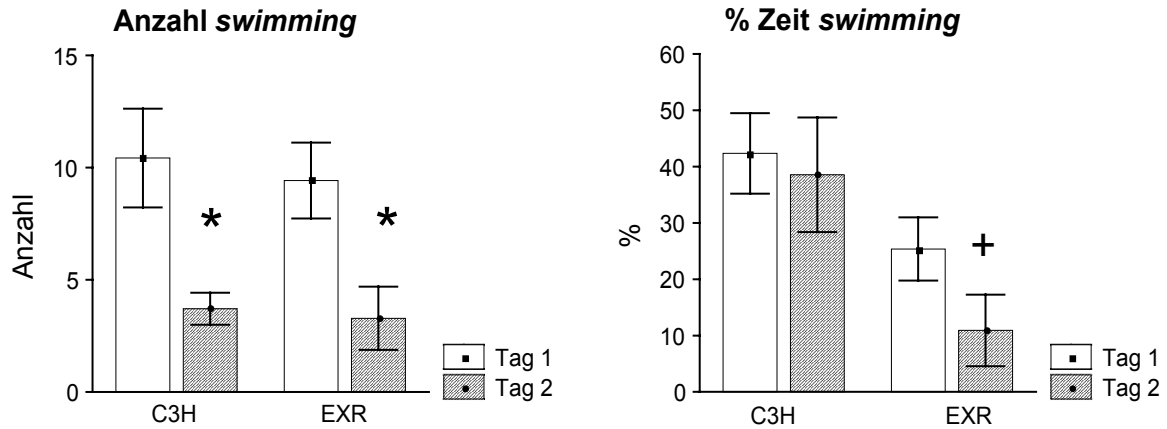


Abbildung exrafs4-5:

Die EXR002-Alpha Mäuse und die C3Hwt Mäuse zeigten signifikant öfter *swimming* am 1. Versuchstag. Am 2. Versuchstag war die Zeit in Prozent *swimming* bei den EXR002-Alpha Mäusen reduziert gegenüber den C3Hwt Mäusen (EXR: EXR002-Alpha, C3H: C3Hwt; * $p < 0.05$ für 1. Tag vs. 2. Tag; + $p < 0.05$ für C3H vs. EXR002 am 2. Tag; Mittelwert \pm SEM).

Signifikante Effekte wurden auch bei dem Parameter *struggling* gefunden. Der Parameter Anzahl *struggle* war am 2. Versuchstag bei den C3Hwt Mäusen signifikant geringer als am 1. Versuchstag und als bei den EXR002-Alpha Mäusen am 1. und 2. Versuchstag ($F_{1/12}=5.820$; $p < 0.03$; Abbildung: exrafs6). Bei der Zeit in Prozent *struggle* verbrachten die C3Hwt Mäusen am 1. Versuchstag signifikant mehr Zeit mit *struggling* als am 2. Versuchstag und als die EXR002-Alpha Mäuse an beiden Tagen ($F_{1/12}=6.581$; $p < 0.02$; Abbildung: exrafs7).

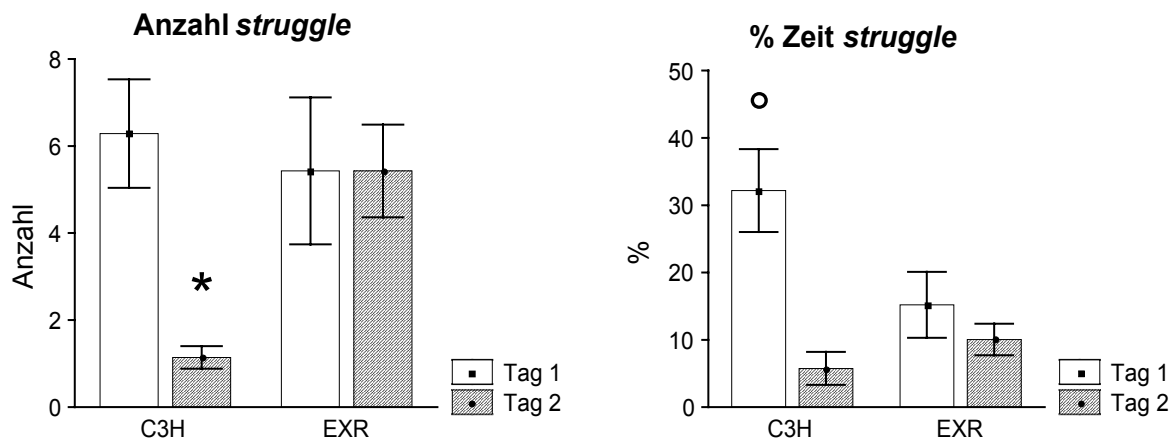


Abbildung exrafs6-7:

Die C3Hwt Mäuse zeigten am 1. Versuchstag signifikant weniger *struggle* als am 2. Versuchstag und als die EXR002-Alpha Mäuse am 1. + 2. Versuchstag (EXR: EXR002-Alpha, C3H: C3Hwt; * $p < 0.05$ für C3H 2. Tag vs. C3H 1. Tag und EXR 1. + 2. Tag; ° $p < 0.05$ für C3H 1. Tag vs. C3H 2. Tag und EXR 1. + 2. Tag; Mittelwert \pm SEM).

Bei der Analyse des Blutplasma konnten signifikante Unterschiede bei den Cort Werten gefunden werden. Die C3Hwt Mäuse hatten am 1. Versuchstag eine signifikant geringere Cort Konzentration im Blut als am 2. Versuchstag und als die EXR002-Alpha Mäuse an beiden Tagen (Abbildung exrafs8).

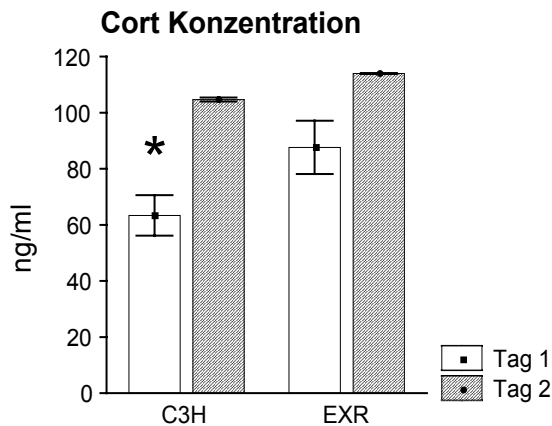


Abbildung exrafs8:

Die C3Hwt Mäuse zeigten am 1. Versuchstag eine signifikant geringere Cort Konzentration als am 2. Versuchstag und als die EXR002-Alpha Mäuse am 1. + 2. Versuchstag (EXR: EXR002-Alpha, C3H: C3Hwt; * $p < 0.05$ für C3H 2. Tag vs. C3H 1. Tag und EXR 1. + 2. Tag; Mittelwert \pm SEM).

3. 2. 4. Versuch 2d: mHb mit Paroxetin Behandlung

Um die Wirkung eines Antidepressivums auf das Verhalten der EXR002-Alpha Mäuse und der C3Hwt Mäuse zu untersuchen wurde den Tieren chronisch Paroxetin durch das Trinkwasser verabreicht. Eine Woche nach dem zweiten mHb Test (Konfirmation) wurden die EXR002-Alpha Mäuse (n=8) und C3Hwt Mäuse (n=8) für 21 Tage mit Paroxetin behandelt. Eine weitere Gruppe EXR002-Alpha Mäuse (n=8) und C3Hwt Mäuse (n=7) bekam in der Zeit Vehikel (Wasser) ebenfalls durch das Trinkwasser verabreicht. Anschließend wurde ein mHb Test (Siehe Material und Methoden: S. 13 und S. 31). Die Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse sind in der Tabelle 8 aufgeführt.

Die Behandlung durch Paroxetin bewirkte bei den EXR002-Alpha Mäusen eine signifikante Verlängerung der Latenz bis zum ersten *grooming* im Vergleich zu allen anderen Versuchsgruppen ($F_{1/30} = 18.028$, $p < 0.00$; Abbildung eamHbp1).

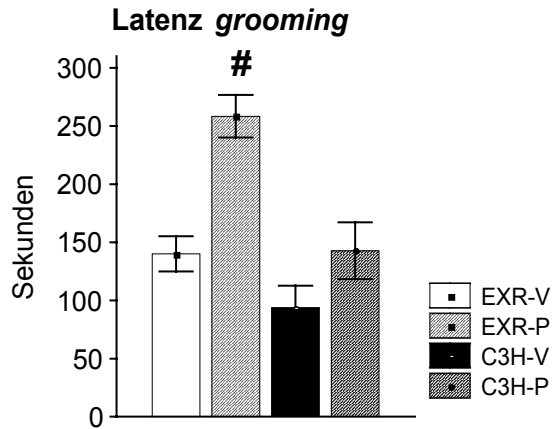


Abbildung eamHbp1:

Die EXR002-Alpha Mäuse zeigten durch die Behandlung eine längere Latenz bis zum ersten *grooming* (EXR-V: EXR002 Vehikel-Behandlung; EXR-P: EXR002 Paroxetin-Behandlung; C3H-V: C3Hwt Vehikel-Behandlung; C3H-P: C3Hwt Paroxetin-Behandlung; # $p < 0.05$ EXR-P vs. EXR-V, C3H-V und C3H-S; Mittelwert \pm SEM).

Die Latenz bis zum ersten Besuch eines *Loches* auf dem *board* war bei den Paroxetin-behandelten C3Hwt Mäusen signifikant länger ($F_{1/30} = 5.318$, $p < 0.003$; Abbildung eamHbp2). Die Anzahl der besuchten *Löcher* wurde durch die Behandlung nicht beeinflusst.

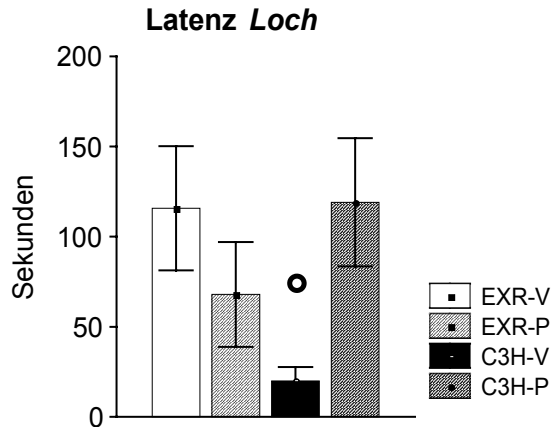


Abbildung eamHbp2:

Die C3Hwt Mäuse besuchten durch die Behandlung das erste *Loch* signifikant später als die unbehandelten Mäuse (EXR-V: EXR002 Vehikel-Behandlung; EXR-P: EXR002 Paroxetin-Behandlung; C3H-V: C3Hwt Vehikel-Behandlung; C3H-P: C3Hwt Paroxetin-Behandlung; ° $p < 0.05$ für C3H-V vs. EXR-V, EXR-P und C3H-S; Mittelwert \pm SEM).

Die Latenz bis zum ersten Besuch des *bekanntes Objektes* war bei den Paroxetin-behandelten C3Hwt Mäusen signifikant länger ($F_{1/30} = 6.886$, $p < 0.01$; Abbildung eamHbp3-4). Bei den C3Hwt Mäusen war die Latenz bis zum ersten Besuch des *unbekanntes Objektes* signifikant kürzer als bei den EXR002-Alpha Mäusen. Bei der Objektexploration traten unabhängig von

der Behandlung signifikanten Resultate bei dem Vergleich zwischen den beiden Mauslinien auf, sowohl was die Anzahl, als auch was die Latenz betraf.

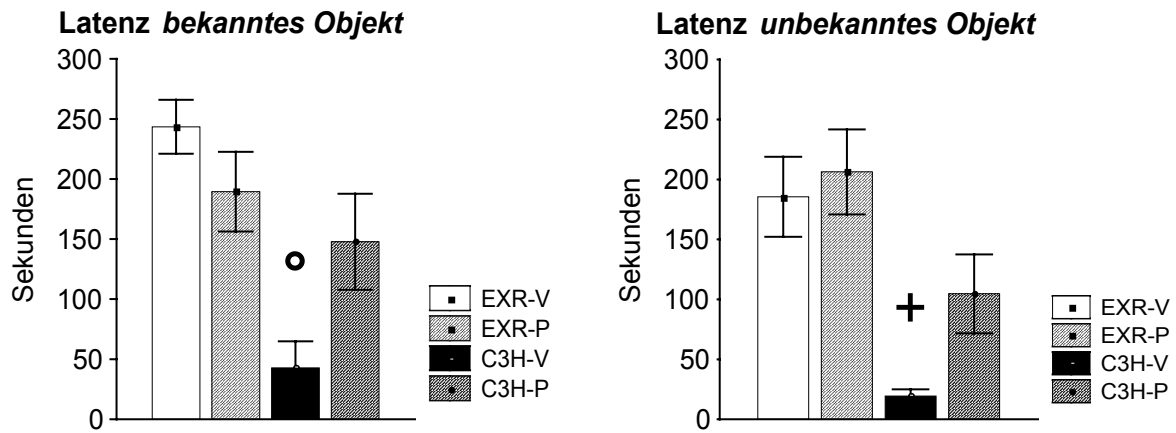


Abbildung eamHbp3-4:

Die C3Hwt Mäuse zeigten durch die Behandlung eine längere Latenz bis zum ersten Besuch des *bekannten- und unbekanntes Objektes* (EXR-V: EXR002 Vehikel-Behandlung; EXR-P: EXR002 Paroxetin-Behandlung; C3H-V: C3Hwt Vehikel-Behandlung; C3H-P: C3Hwt Paroxetin-Behandlung; ° $p < 0.05$ für C3H-V vs. EXR-V, EXR-S und C3H-S; + $p < 0.05$ für C3H-V vs. EXR-V und EXR-S; Mittelwert \pm SEM).

Die Anzahl der *Linienübertritte* war signifikant erhöht bei den Vehikel-behandelten C3Hwt Mäusen ($F_{1/30} = 6.986$, $p < 0.000$; Abbildung eamHbp5-6). Die Latenz bis zum ersten *Linienübertritt* war ohne signifikante Unterschiede.

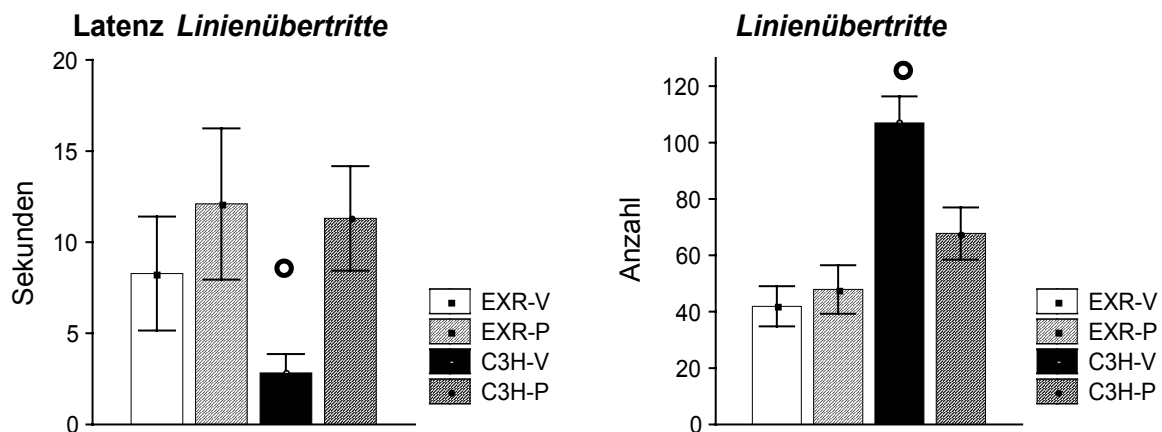


Abbildung eamHbp5-6:

Die C3Hwt Mäuse zeigten durch die Paroxetin-Behandlung eine Reduktion der *Linienübertritte* (EXR-V: EXR002 Vehikel-Behandlung; EXR-P: EXR002 Paroxetin-Behandlung; C3H-V: C3Hwt Vehikel-Behandlung; C3H-P: C3Hwt Paroxetin-Behandlung; ° $p < 0.05$ für C3H-V vs. C3H-P; Mittelwert \pm SEM).

Keine Effekte durch die Paroxetin-Behandlung traten bei dem generellen Explorationsverhalten auf. Die Anzahl der *rearings* in der *box* und auf dem *board* und die Latenz bis zum ersten *rearing* in der *box* und auf dem *board* war ohne signifikante Unterschiede. Nur bei dem Vergleich zwischen den beiden Mauslinien trat bei den Parametern *rearing* und Latenz *rearing* signifikante Unterschiede auf.

Die mit Paroxetin-behandelten EXR002-Alpha Mäuse betraten das *board* signifikant öfter als die Vehikel-behandelten Mäuse ($F_{1/30}=7.016$, $p<0.04$; Abbildung eamHbp7). Bei dem Parameter Latenz bis zum ersten Betreten des *boards* zeigte sich nur bei den Vehikel-behandelten Mauslinien ein signifikanter Unterschied ($F_{1/30}=5.708$, $p<0.04$; Abbildung eamHbp8).

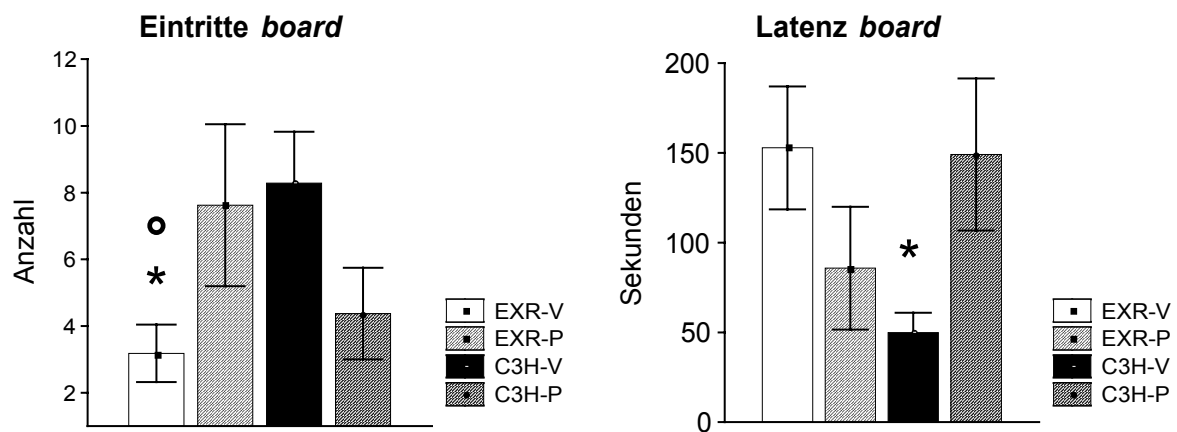


Abbildung eamHbp7-8:

Die Paroxetin-Behandlung erhöhte die Anzahl der Eintritte auf das *board* bei den EXR002-Alpha Mäusen. Die Latenz bis zum ersten Betreten des *boards* war bei den Vehikel behandelten EXR002-Alpha Mäusen signifikant länger als bei den C3Hwt Mäusen (EXR-V: EXR002 Vehikel-Behandlung; EXR-P: EXR002 Paroxetin-Behandlung; C3H-V: C3Hwt Vehikel-Behandlung; C3H-P: C3Hwt Paroxetin-Behandlung; * $p<0.05$ für C3H-V vs. EXR-V; ° $p<0.05$ für EXR-V vs. EXR-P; Mittelwert \pm SEM).

Durch die Behandlung mit Paroxetin erhöhte sich das Körpergewicht der beiden Mauslinien innerhalb von 21 Tagen signifikant gegenüber den Vehikel-behandelten Mäusen ($F_{1/30}=10.714$, $p<0.00$; Abbildung eamHb9). Die durchschnittliche Menge an Paroxetin im Blutserum der behandelten Mäuse betrug am Tage des Testes 1224 ng/ml (Abbildung eamHbp10). Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Mauslinien was die Konzentration an Paroxetin betraf.

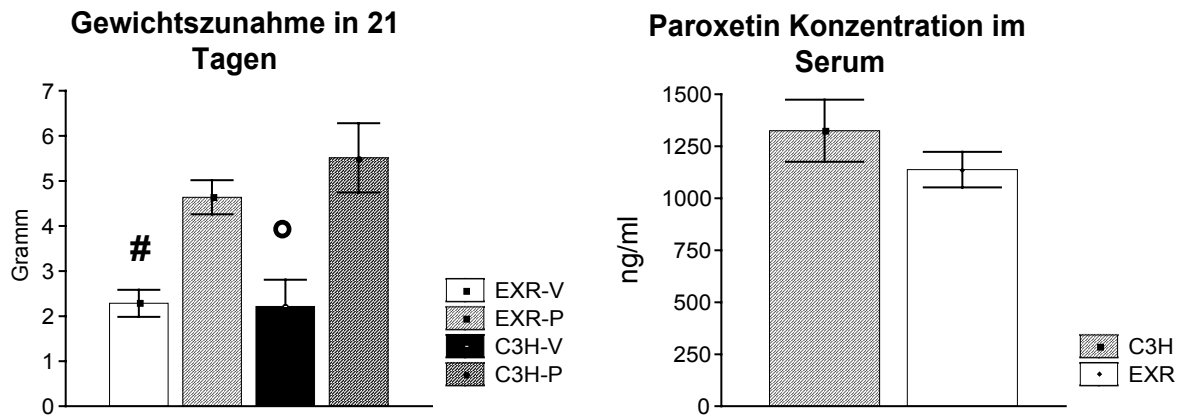


Abbildung eamHbp9-10:

Die beiden Mauslinien zeigten durch die Paroxetin Behandlung eine signifikante Erhöhung ihres Körpergewichtes. Die ermittelte Menge an Paroxetiningehalt im Blut für C3Hwt Mäuse und EXR002 Alpha Mäuse war am Test Tag nicht signifikant unterschiedlich (EXR-V: EXR002 Vehikel-Behandlung; EXR-P: EXR002 Paroxetin-Behandlung; C3H-V: C3Hwt Vehikel-Behandlung; C3H-P: C3Hwt Paroxetin-Behandlung; # $p < 0.05$ für C3H-V vs. C3H-P; ° $p < 0.05$ für EXR-V vs. EXR-P; Mittelwert \pm SEM).

3. 2. 5. Versuch 2e: Initiale Charakterisierung und Konfirmation der EXR002-Hybrid Mäuse

Der Verhaltensphänotyp der EXR002-Hybrid Mäuse ($n=39$) wurde im zweimal mHb getestet und mit C3H/BL6wt-Hybrid ($n=26$) Mäusen verglichen (Siehe Material und Methoden: S. 12 - 13). Der zweite mHb Test wurde zur Konfirmation der im ersten, initialen Test ermittelten Verhaltensdaten eine Woche später mit den selben Mäusen durchgeführt. Die Durchführung des mHb Tests ist auf dieselbe Weise wie bei den EXR002-Alpha Mäusen (wie oben beschrieben) durchgeführt worden. Die Ergebnisse wurden mit einer ANOVA mit Messwiederholung analysiert, wobei die Mauslinie als unabhängige Variable definiert wurde. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 9 aufgeführt. Bei einer signifikanten Interaktion der Faktoren wurde eine post-hoc Analyse gemacht. Die aufgeführten Freiheitsgrade und p-Werte beziehen sich hier auf die Interaktion von Mauslinie und Versuchsdurchgang und deren Ergebnisse der post-hoc Analyse.

Bei dem Vergleich der C3H/BL6wt-Hybriden mit den EXR002-Hybriden im initialen Test erbrachte die Analyse der Angstparameter, dass die Zeit in Prozent auf den *board* bei den EXR002-Hybriden gegenüber den C3H/BL6wt-Hybriden signifikant verringert war (Abbildung: ehmbh1). Im Konfirmations-Test war die Zeit in Prozent auf dem *board* bei den EXR002-Hybriden signifikant geringer als im initialen Test. Die Latenz bis zum ersten betreten des *boards* war bei den EXR002-Hybriden im Konfirmations-Test signifikant kürzer

als im initialen Test. Die Anzahl der Eintritte auf das *board* war bei den EXR002-Hybrid Mäusen in beiden Tests signifikant verringert (Abbildung: ehmbh2-3).

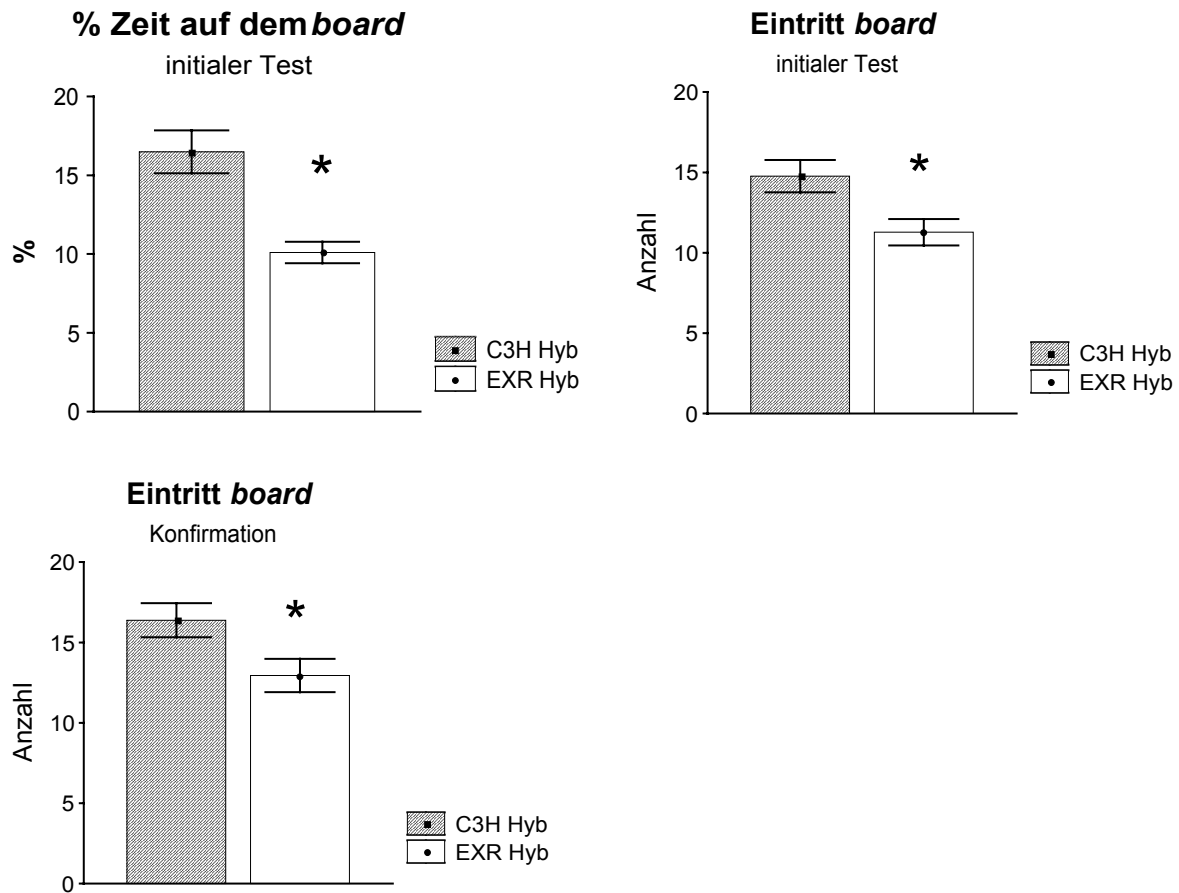


Abbildung ehmHb1-3:

Die EXR002-Hybriden verbrachten im initialen Test weniger Zeit in der ungeschützten Mitte des *hole boards* und sie betraten in beiden Tests weniger oft das *board* als die C3H/BL6wt Hybriden (C3H Hyb: C3H/BL6wt Hybriden, EXR Hyb: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$; Mittelwert \pm SEM).

Im initialen mHb Test zeigte sich in den Parametern, die die gerichtete- und ungerichtete Exploration indizieren, signifikante Unterschiede zwischen den beiden Mauslinien. So machten die EXR002-Hybriden signifikant weniger oft *rearings* in beiden Tests und taten im initialen Test signifikant später das erste *rearing* als die C3H/BL6wt Hybriden. Die Latenz bis zum ersten *rearing* war bei den EXR002-Hybriden im Konfirmations-Test signifikant kürzer als im initialen Test ($F_{1/63} = 8.638$, $p < 0.000$; Abbildung ehmHb4-6). Die EXR002-Hybrid Mäuse besuchten signifikant später das erste *Loch* und explorierten signifikant weniger *Löcher* auf den *board* in beiden Tests (Abbildung ehmHbk7-10). Signifikante Effekte wurden gefunden bei der Latenz und Anzahl der *rearings* auf dem *board* in beiden Tests. Die EXR002-Hybrid Mäuse zeigten signifikant weniger *rearings* und hatten eine längere Latenz

bis zum ersten *rearing* auf dem *board* als die C3H/BL6wt-Hybriden (Latenz *rear board*: $F_{1/63}=3.943$, $p<0.000$; Abbildung ehmHb11-14).

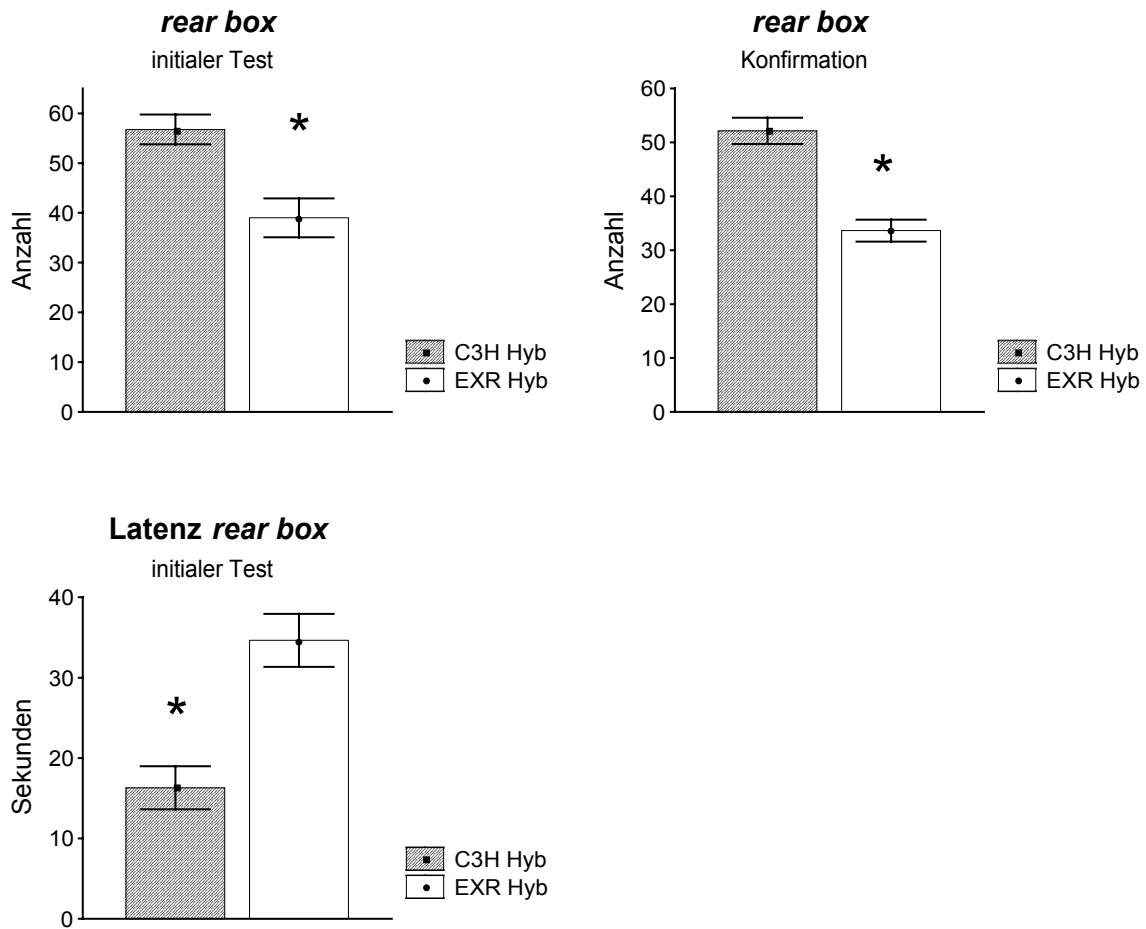
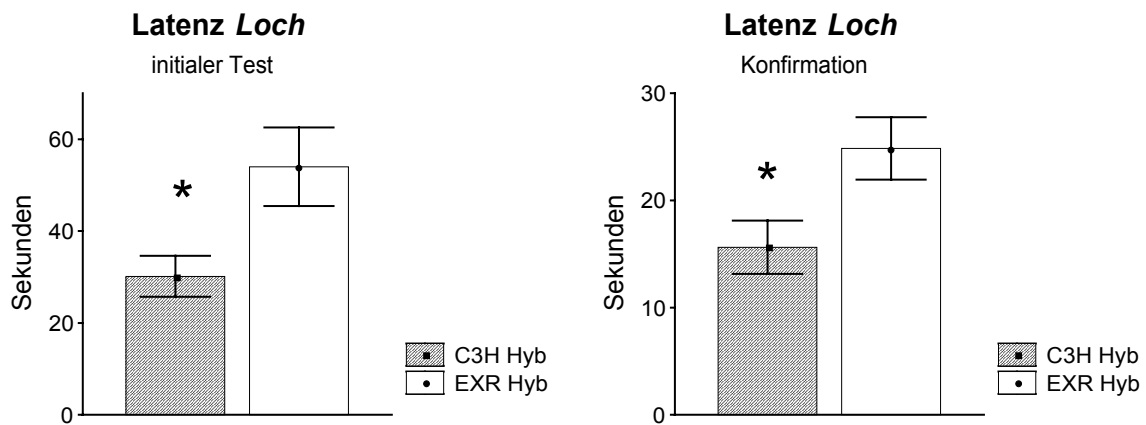


Abbildung ehmHb4-6:

Im Explorationsverhalten zeigten sich signifikante Effekte zwischen den C3H/BL6wt-Hybriden und den EXR002-Hybriden (C3H Hyb: C3H/BL6wt Hybriden, EXR Hyb: EXR002 Hybriden; * $p<0.05$; Mittelwert \pm SEM).



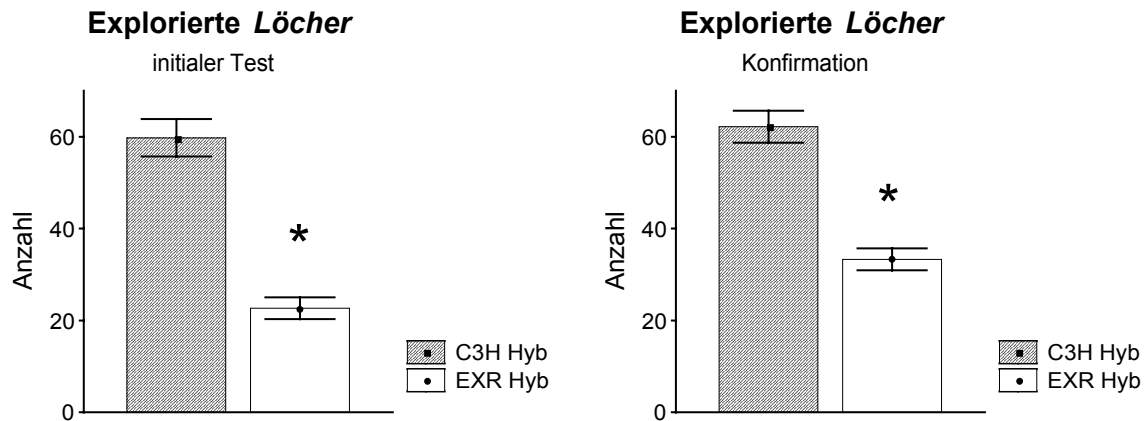


Abbildung ehmHb7-10:

Im Explorationsverhalten mit den *Löchern* zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den EXR002-Hybriden und den C3H/BL6wt-Hybriden (C3H Hyb: C3H/Bl6wt Hybriden, EXR Hyb: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$; Mittelwert \pm SEM).

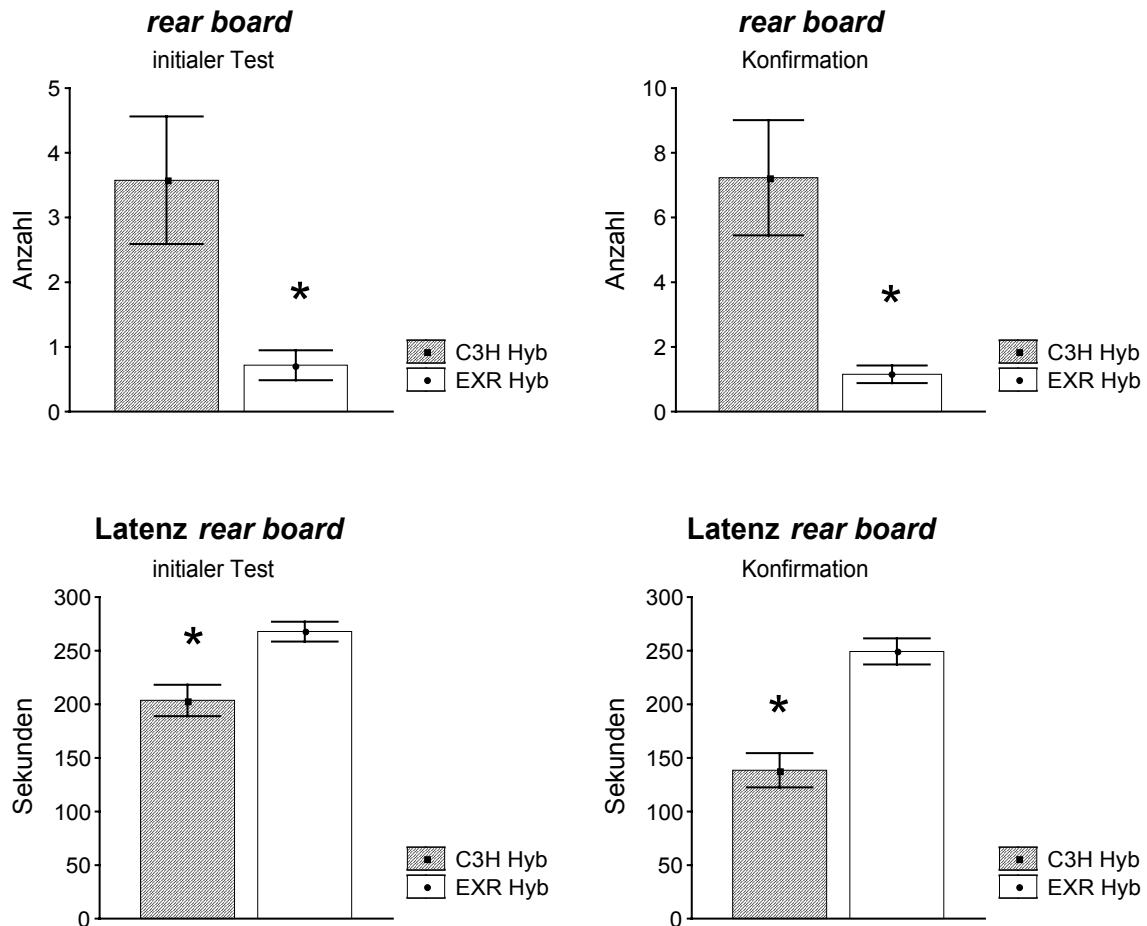


Abbildung ehmHbk11-14:

Das Explorationsverhalten der EXR002-Hybriden auf dem *board* war gegenüber den C3H/BL6wt-Hybriden vermindert (C3H Hyb: C3H/Bl6wt Hybriden, EXR Hyb: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$; Mittelwert \pm SEM).

Die EXR002-Hybriden hatten eine signifikant längere Latenz bis zum ersten *Linienübertritt* in beiden Tests, wogegen sie sich aber in der Lokomotion (Anzahl Linienübertritte) nicht von den C3HBL6wt-Hybrid Mäusen unterschieden ($F_{1/63}=5.796$, $p<0.000$; Abbildung ehmHb15-16). Die Anzahl der *Linienübertritte* verringerte sich bei beiden Mauslinien signifikant im Konfirmations-Test gegenüber dem initialen Test.

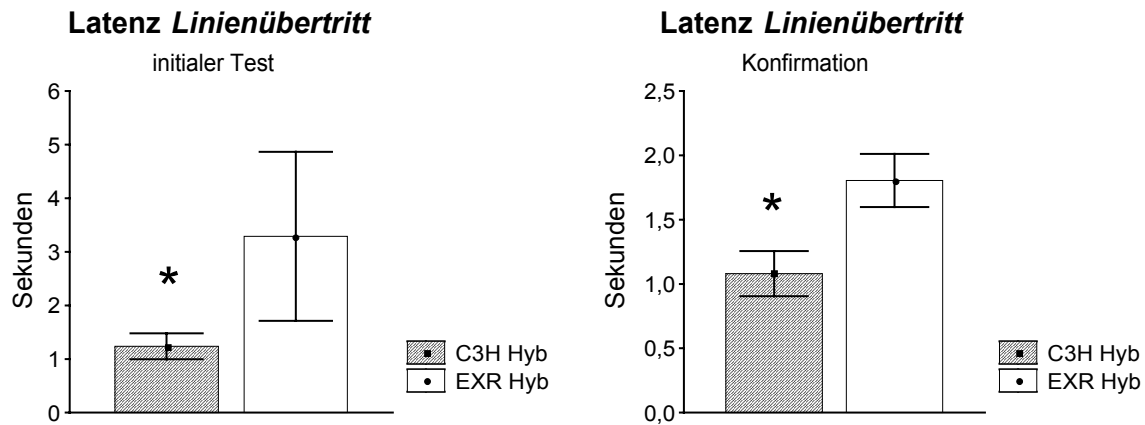


Abbildung ehmHbk15-16:

Die EXR002-Hybriden begannen später die erste Linie zu übertreten als die C3H/BL6wt-Hybriden (C3H Hyb: C3H/BL6wt Hybriden, EXR Hyb: EXR002 Hybriden; * $p<0.05$; Mittelwert \pm SEM).

Die EXR002-Hybriden explorierten das *bekannte Objekt* signifikant früher als die C3H/BL6wt-Hybriden in beiden Tests (Abbildung ehmHb17). Im Konfirmations-Test besuchten die C3H/BL6wt-Hybrid Mäuse das *bekannte Objekt* signifikant öfter und früher als die EXR002-Hybrid Mäuse ($F_{1/63}=4.346$, $p<0.02$; Abbildung ehmHb18). Die EXR002-Hybrid Mäuse verbrachten im Konfirmations-Test signifikant mehr Zeit mit den *bekannten Objekten* als die C3H/BL6wt-Hybriden. Signifikante Unterschiede traten bei der Exploration des *unbekannten Objektes* im Konfirmations-Test auf: Die EXR002-Hybrid Mäuse explorierten das *unbekannte Objekt* signifikant länger als die C3H/BL6wt-Hybriden (Abbildung ehmHb19-20).

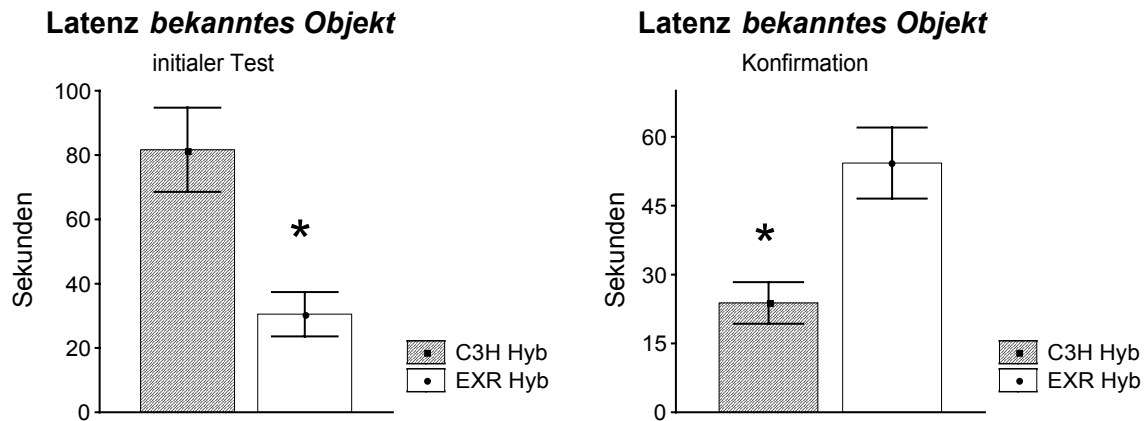


Abbildung ehmHb17-18:

Die C3H/BL6wt-Hybriden explorierten signifikant früher das bekannte Objekt (C3H Hyb: C3H/BL6wt Hybriden, EXR Hyb: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$; Mittelwert \pm SEM).

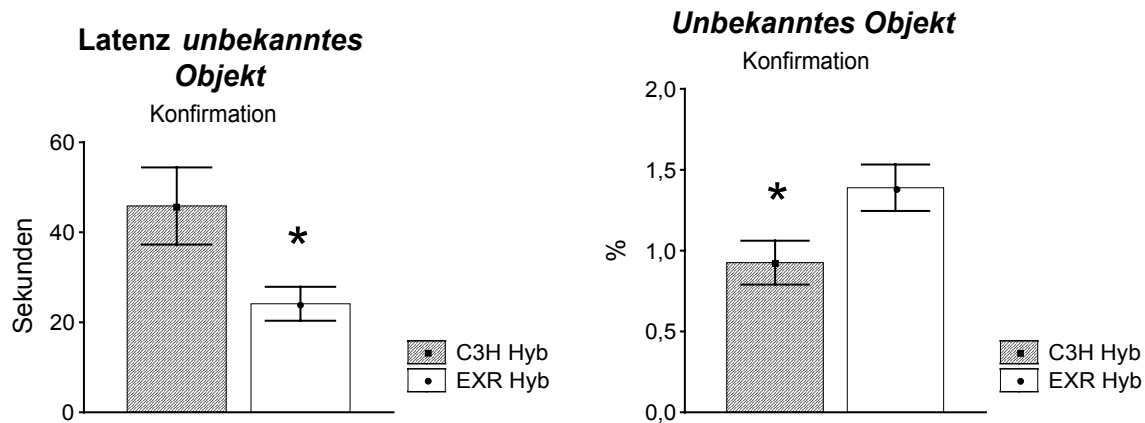


Abbildung ehmHbk19-20:

Im Konfirmations-Test war das Verhalten der EXR002-Hybrid Mäuse gegenüber den *unbekannten Objekten* verändert. Sie explorierten sie früher und länger als die C3H/BL6wt-Hybriden (C3H Hyb: C3H/BL6wt Hybriden, EXR Hyb: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$; Mittelwert \pm SEM).

Für die Parameter zur sozialen Affinität der Mäuse zu ihrer Gruppe gab es signifikante Unterschiede. Die EXR002-Hybrid Mäuse verbrachten signifikant mehr Zeit an der Trennwand in beiden Tests als die C3H/BL6-Hybrid Mäuse (Abbildung ehmHb21-22).

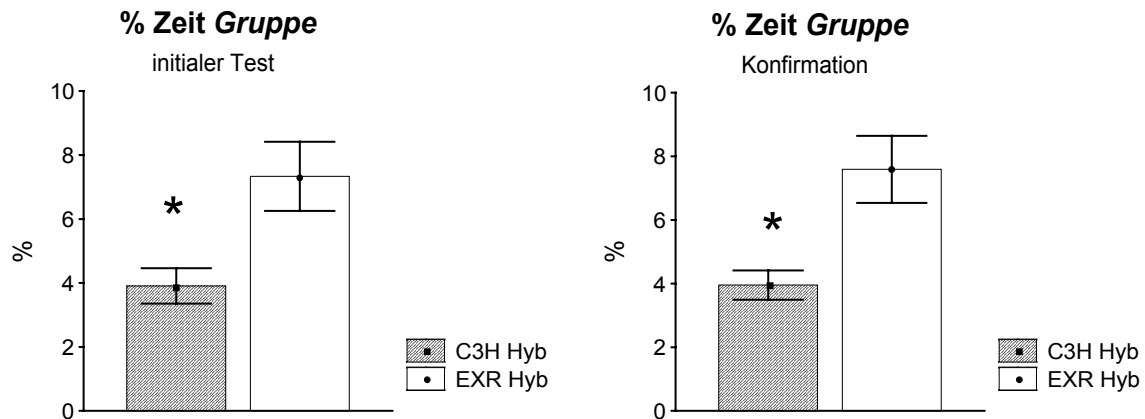


Abbildung ehmHbk20-21:

In beiden Tests verbrachten EXR002-Hybrid Mäuse mehr Zeit an der Trennwand zum Gruppenkompartiment (C3H Hyb: C3H/BL6wt Hybriden, EXR Hyb: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$; Mittelwert \pm SEM).

Bei der Fellpflege (Latenz *grooming*) reduzierte sich bei beiden Mauslinien die Latenz bis zum ersten *grooming* signifikant im Konfirmations-Test gegenüber der Latenz im initialen Test.

3.2.6. Versuch 2f: Elevated Plus-Maze

Für die Untersuchung des Angstverhaltens bei den EXR002-Hybriden wurde eine Woche nach dem zweiten mHb Test (Konfirmation) mit einer Gruppe von EXR002-Hybrid Mäusen (n=7) und C3H/BL6wt-Hybrid Mäusen (n=14) ein EPM Test durchgeführt (Siehe Material und Methoden: S. 21). Die Ergebnisse der einfaktoriellen Varianzanalyse sind in der Tabelle 10 aufgeführt.

Die EXR002-Hybriden unterschieden sich in ihrem Verhalten in einer Reihe von Parametern von den C3H/BL6wt-Hybriden. Dieser Unterschied wurde besonders deutlich in den Parametern, die das Explorationsverhalten messen. Die EXR002-Hybriden zeigten signifikant weniger *rearings* und begannen später das erste *rearing* als die C3H/BL6wt Hybriden (Abbildung ehepm1-2).

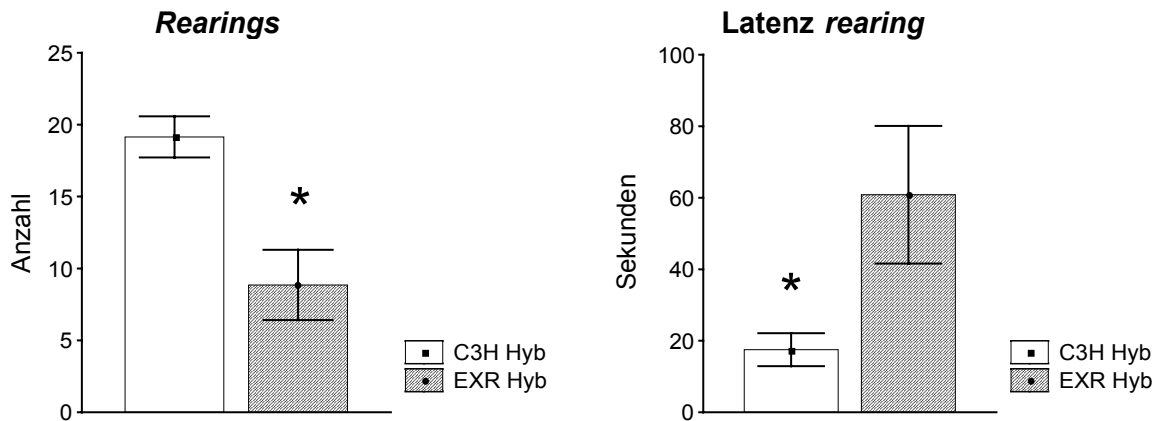


Abbildung ehepm1-2:

Die EXR002-Hybriden brauchten signifikant mehr Zeit bis sie zum ersten mal ein *rearing* zeigten und sie zeigten weniger oft *rearings* als die C3H/BL6wt Hybrid Mäuse (C3H Hyb: C3H/Bl6wt Hybriden, EXR Hyb: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$; Mittelwert \pm SEM).

Die Anzahl der *head dips* auf dem offenen Arm des EPM war ebenso gegenüber den C3H/BL6wt-Hybriden signifikant reduziert (Abbildung ehepm3).

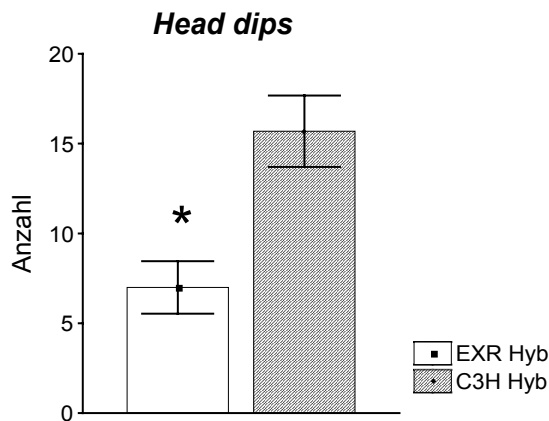


Abbildung ehepm3:

Bei dem Parameter für das Explorationsverhalten, die *head dips*, zeigte sich eine signifikant niedrigere Aktivität bei den EXR002-Hybrid Mäusen gegenüber den C3H/BL6wt-Hybrid Mäusen (C3H Hyb: C3H/Bl6wt Hybriden, EXR Hyb: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$; Mittelwert \pm SEM).

Die EXR002-Hybriden besuchten signifikant weniger oft den *offenen Arm* und die *Plattform* (Abbildung ehepm4 + ehepm6), während sie signifikant häufiger den *geschlossenen Arm* betraten als die C3H/BL6wt-Hybriden. Das Ende des *geschlossenen Armes* wurde signifikant öfter von den C3H/BL6wt Hybriden besucht (Abbildung: ehepm5 + ehepm7).

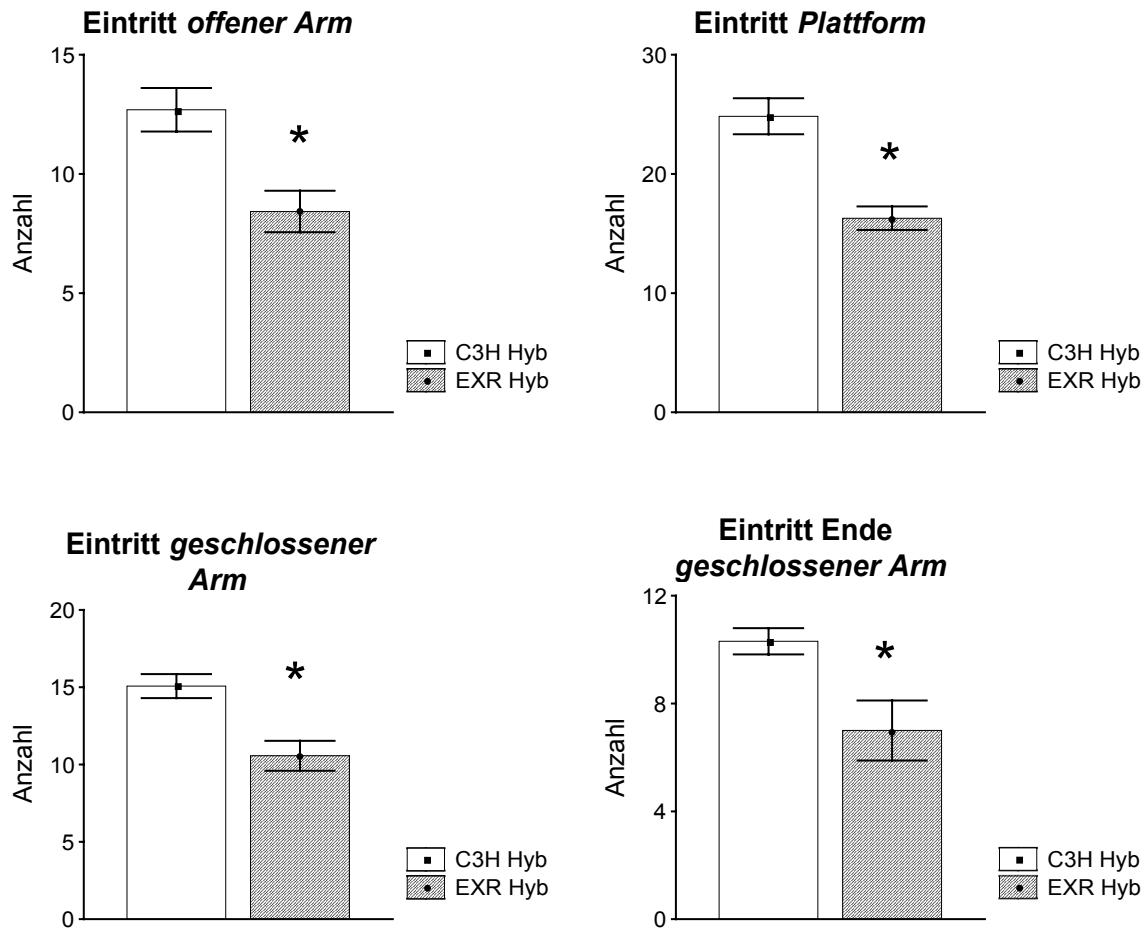


Abbildung ehepm 4 - 7:

Die EXR002-Hybriden waren in ihrer Aktivität den C3H/BL6wt Hybriden gegenüber verringert. Die EXR002-Hybriden betraten weniger oft den *offenen Arm* und die *Plattform*. Die EXR002-Hybriden betraten den *geschlossenen Arm* häufiger als die C3H/BL6wt-Hybriden, aber sie gingen weniger oft bis zum Ende des *geschlossenen Armes* (C3H Hyb: C3H/BL6wt Hybriden, EXR Hyb: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$; Mittelwert \pm SEM).

3. 2. 7. Versuch 2g: Forced swim Test nach Porsolt

Dies war der Test mit EXR002-Hybriden bei dem Weibchen getestet wurden. An dem Test nahmen EXR002-Hybrid Männchen (n=7), EXR002-Hybrid Weibchen (n=10), C3H/BL6wt-Hybrid Männchen (n=6) und C3H/BL6wt-Hybrid Weibchen (n=14) teil um das Angstverhalten der Mäuse weiter zu untersuchen. Eine Woche nach dem zweiten mHb Test (Konfirmation) wurden die Mäuse im Forced swim Test nach Porsolt (1977) getestet. Der Versuch wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt, mit je einem Versuchsdurchgang bei jedem Tier pro Tag (Siehe Material und Methoden: S. 18 und S. 32). Die Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung sind in der Tabelle 11 aufgeführt.

Bei den weiblichen EXR002-Hybrid Mäusen zeigten sich signifikante Unterschiede zu den C3H/BL6wt-Hybrid Weibchen in den Parametern Zeit in Prozent *swimming*, wobei die C3H/BL6wt-Hybriden am 2. Versuchstag signifikant weniger *swimming* gezeigt haben als die EXR002-Hybriden am 1. Versuchstag. Die EXR002-Hybrid Weibchen hatten am 2. Versuchstag signifikant längere Latenz *struggle* als die C3H/BL6wt-Hybriden am 1. Versuchstag. In dem Parameter Zeit in Prozent *struggle* war bei beiden Mauslinien am 2. Versuchstag die Zeit in Prozent geringer gegenüber dem 1. Versuchstag, wobei auch ein signifikanter Unterschied zwischen dem 1. Versuchstag beider Mauslinien zum jeweiligen 2. Versuchstag der anderen Mauslinien bestand (Abbildung ehfs1).

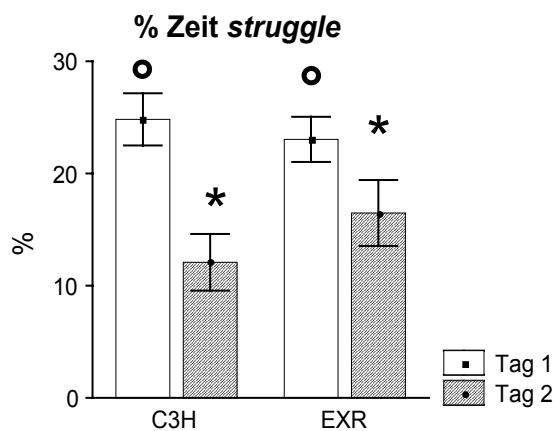


Abbildung ehfs1:

Die Mauslinien EXR002-Hybriden (EXR) und C3H/BL6wt-Hybriden (C3H) zeigten am 2. Versuchstag weniger *struggling* als am ersten Versuchstag (C3H: C3H/BL6wt Hybriden, EXR: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$ für C3H und EXR 1. Tag vs. C3H und EXR 2. Tag; ° $p < 0.05$ für C3H 1. Tag vs. EXR 2. Tag und EXR 1. Tag vs. C3H 2. Tag; Mittelwert \pm SEM).

Ebenso verhielt es sich bei dem Parameter Latenz *floating*: Bei beiden Mauslinien war am 2. Versuchstag die Latenz signifikant kürzer als am 1. Versuchstag, wobei auch hier ein signifikanter Unterschied zwischen dem 1. Versuchstag beider Mauslinien zum jeweiligen 2. Versuchstag der anderen Mauslinie bestand (Abbildung ehfs2). Bei dem Parameter Zeit in Prozent *floating* zeigten beide Mauslinien eine signifikante Erhöhung der Zeit am 2. Versuchstag, wobei es auch einen signifikanten Unterschied zum 2. Versuchstag der jeweils anderen Mauslinie gab (Abbildung ehfs3).

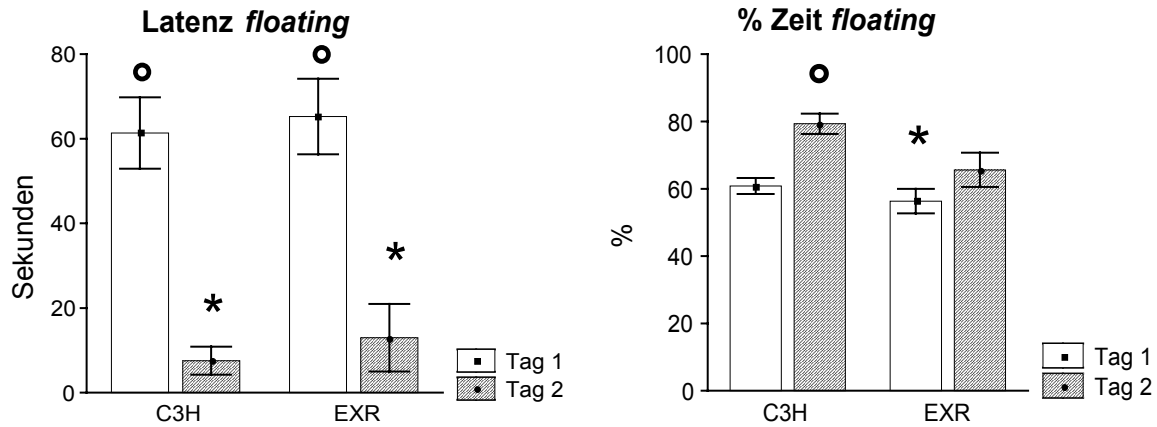


Abbildung ehfs2 - 3:

Beide Mauslinien hatten am 2. Versuchstag eine längere Latenz bis zum ersten *floating* als am 1. Versuchstag. Auch zeigten beide Mauslinien am 1. Versuchstag weniger *floating* als am 2. Versuchstag (C3H: C3H/BL6wt Hybriden, EXR: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$ für EXR 1. Tag vs. EXR 2. Tag und C3H 2. Tag; ° $p < 0.05$ für C3H 1. Tag vs. C3H 2. Tag und EXR 2. Tag; Mittelwert \pm SEM).

Die EXR002-Hybrid Weibchen verbrachten am 2. Versuchstag signifikant mehr Zeit mit *swimming* als die C3H/BL6wt-Hybrid Weibchen, dabei ergab sich ein signifikanter Unterschied für den Faktor Mauslinie ($F_{1/10} = 5.179$; $p < 0.02$; Abbildung ehfs4). Am 1. Versuchstag war die Zeit in Prozent *struggling* bei beiden Mauslinien signifikant erhöht gegenüber dem 2. Versuchstag (Abbildung ehfs5).

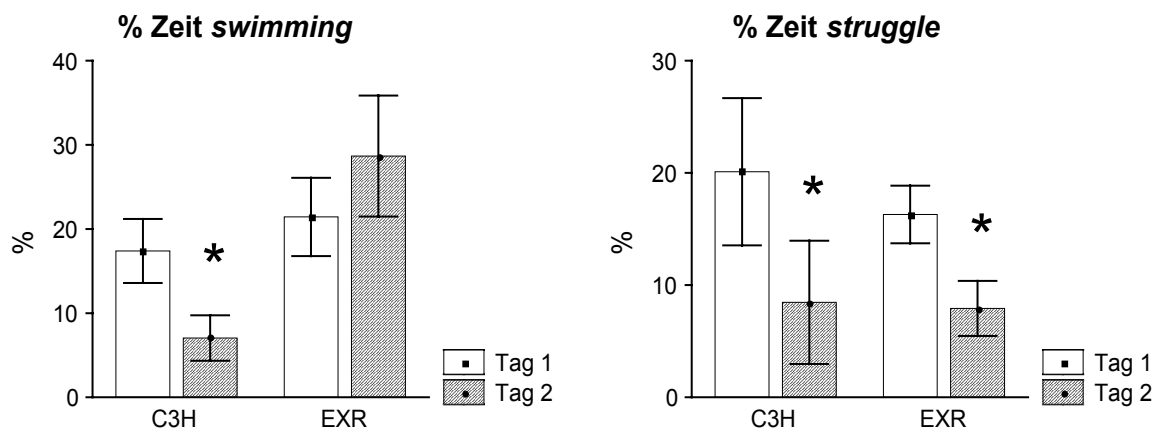


Abbildung ehfs4 - 5:

Die EXR002-Hybrid Weibchen zeigten am 2. Versuchstag mehr *swimming* als die C3H/BL6wt-Hybrid Weibchen. Bei beiden Mauslinien war die Zeit in Prozent *struggling* am 2. Versuchstag geringer (C3H: C3H/BL6wt Hybriden, EXR: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$ für 1. Tag vs. 2. Tag beider Mauslinien; Mittelwert \pm SEM).

Die EXR002-Hybrid Männchen verbrachten am 2. Versuchstag signifikant mehr Zeit in Prozent mit *swimming* als die C3H/BL6wt-Hybrid Männchen ($F_{1/10}=5.179$, $p<0.02$; Abbildung ehfs6). Ebenfalls wurde ein signifikanter Unterschied für den Faktor Mauslinie gefunden. Für beide Mauslinien zeigte sich im Parameter Zeit in Prozent *struggling* für den Faktor Versuchsdurchgang ein signifikanter Effekt. Am 1. Versuchtag war die Zeit in Prozent höher als am 2. Versuchstag (Abbildung ehfs7).

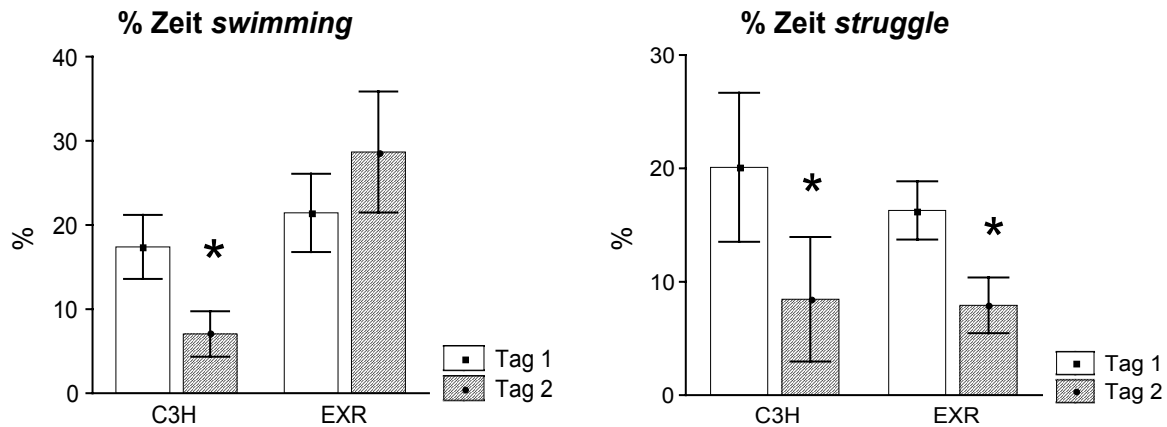


Abbildung ehfs6 - 7:

Die EXR002-Hybrid Männchen zeigten am 2. Versuchstag mehr *swimming* als die C3H/BL6wt-Hybrid Männchen. Die Zeit in Prozent *struggling* war bei beiden Mauslinien am 1. Versuchstag signifikant erhöht gegenüber dem 2. Versuchstag (C3H: C3H/BL6wt Hybriden, EXR: EXR002 Hybriden; * $p<0.05$ für 1. Tag vs. 2. Tag; Mittelwert \pm SEM).

In dem Parameter Latenz *floating* zeigte sich bei beiden Mauslinien derselbe signifikante Effekt, bei dem eine signifikant geringere Latenz bis zum ersten *floating* am 2. Versuchstag bestand (Abbildung ehfs8). Bei dem Parameter Anzahl *floating* ergab sich eine signifikant höhere Anzahl an *floating* bei den EXR002-Hybrid Mäusen am 2. Versuchstag gegenüber dem 1. Versuchstag und den C3H/BL6wt-Hybrid Mäusen am 1. und 2. Versuchstag ($F_{1/10}=5.130$, $p<0.01$; Abbildung ehfs9). Die C3H/BL6wt-Hybriden zeigten am 2. Versuchstag signifikant mehr *floating* als am 1. Versuchstag und als die EXR002-Hybriden an beiden Versuchstagen (Abbildung ehfs10).

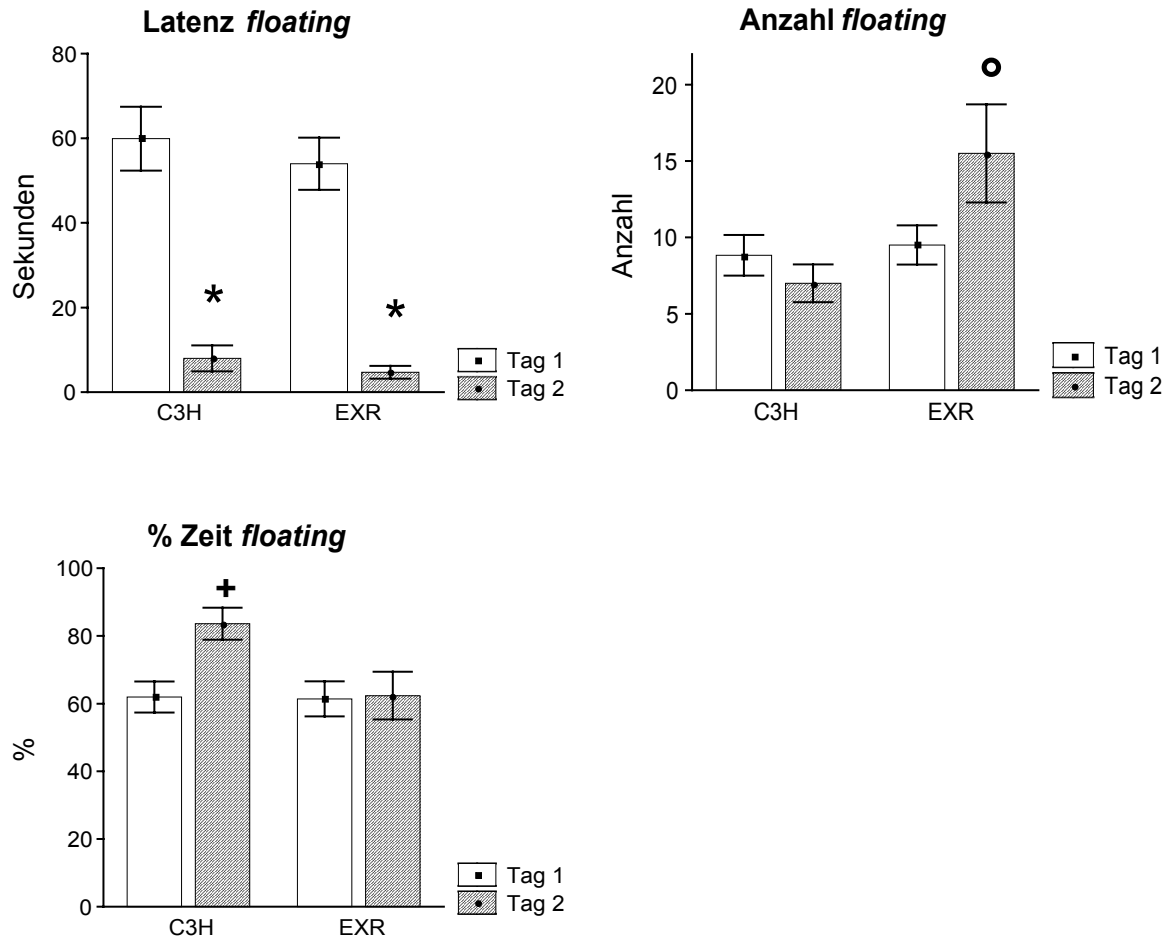


Abbildung ehfs8-10:

Bei beiden Mauslinien war die Latenz bis zum ersten *floating* am 2. Versuchstag niedriger. Die Anzahl *floating* war bei den EXR002-Hybrid Mäusen signifikant höher als am 1. Tag. Die Zeit in Prozent *floating* war bei den C3H/BL6wt-Hybriden am 2. Tag signifikant erhöht gegenüber dem 1. Tag (C3H: C3H/BL6wt Hybriden, EXR: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$ für 1. Tag vs. 2. Tag; ^o $p < 0.05$ für EXR 2.Tag vs. EXR 1. Tag und C3H 1. + 2. Tag, + $p < 0.05$ für C3H 2.Tag vs. C3H 1. Tag und EXR 1.+ 2. Tag; Mittelwert \pm SEM).

3. 2. 8. Versuch 11: mHb mit R121919 Behandlung

Zur pharmakologischen Validierung der EXR002-Hybrid Mäuse im mHb wurde R121919 verwendet. R121919 ist ein CRH1 Rezeptor Antagonist, der angstlösend auf Mäuse wirkt (Siehe Material und Methoden: S. 24 und S. 32). Es wurde mit EXR002-Hybriden ($n=7$) und einer Gruppe von Kontrolltieren ($n=7$) ein mHb Test durchgeführt bei dem die Mäuse mit R121919 behandelt wurden. Für den Test sind die EXR002-Hybriden und die Kontrolltiere in zwei vorhergehenden mHb Verhaltenstests phänotypisiert worden. Die Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung sind in der Tabelle 12 aufgeführt.

Die Behandlung durch R121919 bewirkte im mHb Versuch signifikante Unterschiede in den Parametern die das Angstverhalten induzieren: Anzahl Eintritte *board* und Zeit in Prozent auf

dem *board*. Im initialen Test war bei den EXR002-Hybrid Mäusen die Anzahl der Eintritte auf das *board* signifikant geringer als bei den C3H/BL6wt-Hybriden (Abbildung ehr12mHb1). Die EXR002-Hybrid Mäuse betraten im initialen Test das *board* signifikant später als alle anderen Versuchsgruppen ($F_{1/12}=14.008$, $p<0.02$; Abbildung ehr12mHb2). Die C3H/BL6wt-Hybrid Mäuse verbrachten im initialen Test und im 2. Test mit R121919 Behandlung signifikant mehr Zeit auf dem *board* als die EXR002-Hybrid Mäuse im initialen Test (Abbildung ehr12mHb3).

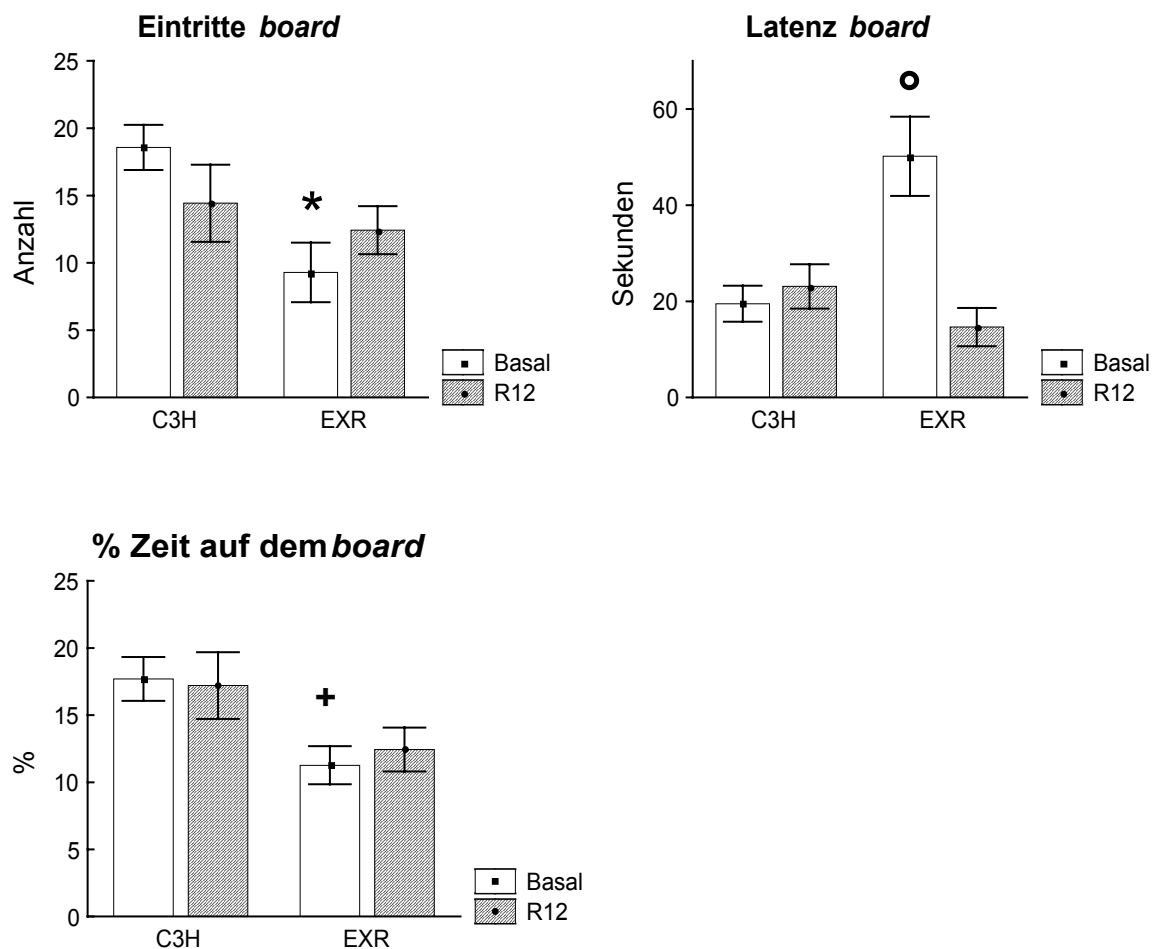


Abbildung ehr12mHb 1 - 3:

Die EXR002-Hybriden (EXR) betraten im initialen Test (Basal) das *board* weniger oft als die C3H/BL6wt-Hybriden (C3H). Ebenso betraten sie das *board* später als alle andern Gruppen. Die EXR002-Hybriden verbrachten im initialen Test weniger Zeit auf dem *board* als die C3H/BL6wt-Hybriden in beiden Tests (C3H: C3H/BL6wt Hybriden, EXR: EXR002 Hybriden; * $p<0.05$ für EXR vs. C3H Basal; ° $p<0.05$ für EXR vs. C3H Basal + R12 und EXR R12; + $p<0.05$ für EXR Basal vs. C3H Basal + R12; Mittelwert \pm SEM).

Die EXR002-Hybrid Mäuse hatten eine signifikant höhere Latenz bis zum ersten *Lochbesuch* gegenüber allen anderen Versuchsgruppen (Abbildung ehr12mHb4). Sie explorierten

signifikant weniger *Löcher* als die C3H/BL6-Hybrid Mäuse in beiden Versuchsdurchläufen (Abbildung ehr12mHb5).

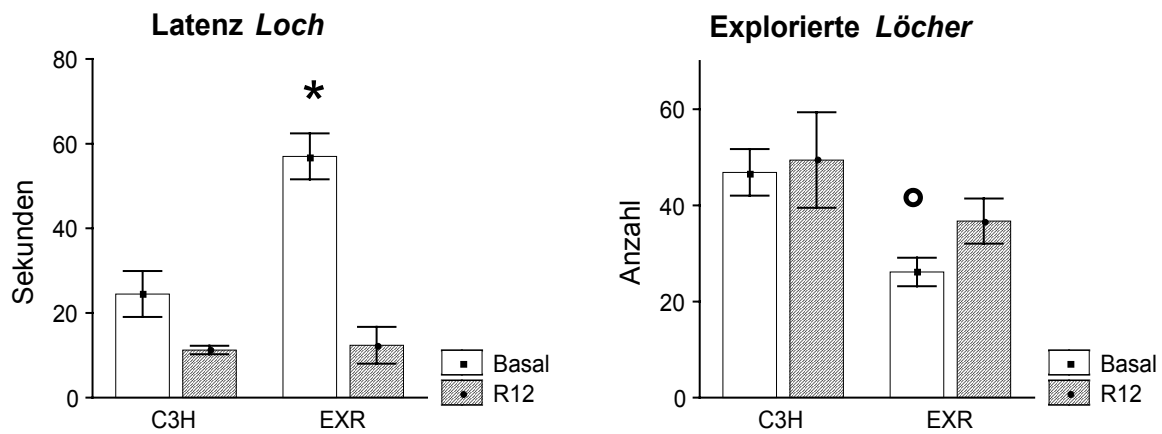


Abbildung ehr12mHb5 - 6:

Die EXR002-Hybriden explorierten das erste *Loch* im initialen Test viel später als alle anderen Versuchsgruppen. Sie explorierten weniger *Löcher* als die C3H/BL6-Hybrid Mäuse. (C3H: C3H/Bl6wt Hybriden, EXR: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$ für EXR Basal vs. C3H Basal + R12 und EXR R12; ° $p < 0.05$ für EXR Basal vs. C3H Basal + R12; Mittelwert \pm SEM).

Bei dem Parameter Latenz bis zum ersten *rearing* in der *box* zeigten die EXR002-Hybriden eine signifikant erhöhte Latenz gegenüber den C3H/BL6wt-Hybriden in beiden Versuchsdurchläufen (Abbildung ehr12mHb7).

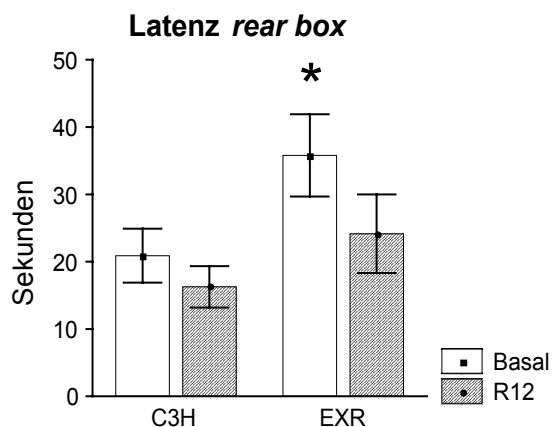


Abbildung ehr12mHb7:

Die EXR002 Hybriden zeigten eine erhöhte Latenz bis zum ersten *rearing* im initialen Test als die C3H/BL6-Hybrid Mäuse. (C3H: C3H/Bl6wt Hybriden, EXR: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$ für EXR Basal vs. C3H Basal + R12; Mittelwert \pm SEM).

Die EXR002-Hybriden explorierten im initialen Test das *unbekannte Objekt* signifikant weniger oft als die C3H/BL6-Hybrid Mäuse in beiden Tests (Abbildung ehr12mHb8). Im Test mit R121919 Behandlung explorierten die EXR002-Hybrid Mäuse das *unbekannte Objekt* signifikant weniger als die C3H/BL6wt-Hybrid Mäuse im initialen Test (Abbildung ehr12mHb9).

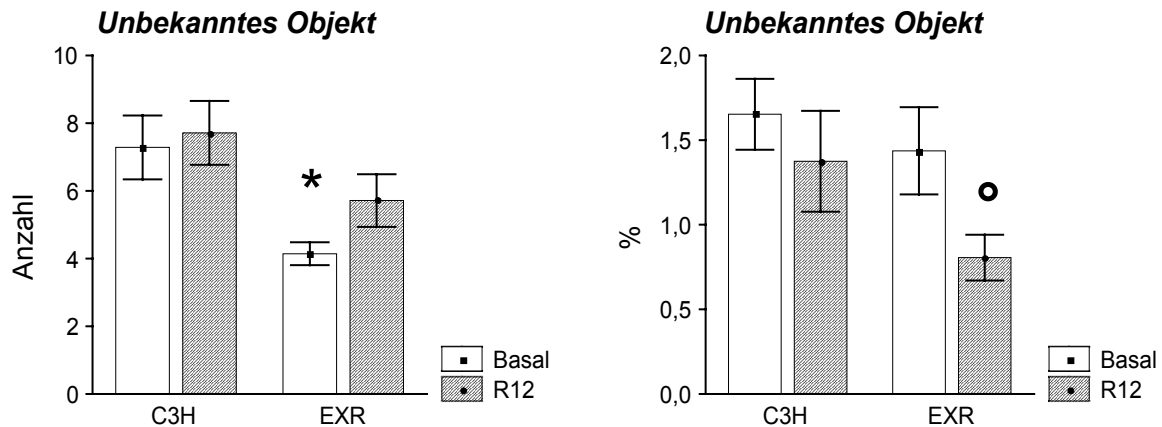


Abbildung ehr12mHb8 - 9:

Die EXR002-Hybriden explorierten das *unbekannte Objekt* im initialen Test weniger als die C3H/BL6-Hybrid Mäuse in beiden Tests. Aber sie explorierten das Objekt weniger lange im dem Test mit R121919 Behandlung als die C3H/BL6-Hybrid Mäuse im initialen Test (C3H: C3H/BL6wt Hybriden, EXR: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$ für EXR Basal vs. C3H Basal + R12; ° $p < 0.05$ für EXR R12 vs. C3H Basal; Mittelwert \pm SEM).

Die EXR002-Hybrid Mäuse explorierten in dem Test mit R121919 Behandlung das *bekannte Objekt* signifikant weniger oft als die C3H/BL6wt-Hybrid Mäuse in beiden Versuchsdurchgängen (Abbildung ehr12mHb10). Beide Mauslinien explorierten das *bekannte Objekt* im initialen Versuchsdurchlauf signifikant länger als im Versuchsdurchlauf mit R121919 Behandlung, dabei ergab sich auch ein signifikanter Unterschied zwischen den C3H/BL6wt-Hybrid Mäuse im initialen Versuchsdurchlauf und den EXR002-Hybrid Mäuse in dem Test mit R121919 Behandlung (Abbildung ehr12mHb11).

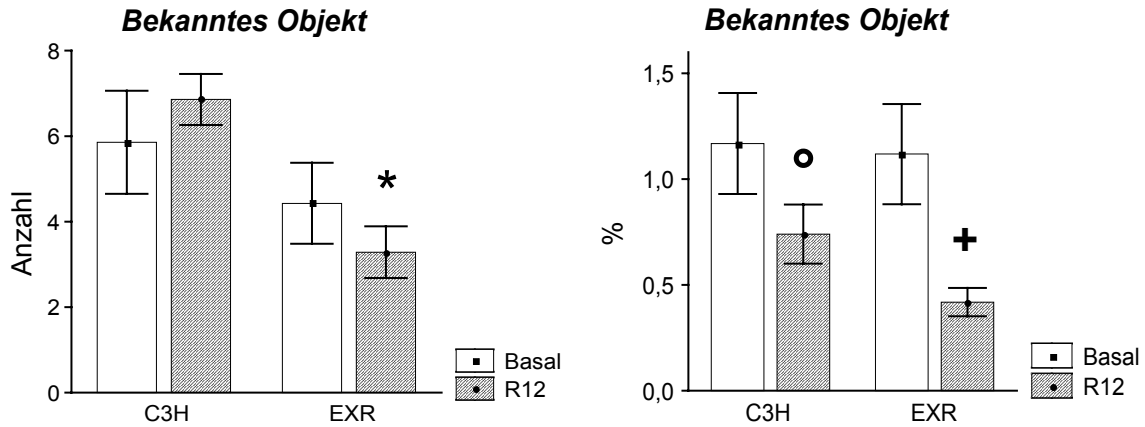
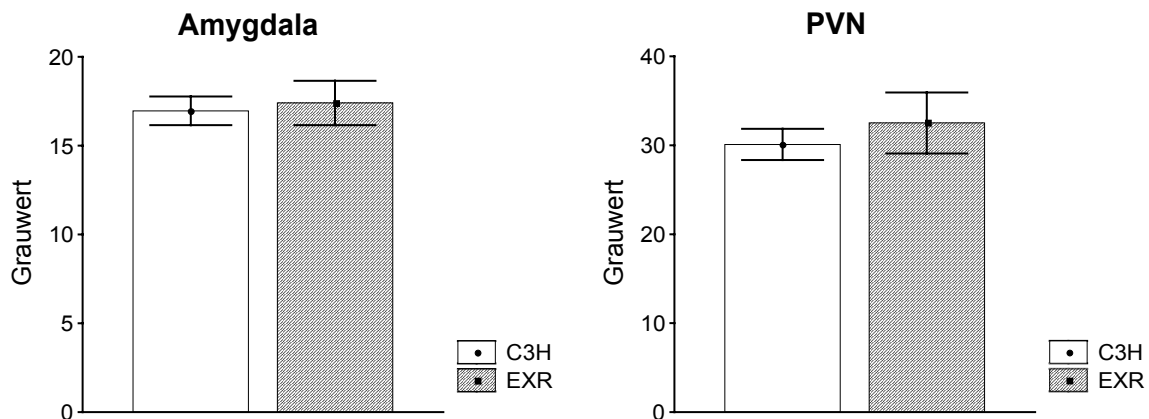


Abbildung ehr12mHb10 - 11:

Die EXR002-Hybriden explorierten das *bekannte Objekt* im initialen Test weniger als die C3H/BL6-Hybrid Mäuse in beiden Tests. Beide Mauslinien explorierten im initialen Test das *bekannte Objekt* länger als im Test mit R121919 Behandlung (C3H: C3H/BL6wt Hybriden, EXR: EXR002 Hybriden; * $p < 0.05$ für EXR Basal vs. C3H Basal + R12; ° $p < 0.05$ für C3H Basal vs. C3H R12; + $p < 0.05$ für EXR Basal vs. EXR R12 und C3H Basal; Mittelwert \pm SEM).

3.2.9. Ergebnisse der CRH in-situ Hybridisierung

Bei der Analyse der Hirnschnitte durch eine CRH in-situ Hybridisation zeigten sich bei den beiden unbehandelten Mauslinien EXR002-Alpha und C3Hwt, sowie EXR002 –Hybriden und C3H/BL6-Hybriden keine signifikanten Unterschiede in der mRNA Konzentration, sowohl bei der Amygdala als auch bei dem PVN (Abbildung ISEXR 1-4) (Siehe Material und Methoden: S. 27-29).



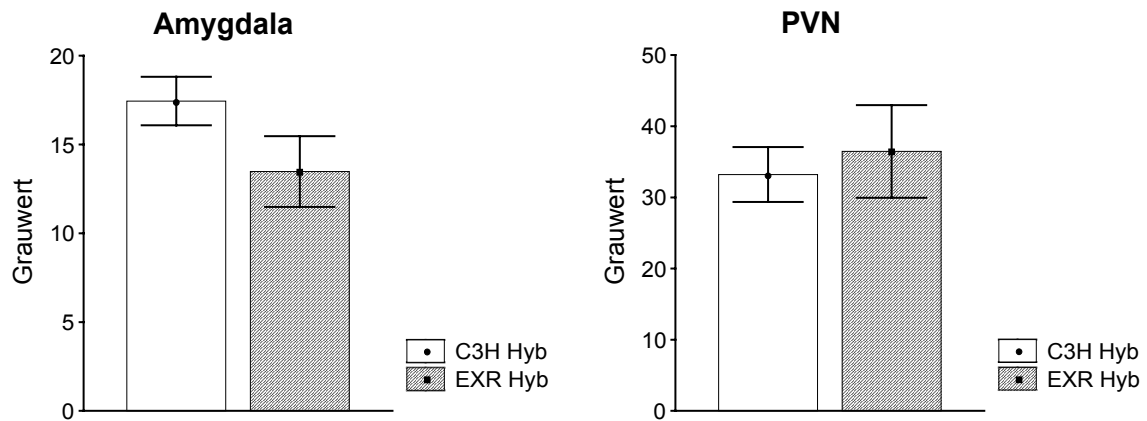


Abbildung ISEXRI-4:

Bei der Analyse der basalen CRH in-situ Hybridisierung zeigen sich keine signifikanten Unterschiede bei den vier Mauslinien (C3H Hyb: C3H/BL6wt Hybriden, EXR Hyb: EXR002 Hybriden; Mittelwert ± SEM).

Ergebnisse der einfaktoriellen Varianzanalyse für alle Parameter der in-situ Hybridisation für BL6 und DBA Mäuse

Effekt	Testgröße	Freiheitsgrad	p-Level
EXR002 / C3Hwt			
Amygdala	1/10	2.911	ns
PVN	1/10	0.206	ns
EXR002-Hybriden / C3HBL6-Hybriden			
Amygdala	1/14	0.087	ns
PVN	1/14	0.396	ns

4. DISKUSSION

4. 1. TEIL 1: DIE TESTS FÜR DEPRESSIONS-ÄHNLICHES VERHALTEN

Es gibt viele Hinweise, dass Depression und Angst auf besondere Weise mit kognitiven Prozessen interagieren (Belzung & Beuzen, 1995; McNaughton, 1997; Kalueff & Tuohimaa, 2004; Becker & Rinck, 2000; Paterniti et al., 1999). Gerade kognitive Systeme sind von besonderer Komplexität und deren Einfluss auf Verhaltenstests wird oft wenig beachtet. Besonders trifft dies zu bei Fragestellungen aus der Depressionsforschung, die meist nur vom Standpunkt einer Behandlung durch Antidepressiva untersucht worden sind. Kognitiv wirksame Substanzen, die mit Depressions-ähnlichem Verhalten bei Mäusen im Zusammenhang stehen, wurden weit weniger angewandt um die daraus resultierenden Effekte aufzudecken. Um die bestehenden Verhaltenstests zu revalidieren, als auch um Vergleichswerte für die Etablierung einer neuen Mauslinie für die Erforschung von depressiven Erkrankungen im zweiten Teil der Studie zu erhalten, wurde die Aussagekraft der Verhaltenstests überprüft. Mit diesen Vorläufertests sollten Standardwerte gefunden und gleichzeitig die Wirksamkeit der Tests für Depressionsstudien evaluiert werden.

Maus-Inzuchtlinien sind durch ihr homozygotes Genom, das zu einer weitgehenden Homogenität ihres Phänotyps führt, besonders geeignet, die Zusammenhänge zwischen Verhalten und Hirnfunktionen zu untersuchen (Crawley et al., 1997; Rossi-Arnaud & Ammassari-Teule, 1998). Da es für die Versuchsdurchführung und die Auswahl der pharmakologischen Mittel von entscheidender Bedeutung ist, welchen genetischen Hintergrund die ausgewählten Mauslinien haben, wurden hier zwei Mauslinien ausgewählt, die in der Literatur als deutlich unterschiedlich beschrieben worden sind. BL6 und DBA Mäuse wurden bereits in zahlreichen früheren Studien in bezug auf ihre Emotionalität und kognitiven Leistungen getestet und waren dadurch besonders geeignet für die Revalidierung der bekannten Verhaltenstests (Rossi-Arnaud & Ammassari-Teule, 1998; Thinus-Blanc et al., 1996; Ohl et al., 2003).

In der vorliegenden Studie wurden die Verhaltenseffekte durch den muskarinen-Rezeptor Antagonisten Skopolamin auf die beiden Inzuchtmauslinien DBA und BL6 in verschiedenen Verhaltenstests analysiert. Skopolamin wurde bereits in vielen präklinischen und klinischen Studien herangezogen, um die Rolle des cholinergischen Systems in einer gestörten Gedächtnisbildung zu untersuchen. Durch Skopolamin verursachte Gedächtnisstörungen sind

sowohl beim Menschen, als auch bei Nagern in einer Vielzahl von Tests nachgewiesen worden (Sherman et al., 2003; Hlinak & Krejci, 2002; Bratt et al., 1996). Bei Nagern kann auch das Lernvermögen durch Skopolamin negativ beeinflusst werden (Itho et al., 1991; Naveen & Kohli, 2003; Bond, 1988; Hlinak & Krejci, 2002).

4. 1. 1. Der mHb Test

Im mHb Test wurde bei den Mauslinien DBA und BL6 kein Effekt durch die Skopolamin-Behandlung festgestellt. Bei dem in den mHb Test integrierten kognitiven Test mit einem bekannten und unbekanntem Objekt, zeigen sich geringfügige Hinweise auf eine Gedächtnisstörung durch das Skopolamin, die aber keine Signifikanz erreichen und möglicherweise nur auf eine leichte Beeinträchtigung der Aufmerksamkeit hindeuten (Humby et al., 1999). Nur eine Studie konnte die Beeinträchtigung des Gedächtnisses durch Skopolamin bei einem *object recognition task* mit Mäusen aufzeigen (Dodart et al., 1997). In der Studie von Dodart hatten die Mäuse jedoch nur 10 Minuten Zeit die Objekte kennen zu lernen und sich einzuprägen, während die Mäuse in dem vorliegenden Versuch 2 Tage Zeit dafür hatten. Dagegen konnte in einer Studie mit Ratten bei Behandlung mit Skopolamin eine Verschlechterung der Leistung bei der Objekterkennung nachgewiesen werden. Verminderte Lerneffekte zeigten sich bei der Gabe von Skopolamin sowohl vor, als auch nach dem Training, was als Beeinträchtigung des Erinnerns, wie auch des Erlernens, gedeutet wurde (Giovannini et al., 1999).

Bei dem hier vorliegenden Versuch tritt unabhängig von der Behandlung, die in der Literatur als unterschiedlich dokumentierte Emotionalität der beiden Mauslinien zu Tage. Diese Unterschiede werden bei den Verhaltensdimensionen Angst, Exploration, Objekterkennung und Lokomotion deutlich. Die DBA Mäuse zeigen sich ängstlicher als die BL6 Mäuse. Sie betreten das *board* später, seltener und verbringen weniger Zeit darauf (Abbildung smHb1). Die Lokomotion ist bei den DBA Mäusen ebenso reduziert, wie die Exploration der Löcher und Objekte (Abbildung smHb3). Bei den BL6 Mäusen finden sich dagegen erhöhte Cort- und ACTH Blutwerte (Abbildung smHb4-5). Da diese erhöhten Cort Werte im Plasmaspiegel nach den Verhaltensversuchen auftreten, wurde dies in Anlehnung an frühere Studien als Zeichen für erhöhten Stress bei den Tieren gewertet (Anisman et al., 1998; Rodgers et al., 1999).

Schon in früheren Verhaltensstudien, die mit BL6 und DBA Mäusen durchgeführt wurden, hatte sich ein deutlicher Unterschied im emotionalen Verhalten der beiden Mauslinien gezeigt (Trullas & Skolnick, 1993; Crawley et al., 1997; Griebel et al., 1997). In eigenen, früheren

Versuchen mit DBA und BL6 Mäusen, die im mHb ohne pharmakologische Behandlung durchgeführt worden waren, waren die DBA Mäuse ängstlicher, was durch die geringere Zeit auf dem *board* und die erhöhte Latenz bis zum ersten Betreten des *boards*, das erhöhte *risk assessment* und absetzen von Kot deutlich wurde. Ebenso explorierten sie die Löcher auf dem *board* weniger und später als die BL6 Mäuse (Ohl et al., 2003; Rödel, 2002). Unter den angegebenen Bedingungen reichte die Wirkung des Skopolamin nicht aus, um das Verhalten der Mäuse im mHb zu beeinflussen.

4. 1. 2. Der Elevated Plus-Maze Test

Im EPM Versuch zeigen sich bei beiden Mauslinien pharmakologische Effekte durch die Skopolamin-Behandlung neben dem bereits dokumentierten unterschiedlichen Angstverhalten. Die erzielten Ergebnisse deuten auf eine reduzierte Aktivität bei beiden Mauslinien auf Grund einer möglichen Angst-auslösenden Wirkung durch das Skopolamin hin. Dies wird deutlich durch die geringere Anzahl der Eintritte auf die Plattform (Abbildung sepm8) und auf den offenen Arm (Abbildung sepm7). In einigen EPM Studien wirkte die Skopolamin Behandlung sowohl Angst-auslösend, als auch Angst-mindernd bei verschiedenen Inzucht Mauslinien, was vermutlich auf unterschiedliche Versuchsbedingungen zurückzuführen ist (Rodger & Dalvi, 1997; DeMello & Carobrez, 2002).

Die mit Skopolamin-behandelten DBA Mäuse führen weniger *rearings* auf den geschlossenen Armen des EPM aus als die unbehandelten DBA Mäuse (Abbildung sepm9). Im allgemeinen vermindert sich das *rearing*-Verhalten in einer angsteinflössenden Umgebung (Crawley et al., 1997; Rodger & Dalvi, 1997). Ein verändertes Explorationsverhalten muss aber nicht immer auf Ängstlichkeit hindeuten (Lucki & Dalvi, 1999). Durch das Skopolamin verstärkt sich bei den DBA Mäusen auch die Fellpflege (*grooming*) (Abbildung sepm2). Ein intensives *grooming* während eines Versuchsdurchlaufs gilt bei Nagern als sichtbarer Angstparameter (Kalueff & Tuohimaa, 2004). Betrachtet man die Verhaltensänderungen, die bei den DBA Mäusen durch die Skopolamin Behandlung ausgelöst wurden, deutet dies auf eine Angst-auslösende Wirkung des Skopolamin hin.

Unabhängig von der Behandlung durch Skopolamin zeigen beide Mauslinien im EPM ihr charakteristisches Verhalten. Bei den Parametern, die das Risikoverhalten auf dem offenen Arm indizieren (*head dip; stretched attends*) (Rodgers et al., 1997; Griebel et al., 1993), vollführen die DBA Mäuse signifikant später den ersten *head dip* und weniger *head dips*, dagegen machen sie mehr *stretched attends* als die BL6 Mäuse. Letzteres Verhalten dient der

Informationsgewinnung über mögliche Gefahren durch vorsichtiges Herantasten an das Ziel. Es wird als Abwehrverhalten angesehen, das in engem Zusammenhang mit Angstverhalten steht (Blanchard et al., 2001).

Ebenso betreten die DBA Mäuse später und weniger oft den offenen Arm als die BL6 Mäuse, wodurch das in der Literatur dokumentierte höhere Angstverhalten der DBA Mäuse bestätigt wird (Rossi-Arnaud & Ammassari-Teule, 1998; Thinus-Blanc et al., 1996; Ohl et al., 2003). Es gibt allerdings auch Studien, die die BL6 Mäuse im EPM als weniger explorativ und ängstlicher als DBA Mäuse fanden (Trullas & Skolnick, 1993; Podhorna & Brown, 2002).

Die Analyse der Blutproben auf die ACTH und Cort Konzentration ergab für die Skopolamin-behandelten BL6 Mäuse deutlich erhöhte Werte (Abbildung sepm10), was auf eine verstärkte Stressreaktion bei den Skopolamin-behandelten BL6 Mäusen hindeutet.

4. 1. 3. Der Forced swim Test nach Porsolt

Der FS Test ist der meist genutzte Verhaltenstest zur Überprüfung der Wirkung von Antidepressiva (Luki & Dalvi, 1999). Die prediktive Validität dieses Modells ist bei den meisten bekannten Antidepressiva sehr hoch (Borsini & Meli, 1988; Cryan et al., 2004). Der Index für depressives Verhalten ist der Parameter Immobilität, der in seinem Auftreten während des Versuches durch eine Behandlung mit einem Antidepressivum verringert werden kann. Die Immobilität der Mäuse im FS wird als „Selbstaufgabe“ (*behavioral despair*) oder das Entwickeln eines passiven Verhaltens angesehen, welches das Tier anstatt einer aktiven Form von Stressbewältigung zeigt (Borsini & Meli, 1988). Dabei wird *behavioral despair* dem Modell der *learned helplessness* gleichgesetzt. In den letzten Jahren wurde dies aber in Frage gestellt, da hier Immobilität einem passiven Verhalten, wie es bei Patienten mit einer Depression zu finden ist, gleichgesetzt wird. Darüber hinaus wird noch immer diskutiert, ob Angst (Ferre et al., 1994) oder etwa kognitive Funktionen (Montkowski et al., 1995) für das Fluchtverhalten im FS Test verantwortlich sind.

So könnte man diese Immobilität eher als erfolgreiche Anpassungsstrategie auf eine gegebene Situation betrachten, anstatt einer Selbstaufgabe angesichts einer aussichtslosen Situation (West, 1990). Ein Faktor, der im FS eine Rolle spielt, ist z.B. die Wassertemperatur. Der Wechsel von aktiven Fluchtverhalten zu Immobilität und umgekehrt wird möglicherweise motiviert durch die Notwendigkeit, Energie zu sparen oder durch das Bedürfnis die Körperwärme erhöhen (Arai et al., 2000; Holmes, 2003).

Auch die Wahl der Mauslinien hat Einfluss auf das Ergebnis. Inzuchtmauslinien verhalten sich im FS in ihrem *baseline* Verhalten sehr unterschiedlich, wobei eine Behandlung mit

Antidepressiva bei Inzucht Mäusen, und besonders bei DBA Mäusen, wenig oder gegensätzliche Wirkung zeigten (Zur Übersicht: Petit-Demouliere et al., 2005; David et al., 2003). DBA und BL6 Mäuse sind schon früher mit widersprüchlichen Ergebnissen im FS verglichen worden (Alcaro et al., 2002; Nikulina et al., 1991; Lucki et al., 2001). Die Möglichkeit, eine Korrelation zwischen dem FS und anderen Verhaltenstests herzustellen, hat sich bisher als gering erwiesen. So wurde keine Wechselbeziehung zwischen den gemessenen Parametern im FS mit dem im EPM gezeigten Angstverhalten gefunden (Andreatini & Bacellar, 1999; Petit-Demouliere et al., 2005). Auch mit anderen Tests, die Ängstlichkeit, Lokomotion oder gerichtete Exploration analysiert haben, ließen sich keine Zusammenhänge erkennen (Hilakivi & Lister, 1990).

Bei den Parametern des FS ergeben sich bei den eigenen Versuchen kognitive Effekte, die sich einem veränderten Verhalten bei den Mäusen in am 2. Versuchstag ausdrücken. Die Tiere reagieren, geprägt durch die Erfahrungen im 1. Testdurchlauf, unterschiedlich auf den 2. Versuch. Mit Ausnahme der Skopolamin-behandelten DBA Mäuse setzt unabhängig von der Behandlung bei beiden Mauslinien das *floating* früher ein. Die Skopolamin-behandelten DBA Mäuse fangen dagegen beiden Tagen etwa zum gleichen Zeitpunkt an sich im Wasser treiben zu lassen (*floaten*). Bei beiden Skopolamin-behandelten Mauslinien ist ein nur geringer Unterschied bei der mit *floating* verbrachten Zeit zwischen dem 1. und 2. Versuchstag. Bei den unbehandelten Mäusen tritt dagegen ein signifikanter Unterschied in diesem Parameter auf. Die Mäuse *floaten* am 2. Versuchstag deutlich länger (Abbildung sfs3-5), wobei die unbehandelten BL6 Mäuse am 2. Tag mehr *floaten* als die DBA Mäuse (Abbildung sfs5). Jüngere Ergebnisse belegen, dass BL6 Mäuse deutlich mehr Immobilität im FS zeigen als DBA Mäuse, wobei kein Zusammenhang zu ihrem Lokomotionsverhalten besteht, welches bei den BL6 im Allgemeinen viel höher ist als bei den DBA Mäusen (Alcaro et al., 2002).

In einer Reihe von Versuchen wurde nachgewiesen, dass die gezeigte Immobilität (*floating*) am 2. Versuchstag, kein sich passives Ergeben in die ausweglose Situation (*behavioral despair*), sondern ein Lerneffekt und eine Gedächtnisleistung ist, die zu einer *coping*-Strategie führt, die der Erhaltung von Energiereserven dient (De Pablo et al., 1989; West, 1990). Bedingt durch die positive Vorerfahrung der Mäuse im 1. Test, nämlich das Wasser nach kurzer Zeit wieder verlassen zu dürfen, wurde möglicherweise die passive Reaktion *floaten* (Abwarten) im 2. Test ausgelöst (Borsini et al., 1986; Bertoglio & Carobrez, 2004). Anscheinend wird durch das Skopolamin das Lernen oder das Gedächtnis so beeinträchtigt, dass es nicht zu der erwarteten passiven Reaktion kam, da sich die Tiere an den

Versuchsablauf des 1. Tests nicht deutlich genug erinnern und in beiden Testdurchläufen gleich viel *floaten*.

Allerdings könnten die Ergebnisse auch auf eine Aktivitätssteigerung hindeuten, welche durch das Skopolamin verursacht wurde und die behandelten Mäuse dadurch weniger immobil waren. Skopolamin erhöhte die Lokomotion und die allgemeine Aktivität in einigen Tests, wie EPM und Open Field (Dodart et al., 1997; Bushnell, 1987; Bond, 1988).

Betrachtet man aber den Parameter *struggling*, der ein Maß für die Aktivität darstellt, ergibt sich ein Bild, welches eher auf einen kognitiven Effekt hindeutet. Die mit Skopolamin-behandelten DBA Mäuse *strugglen* am 1. Versuchstag viel mehr als die Vehikel-behandelten Artgenossen (Abbildung sfs8). Analysiert man aber die Zeit, die die DBA Mäuse am 2. Versuchstag mit *struggling* verbracht haben, kann man keinen Unterschied zwischen Skopolamin- und Vehikel-behandelten Mäusen finden. Das deutet wiederum darauf hin, dass es bei den DBA Mäusen keine generelle Aktivitätssteigerung durch das Skopolamin gibt, sondern dass sich dieses Verhalten auf einen kognitiven Effekt zurückführen lässt.

Skopolamin zeigt bei beiden Mauslinien weder im EPM noch im mHb großartige Veränderungen, wohl aber im FS. Im EPM gibt es Hinweise auf eine verstärkte Ängstlichkeit oder ein Sedierungseffekt bei den DBA Mäusen durch die Behandlung. Eine sedative Wirkung durch das Skopolamin wäre möglich, aber durch die unbeeinflusste Lokomotion, Anzahl der *rearings* und *board*-Eintritte (Ängstlichkeit) im mHb ist diese Annahme unter den gegebenen Voraussetzungen nicht sehr wahrscheinlich.

Wichtig ist der Befund, dass der Einfluss von kognitiven Aspekten im FS deutlich höher ist als bei den anderen beiden Tests. Im FS spielt offensichtlich eine kognitive Komponente eine Rolle, was bei den anderen Tests nicht der Fall ist. Damit wird die prediktive Validität des Tests in bezug auf Antidepressiva in Frage gestellt. Der FS Test ist wohl geeignet, bei bestimmten Mauslinien die Wirksamkeit einiger Gruppen von Antidepressiva durch eine gewisse Verhaltensänderung zu zeigen, das gezeigte Verhalten der Tiere steht aber in keinem Zusammenhang mit den Symptomen bei einem depressiven Menschen (Petit-Demouliere et al., 2005).

4. 1. 4. CRH Analyse im PVN und Amygdala

Ein Angsterleben wird durch eine physiologische Stressreaktion begleitet. Auf hormoneller Ebene steuert die Aktivität der hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA)-Achse maßgeblich das Angstverhalten. Die Amygdala spielt eine große Rolle bei der emotionalen Reaktivität (Rosen & Schulkin, 1998; Swanson & Petrovich, 1998). Der paraventriculäre

Nukleus (PVN) ist an der Stressantwort beteiligt (zur Übersicht: Korte, 2001; Zobel et al., 2000). Man nimmt an, dass die Genexpression von CRH in der Amygdala und PVN von Corticosteroiden durch Stress angeregt wird. Die beiden Mauslinien BL6 und DBA wurden nach einem basalen mHb Test getötet und deren Hirne entnommen. Bei dem Vergleich der CRH-R1 mRNA in den Hirnarealen des PVN und der Amygdala mit Hilfe von radioaktiv markierter Riboproben konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Mauslinien festgestellt werden. In einer früheren Studie konnte gezeigt werden, dass es Unterschiede in der Konzentration von CRH-R1 mRNA im Gehirn zwischen den beiden Mauslinien gibt, wobei die Konzentration bei den BL6 geringer war (Giardino et al., 1996). Bei den Versuchen scheint es keinen Unterschied bei der Stressreaktion unter basalen Bedingungen bei den Mauslinien BL6 und DBA gegeben zu haben, obwohl erhöhte ACTH und Cort Werte bei den BL6 Mäusen nach dem mHb Test gefunden wurden, die aber zu keiner nachhaltigen Veränderungen in der Stressreaktion geführt haben.

4. 2. TEIL 2: CHARAKTERISIERUNG EINES NEUEN MAUSMODELLS FÜR DEPRESSION

Es ist seit einiger Zeit bekannt, dass genetische und Umweltfaktoren bei dem Ausbruch einer Depression eine Rolle spielen, trotzdem sind viel Fragen bisher noch unbeantwortet. Für einige Aspekte der Depression wurde in der Forschung bei Nagern eine Reihe von Kriterien etabliert, von denen man annimmt, dass sie analog zu menschlichen Erkrankungen sind. Sie sind im Tier beobachtbar und, ebenso wie beim Menschen, durch pharmakologische Behandlung beeinflussbar. Exploration gehört zu den Parametern, die in Tiermodellen für Angst und Depression verwendet werden (Zur Übersicht: Wall & Nesiars, 2000; Kalueff, 2004).

4. 2. 1. Der Verhaltensphänotyp der EXR002 im mHb

Im mHb kann eine Vielzahl von Parametern erfasst werden: Angst- und Risikoverhalten, Lokomotion, Erregung, Soziale Affinität, Kognition und Exploration (Ohl et al., 2001). Durch die Komplexität des mHb Testes wird ein umfassendes Persönlichkeitsprofil eines Tieres erstellt, das sich auch stabil bei der Wiederholung des Testdurchlaufes (Konfirmation) zeigt. Das mHb stellt somit eine wirksame Methode zur Verhaltensphänotypisierung dar (Ohl et al., 2001). Im zweiten Teil dieser Studie soll ein neues Mausmodell für depressives Verhalten mit

Hilfe von selektiven Verhaltenstests verhaltensbiologisch charakterisiert und pharmakologisch validiert werden. Zuerst wurde in der Studie die durch Mutation entstandene ursprüngliche EXR002-Alpha Mauslinie verwendet, die der Wildtypelinie C3HeB/FeJ (C3Hwt) entstammt (Siehe Material und Methodenteil Seite: 12).

Durch alle Generationen der EXR002-Alpha Mauslinie hindurch besteht ein stabiler, wiederkehrender Phänotyp im mHb, der sich hauptsächlich in einem veränderten Explorationsverhalten manifestierte. Die EXR002 Mäuse besuchen in der gerichteten Exploration, dem Lochbesuch auf dem *board*, die Löcher viel weniger und später als die C3Hwt Mäuse (Abbildung eamHb 8-11). Auch bei der ungerichteten, vertikalen Exploration, dem *rearing* (Avgustinovich et al., 2000), vollführen die EXR002 Mäuse viel später zum ersten mal ein *rearing* und weniger *rearings*, sowohl in der *box*, wie auch auf dem *board* als die Wildtypelinie (Abbildung eamHb 12-19). Zusätzlich zu den Explorationsparametern gibt es bei den EXR002 Mäusen im 1. Test mehr *stretched attends*.

Im 2. Test, dem eine Woche später durchgeführten Konfirmationstest, zeigen die EXR002 Mäusen auch weiterhin in allen Parametern des Explorationsverhaltens einen deutlichen Unterschied zu den C3Hwt Mäusen. Eine Möglichkeit für das geringe Explorationsverhalten ist, dass die EXR002 Mäuse in einer neuen Umgebung schnell gelangweilt oder befriedigt sind und daher wenig explorieren, wie in anderen Studien zum Explorationsverhalten von Mäusen vorgeschlagen wurde (Hughes, 1997; Crusio, 2001). Dagegen gleichen sich die EXR002 Mäuse in Parametern wie der Lokomotion nicht an die Wildtypelinie an. Dies deutet auf eine gewisse Habituation bei den Angst und Aktivität indizierenden Parametern hin. Habituation gilt als eine Grundform des Lernens. Bei diesem nicht-assoziativem Lernen zeigt ein durch Vorerfahrung geprägtes Tier eine Verhaltensänderungen, zu der auch Exploration gehören kann (File & Wardill, 1975; File, 2001).

Das Auftreten der Motivation der EXR002 Mäuse, das Areal und die Objekte darin zu explorieren, ist nicht durch einen kognitiven Defizit ausgelöst worden, denn die kognitive Leistung ist bei den Mutanten und Wildtyp Mäusen gleich gut. Die Mäuse verbringen im 1. und 2. Test mehr Zeit mit dem unbekanntem Objekt als mit dem Bekannten (Abbildung eamHb 30, 31, 35, 36). In einer Reihe von Studien konnte gezeigt werden, dass Tiere, die ein unbekanntes- und bekanntes Objekt vorgelegt bekamen, das unbekanntes Objekt deutlich länger explorieren (Ennaceur & Delacour, 1988; Powell et al., 2002; Sowards & Sowards, 2002). Ist das Gedächtnissystem der Versuchstiere beeinträchtigt, so explorieren die Tiere die beiden Objekte gleich lange (Bussey et al., 2003; Mumby et al., 2002). Allerdings ist die Exploration von etwas Neuem vom Kontext und Stimulus abhängig. Ratten explorieren in

einer bereits bekannten Umgebung ein neues Objekt länger als in einer unbekanntem Umgebung. Es gibt aber auch Ergebnisse, die dies nicht bestätigen (Powell et al., 2004). Vergleicht man die Zeitdauer, die die Mäuse mit dem bekannten- und unbekanntem Objekt im 1. und 2. Test verbringen, wird deutlich, dass der Bekanntheitsgrad des Areals für das Explorationsverhalten der Mäuse nur geringe Bedeutung hat. Die positiven Ergebnisse aus dem Objekterkennungstest lassen den Schluss zu, dass die Ursache für ein reduziertes Explorationsverhalten bei den EXR002 Mäusen nicht in einem kognitiven Defizit liegt.

Die Latenz bis zur ersten Objekt-Exploration und der wiederholte Besuch der Objekte stellt die explorative und motivationale Komponente im Objekterkennungstest dar. Bei den EXR002 Mäusen ist die Aktivität hier deutlich geringer als bei den C3Hwt Mäusen. Das gleicht sich aber im 2. Test aus. Die EXR002 Mäuse explorieren nun die Objekte früher und öfter als im 1. Test (Abbildung eamHb 26 - 34). Auch hier können Habituationseffekte eine Rolle spielen.

Betrachtet man das Angstverhalten beider Mauslinien zeigt sich, dass die EXR002 Mäuse das *board* später und weniger oft betreten. Allerdings, als deutlichstes Maß für Ängstlichkeit gilt die verbrachte Zeit auf dem *board* in der ungeschützten Mitte des Areals, die sich bei den beiden Mauslinien nur gering unterscheidet (Abbildung eamHb 1-7). Die längere Latenz bis zum ersten Betreten des *boards* bezieht sich hier vermutlich nicht auf eine erhöhte Ängstlichkeit, sondern auf eine geringere Motivation zu explorieren. Dies konnte in Versuchen mit anderen Mauslinien gezeigt werden (Ohl et al., 2003). Geringe Motivation und nachlassende Aktivität gilt als Zeichen von Depression (Nesse, 1999).

Die Lokomotion ist bei den EXR002 Mäusen gegenüber den C3Hwt Mäusen deutlich verringert, was mit dem geringen Explorationsverhalten korreliert. Die EXR002 Mäuse sind generell weniger aktiv im mHb Test als ihre Wildtyp Artgenossen. Ein Zusammenhang zwischen der Länge der zurückgelegten Wegstrecke und der Anzahl der *rearings* im Open Field Test konnte in einigen Studien mit anderen Mauslinien ermittelt werden (Thiel et al., 1999; File, 2001). Andere Studien dagegen stellten bei den Mäusen eine nur eine geringe Korrelation zwischen *rearing* und Lokomotion fest (Crawley, 1985). Trotz der lokomotorischen Reduktion sind die EXR002 Mäuse das gesamte Areal im Test abgelaufen und haben jeden Bereich der *box* untersucht. Es kam nicht zu einem passiven Verbleiben in nur einem Bereich der Versuchsbox, wie man bei ängstlichen Mäusen manchmal beobachten kann. Im 2. mHb Test verstärkte sich bei den EXR002 Mäusen die lokomotorische Aktivität. Es handelt sich hier vermutlich einem Habituationseffekt, wie er schon bei einigen anderen Parametern beobachtet wurde.

Der Phänotyp der EXR002 Mäuse wurde in weiteren selektiven Verhaltenstests untersucht um, a.) weitere Einblicke in das Verhaltensrepertoire der Tiere zu bekommen, und b.) um die im mHb gefunden Ergebnisse zu bestätigen. Daher wurde als erster Verhaltenstest der FS Test nach Porsolt durchgeführt, der noch immer als ein wichtiger Test für Angst und Depression gilt.

4. 2. 2. Die EXR002 im Forced Swim Test nach Porsolt

Beim Forced Swim Test nach Porsolt werden zwei Versuchsdurchgänge an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt. Das Verhalten der Tiere in beiden Versuchsdurchgängen wird miteinander verglichen, dabei ist besonders die Reaktion der Tiere im 2. Test von Bedeutung.

Die EXR002 Mäuse zeigen mehr *floating* am 2. Versuchstag und fangen viel früher mit *floaten* an, als die C3Hwt Mäuse (Abbildung exrafs 1-3). Die Immobilität im FS (*floating*) wird von vielen Forschern als Selbstaufgabe (*behavioral despair*) betrachtet, welches als ein Zeichen für depressives Verhalten gewertet wird (Borsini & Mel, 1988). Bei einigen Mauslinien ist es möglich durch die Verabreichung bestimmter Gruppen von Antidepressiva das *floaten* im 2. Test zu verringern. Damit stellt der Forced swim Test nach Porsolt einen selektiven Test für Antidepressiva dar. Als Ursache für die Immobilität im FS wird aber in jüngerer Zeit einer kognitive Leistung (Montkowski et al., 1995) oder einer verstärkten Ängstlichkeit (Ferre et al., 1994) angenommen.

Die EXR002 Mäuse zeigen eine gute Gedächtnisleistung im mHb mit starken Habituationseffekten im 2. mHb Test. Somit kann sowohl eine kognitive Leistung, als auch Ängstlichkeit als Ursache für die Immobilität gelten. Die geringere Aktivität, die die EXR002 Mäusen im mHb gezeigt haben, kann nicht allein als Auslöser betrachtet werden, da andere Studien gezeigt haben, dass es keinen direkten Zusammenhang gibt zwischen Lokomotion und Aktivität im FS (Crawley et al., 1997). Generell wurde in Studien mit C3Hwt Mäusen im FS sowohl viel, als auch wenig *floating* bei den Tieren nachgewiesen (Ducottet & Belzung, 2005; Lucki et al., 2001).

In dem Parameter *struggling* ist am 2. Tag die Aktivität der C3Hwt Mäusen deutlich geringer als am 1. Versuchstag. Die EXR002 Mäuse *strugglen* generell weniger und es gibt nur wenig Unterschied zwischen den beiden Versuchstagen (Abbildung exrafs 5-6). Stattdessen schwimmen die EXR002 Mäuse am 1. Tag mehr. Bei den C3Hwt Mäusen deutet sich im 1. Test ein stärkeres Fluchtverhalten an, als bei den EXR002 Mäusen, die auch im 1. Test nur für kurze Zeit dem Zylinderglas zu entkommen versuchen.

4. 2. 3. Die EXR002 im Elevated Plus-Maze Test

Der EPM Test gilt als zuverlässiger Angsttest für Nager. Das Bedürfnis im geschlossenen, sichern Arm zu verbleiben steht hier im Widerstreit mit der Neugierde des Tieres den offenen Arm zu explorieren. Ein ängstliches Tier wird im geschlossenen Arm bleiben, während ein mutiges Tier den offenen Arm betritt.

Das deutlich reduzierte Explorationsverhalten bei den EXR002 Mäusen im EPM lässt darauf schließen, dass der explorativ-reduzierte Phänotyp sich nicht nur in dem spezifischen Versuchsaufbau des mHb manifestiert. Die Anzahl der *rearings* und *head dips* ist deutlich geringer als bei den C3Hwt Mäusen (Abbildung eapm1, 3). Zusätzlich ist bei den EXR002 Mäusen die Latenz bis zum ersten *rearing* vergleichsweise hoch (Abbildung eapm 2). Die Anzahl der *rearings* gibt einen Hinweis auf den Grad der Neugierde bei einem Tier. Eine erhöhte Latenz und eine geringe Zahl an *rearings* deuten auf Ängstlichkeit hin (Rodger & Dalvi, 1997). *Head dips* werden als Exploration und *risk assessment* auf den offenen Arm gewertet. Allerdings belegt eine Studie, dass im Explorationsverhalten *rearings* und *head dips* auch unabhängig voneinander wirken können (File, 2001). Der Parameter *risk assessment* kann außerdem auf eine erhöhte Ängstlichkeit hinweisen (Rodgers & Cole, 1995; Rodger & Dalvi, 1997).

Bei den Angstparametern gibt es keine eindeutige Antwort, ähnlich wie zuvor beim mHb Test. Die EXR002 Mäuse betreten den offenen Arm weniger oft (Abbildung eapm4), aber verbringen ebenso viel Zeit auf ihm wie die C3Hwt Mäuse. Sowohl die Anzahl der Eintritte auf den offenen Arm (Crawley et al., 1997) als auch die verbrachte Zeit gelten als Angstparameter (Rodgers & Dalvi, 1997). In älteren Studien mit C3Hwt Mäusen im EPM Versuch hat sich diese Mauslinie eher als mutig erwiesen (Crawley et al., 1997).

4. 2. 4. Die EXR002 im mHb Test mit chronischer Paroxetin Behandlung

Für eine pharmakologische Validierung des Phänotyps der EXR002 wurde das Antidepressivum Paroxetin verwendet, das seit langem bei depressiven Erkrankungen verschrieben wird. Es wurde bereits früher in verschiedenen Tiermodellen angewandt. Die SSRIs (Selektive-Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer), wie Paroxetin und das eng verwandte Fluoxetin, haben in Angststudien mit Nagern zu widersprüchlichen Ergebnissen geführt. Ihre Wirkung war abhängig von der Wahl des Medikamentes, dem Testaufbau und der Mauslinie (Zur Übersicht: Griebel, 1995; Sanchez & Meier, 1997). Bei einigen Versuchen wirkten die SSRIs wie erwartet Angst-lösend, aber auch der gegenteilige Effekt wurde gefunden. Verhaltenstests, die spontane Reaktionen bei den Versuchstieren erlaubten, waren

sensibler gegenüber einer SSRI Behandlung und führten zu einer Veränderung des Angstverhaltens, im Gegensatz zu Versuchen mit konditioniertem Verhalten (Griebel, 1995). In einer Studie mit ängstlichen- und nicht-ängstlichen Ratten im Forced swim Test konnte gezeigt werden, dass Paroxetin das Verhalten der sehr ängstlichen Ratten normalisierte, während es keinen Einfluss auf die nicht-ängstlichen Ratten hatte. Bei der gleichzeitigen Überprüfung der Lokomotion zeigten sich keinerlei sedierende Effekte durch das Medikament (Tejani-Butt et al., 2003; Keck et al., 2005).

Bei den EXR002 Mäusen löst das Paroxetin eine erhöhte Latenz bis zur ersten Fellpflege (*grooming*) aus. Sie betreten auch das *board* öfter, was auf einen Angst-lösenden Effekt durch das Medikament hindeutet, da beide Parameter Ängstlichkeit indizieren (Abbildung eamHbp1, 8). Angst-lösende Medikamente können sowohl eine Verstärkung als auch eine Inhibition bei der *board* Exploration auslösen (Takeda et al., 1998).

Bei den C3Hwt Mäusen gibt es eine Reihe von Behandlungseffekten. Bei den behandelten Tieren ist die Latenz bis zum ersten Lochbesuch und der Exploration des bekannten- und unbekanntes Objektes deutlich erhöht, gleichzeitig ist die Lokomotion verringert. Dies lässt auf eine Sedierung durch das Medikament schließen (Abbildung eamHbp2-6). Interessanterweise gibt es keine Effekte beim Explorationsverhalten durch die Paroxetin Behandlung.

Beim Angstverhalten wird ein unterschiedlicher Trend bei den beiden Mauslinien deutlich, auch wenn die Ergebnisse keine Signifikanz erreichen. Die behandelten EXR002 Mäuse betreten das *board* früher und öfter, während die C3Hwt Mäuse es weniger betreten und später (Abbildung eamHbp7-8). Dieses Ergebnis scheint darauf hinzudeuten, dass der möglicherweise sedierende Effekt des Paroxetin auf die C3Hwt Mäuse sich nicht gleichermaßen auf die EXR002 Mäuse auswirkt. Bei den EXR002 Mäusen scheint die Behandlung mehr eine anxiolytische Wirkung gehabt zu haben, wie sie in früheren Verhaltensstudien gefunden wurde (Tejani-Butt et al., 2003; Keck et al., 2005).

Jedenfalls führt das Paroxetin zu unterschiedlichen, wenn auch geringen Verhaltenseffekten bei den beiden Mauslinien. Paroxetin konnte aber trotzdem das Explorationsverhalten der EXR002 Mäuse nicht positiv beeinflussen. Antidepressiva entfalten ihre volle Wirkung nur durch chronische Behandlung und es zeigen sich Effekte nur bei denjenigen Menschen, die auch an einer Depression erkrankt sind (Harro, 2004; Nester et al., 2004; Holsboer, 1999). Allerdings sind SSRIs nicht immer zuverlässig in Verhaltensversuchen gewesen und sie wirken nicht auf alle Mauslinien gleichermaßen gut (Zur Übersicht: Harro, 2004). Das stark angestiegene Körpergewicht der beiden behandelten Mauslinien weist allerdings auf die

Wirksamkeit des Medikamentes auf den Metabolismus der Mäuse hin (Abbildung eamHb9). Ebenso konnte Paroxetin in hoher Dosis im Blut der Mäuse nachgewiesen werden (Abbildung eamHbp10). Damit lässt sich ausschließen, dass die Dosis zu gering war oder eine längere Behandlung nötig gewesen wäre.

4. 2. 5. EXR002-Hybriden im mHb

Für die Genotypisierung der EXR002 Mauslinie wurden BL6 Mäuse eingekreuzt (Siehe Material und Methoden: S. 13). Mit diesen EXR002-Hybriden wurde die Charakterisierung des EXR002 Phänotyps fortgeführt. Das reduzierte Explorationsverhalten, das in der ursprünglichen EXR002-Alpha Mauslinie sichtbar ist, ist bei der neuen Zuchtlinie ebenfalls vorhanden. In einigen jedoch Parametern unterscheiden sich die EXR002-Hybriden von den EXR002-Alpha Mäusen. Diese Unterschiede werden möglicherweise durch Charakterelemente ausgelöst, die bei der BL6 Mauslinie vorkommen. In früheren Studien wurde wiederholt festgestellt, dass bei der Nachkommenschaft von gekreuzten Mauslinien Verhaltenseigenschaften eines Elternteiles ebenso wie intermediäre Formen auftreten können (Crawley et al., 1997; Salimov et al., 2004).

Bei den EXR002-Hybriden gibt es ebenfalls eine deutliche Reduktion des Explorationsverhaltens, die auch im 2. Test (Konfirmation) stabil erhalten bleibt (Abbildung ehmHbk4-14). Bei der Analyse des Angstverhaltens zeigen sich die EXR002-Hybriden im 1. Test ängstlicher als die Wildtypen (C3H/BL6wt-Hybriden). Die EXR002-Hybriden verbringen viel weniger Zeit auf dem *board* (Abbildung ehmHb5-6). Hier unterscheiden sich die EXR002-Hybriden von den EXR002-Alpha Mäusen, die genauso viel Zeit auf dem *board* verbringen wie die C3Hwt Mäuse (Abbildung eamHb6). Damit scheinen die EXR002-Hybriden ängstlicher zu sein, als es die EXR002-Alpha Mäuse sind. Bei dem Objekterkennungstest ist die Leistung der beiden Hybrid Mauslinien gut, es sind keine offensichtlichen Defizite erkennbar. Nur scheint es einen Habituationseffekt im Konfirmationstest zu geben, da die EXR002-Hybriden das unbekannte Objekt im 2. Test früher und mehr explorieren (Abbildung ehmHbk19-20). Die EXR002-Hybriden verbringen mehr Zeit an der durchsichtigen Trennwand in Kontakt mit ihrer Käfiggruppe. Damit ist bei den EXR002-Hybriden die soziale Affinität deutlich verstärkt im Vergleich zu den EXR002-Alpha Mäusen (Abbildung ehmHbk20-2). Eine stärkere soziale Affinität konnte in anderen Studien durch Angst-lösenden Medikamente herbeigeführt werden (Zur Übersicht: Crawley, 1985). Bei den eigenen Versuchen scheint sie aber mehr mit einer größeren Ängstlichkeit bei den EXR002-Hybriden zusammenzuhängen.

Trotz der Einkreuzung von BL6 Mäusen wird das besondere Explorationsverhalten, das so bezeichnend ist für die EXR002 Mutanten, in der Hybridkreuzung wiedergefunden.

4. 2. 6. EXR002-Hybriden im Forced Swim Test

Im FS Test nach Porsolt finden sich wenig signifikante Unterschiede zwischen den Mutanten und Wildtyp Mäusen. Das in Studien oft beobachtete Phänomen einer hohen Aktivität am 1. Versuchstag und einer längeren Immobilität am 2. Versuchstag ist aber bei beiden Linien zu finden.

Bei den EXR002-Hybriden werden im FS auch weibliche Mäuse getestet. Versuche mit Weibchen werden oft durch den Östrus Zyklus der Tiere beeinflusst, der das Verhalten verändert, je nachdem in welcher Phase des Östrus sie sich gerade befinden. Dieser besondere Effekt tritt aber abhängig von Testtypus und Mauslinie auf (David et al., 2001). Die EXR002-Hybrid Weibchen zeigen viel Aktivität und schwimmen am 2. Tag mehr als die C3H/BL6wt-Hybrid Weibchen (Abbildung ehfs4). Bei der Analyse der Ergebnisse einzelner weiblicher Tiere zeigen sich so große Schwankungen bei den Werten, dass kaum signifikante Ergebnisse erzielt werden können. Das lässt den Schluss zu, dass beim FS Test der Östrus Zyklus Einfluss auf das Verhalten der Weibchen nahm.

Bei den männlichen Mäusen ergeben sich stabilere Ergebnisse. Die EXR002-Hybrid Männchen schwimmen (*swimming*) am 2. Versuchstag mehr, anstatt nur zu *floaten* (Abbildung ehfs6). Die Anzahl der Wechsel von einem Parameter in den nächsten gibt einen Hinweis auf die Aktivität. Die EXR002-Hybrid Männchen wechseln sehr oft zwischen *floaten* und *swimming*, was trotz der längeren Zeit, die sie im 2. Test mit *floaten* verbringen, auf ein aktives Verhalten hindeutet.

Nur die Zeit, die beiden Mauslinien mit Fluchtversuchen (*stuggling*) aus dem Glaszylinder verbringen, ist bei allen Gruppen am 2. Tag reduziert (Abbildung ehfs7). Die EXR002-Hybriden sind aber durch das gesteigerte *swimming* doch deutlicher aktiver als die C3H/BL6wt-Hybriden, die hauptsächlich ein immobiles Verhalten am 2. Tag zeigen (Abbildung ehfs10). Damit sind die EXR002-Hybriden aktiver im FS als die EXR002-Alpha Mäuse, die am 2. Tag deutlich passiv reagieren. Hier kommt vermutlich die Einkreuzung durch die BL6 Mäuse zum Tragen, die zu anderen Resultaten führt, als man bei den EXR002 Mäusen im FS Test gefunden hat.

4. 2. 7. EXR002-Hybriden im Elevated Plus-Maze Test

Die EXR002-Hybriden unterscheiden sich in diesem Angsttest in einer Reihe von Parametern von den C3H/BL6wt-Hybriden. Dies wird besonders deutlich beim Explorationsverhalten. Die EXR002-Hybriden zeigen zeitlich später und weniger *rearings* als die C3H/BL6wt Hybriden (Abbildung ehpm1-2). Ebenso ist die Zahl der *head dips* verringert (Abbildung ehpm3). Die EXR002-Hybriden zeigen ein deutliches Angstverhalten, wie es schon bei den EXR002-Alpha Mäusen aufgetreten ist. Die EXR002-Hybriden betreten den geschlossenen Arm öfter als den offenen Arm, was als ein starkes Indiz für Ängstlichkeit angesehen wird (Abbildung ehpm 4, 6). Darüber hinaus deutet die geringe Zahl von Eintritten auf die zentrale Plattform bei den EXR002-Hybriden auf eine verringerte Aktivität hin. Die Gesamtzahl der Übertritte und Wechsel zwischen den Armen wird als ein Hinweis auf die lokomotorische Aktivität gesehen (Crawley et al., 1997). Insgesamt zeigen sich die EXR002-Hybriden explorativ und lokomotorisch reduziert, und darüber hinaus auch noch ängstlicher als die C3H/BL6-Hybrid Mäuse. Wie im mHb gibt es also auch im EPM Hinweise auf eine höhere Ängstlichkeit bei den EXR002-Hybrid Mäusen im Vergleich zu den EXR002-Alpha Mäusen. Eine Parallele zum FS zu ziehen ist nicht so einfach, da in einigen Studien gezeigt wurde, dass es keinen Zusammenhang gibt zwischen dem Verhalten im FS Test und der gezeigten Angst im EPM (Ducottet & Belzung, 2004; Andreatini & Bacellar, 1999).

4. 2. 8. EXR002-Hybriden im mHb Test mit R121919 Behandlung

Da der CRH-R1 Antagonist R121919 im Gegensatz zu vielen klassischen angstlösenden Mitteln keinen sedierenden Nebeneffekt hat, eignete er sich als Medikament, um spezifisch auf die Angst Einfluss zu nehmen (Keck et al., 2001). In einer Reihe von Studien, bei denen R121919 verwendet worden war, kommt es zu einer anschaulichen Angst-lösenden Wirkung bei den Versuchstieren (Heinrichs et al., 2000; Zobel et al., 2000; Pellemounter et al., 2000). In einem mHb Test mit ängstlichen- und nicht-ängstlichen Ratten verursachte R121919 bei den ängstlichen Ratten ein mutigeres Verhalten, dessen Ausprägung von der Höhe der Dosis abhängig war (Keck et al., 2001). Bei einer klinischen Studie wurde durch R121919 eine offensichtliche Verbesserung der Symptome bei depressiven Patienten erzielt (Zobel et al., 2000).

Durch die Behandlung der Mäuse mit R121919 verändert sich das Explorationsverhalten der Mutanten nur in Bezug auf die Latenzen. Bei den EXR002-Hybriden ist die Latenz bis zum ersten Lochbesuch und bis zum ersten *rearing* stark verringert (Abbildung ehr12mHb5 und 7). Trotz allem explorieren die EXR002-Hybriden noch immer weniger Löcher und zeigen

weniger *rearings* als die C3H/BL6-Hybrid Mäuse. Auch ist die Latenz bis zum ersten Betreten des *boards* bei den EXR002-Hybriden sehr verringert. Da aber die verbrachte Zeit auf dem *board* sich nicht verändert hat, kann man nicht mit Sicherheit davon ausgehen, dass die Mäuse durch die Behandlung weniger ängstlich waren.

Bei den EXR002-Hybrid Mäusen führt die R121919-Behandlung zu einer verringerten Exploration des unbekanntes Objektes, dennoch ist die Dauer der Exploration noch doppelt solange als bei dem bekannten Objekt. Damit hat R121919 keinen negativen Einfluss auf die kognitiven Fähigkeiten.

Die Akut-Behandlung mit R121919 löst bei den EXR002-Hybriden im mHb Test keine besonders aussagekräftigen Effekte aus. R121919 scheint zumindest auf die Ängstlichkeit der EXR002-Hybriden positive Auswirkungen zu haben. Das Explorationsverhalten beider Gruppen ist durch die Behandlung allerdings nicht betroffen. Dies deutet zumindest darauf hin, dass es keine unmittelbare Korrelation zwischen dem reduziertem Explorationsverhalten und der Ängstlichkeit der Mäuse gibt. Wäre Ängstlichkeit die alleinige Ursache für das geringe Explorationsverhalten, hätte sich nach der Gabe eines Angst-lösenden Medikamentes die Exploration verstärken müssen. Möglicherweise hätte eine chronische Behandlung mit R121919 einen Depressions-lösenden und Motivations-steigernden Effekt gehabt, wie es schon bei Versuchen mit DBA und BL6 Mäusen gezeigt werden konnte. Bei einer akuten Behandlung mit R121919 kommt es vor allem zu einer Modulation des Angstverhaltens (Rödel, 2002).

4. 2. 9. CRH Analyse im PVN und Amygdala

Bei dem basalen Vergleich der CRH-R1 mRNA in den Hirnarealen des PVN und der Amygdala bei den Mauslinien EXR002-Alpha, C3Hwt, EXR002-Hybriden und C3H/BL6-Hybriden mit Hilfe von radioaktiv markierter Riboproben konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Mauslinien festgestellt werden. Damit scheint es unter basalen Bedingungen keinen Zusammenhang bei der Stressreaktion und der Verhaltensänderung bei den EXR002 Mäusen zu geben

4. 3. SCHLUSSBETRACHTUNG

Die EXR002 Mauslinie stellt ein neues und interessantes Tiermodell für das Krankheitsbild der Depression dar, das auf einem reduzierten Explorationsverhalten basiert.

Die bekanntesten Tiermodelle für Depression basieren auf einer Form von Zwang, dem die Tiere ausgesetzt werden. Damit werden aber nur sehr eingeschränkt die möglichen Endophänotypen einer Depression abgebildet. Besonders spontanes, freiwilliges Verhalten, das eine Maus in einer stressfreien Umgebung zeigen kann, wird dabei vernachlässigt. In diesem Zusammenhang ist der Einsatz von Mauslinien, die auf Grund von besonderen Charakteristiken in ihrem Verhalten selektiv gezüchtet worden sind, im Vorteil gegenüber Studien mit Wildtyp Linien (Harro, 2004). Darüber hinaus gibt es bei der Depression einen genetischen Hintergrund, daher sind genetisch veränderte Mäuse für ein Depressionsmodell besonders geeignet (Nester et al., 2004). Die EXR002 Mäuse verhalten sich in den verschiedenen Testsituationen entsprechend ihres besonderen Charakters, damit sind sie ein wertvolles Instrument in der Erforschung der zugrundliegenden Mechanismen der Depression.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde eine Revalidierung von Test-Paradigmen, die für die Untersuchung von Depressions-ähnlichen Verhalten bei Nagern verwendet wurden, durchgeführt. Darüber hinaus wurde ein neues Mausmodell für Depression charakterisiert, das auf einem reduzierten Explorationsverhalten bei den Tieren basiert.

Um den Zusammenhang von Depressions-ähnlichen Verhalten und Kognition zu untersuchen, wurden die kognitiven Prozesse der beiden Mauslinien DBA und BL6 mit Hilfe des muskarinen Rezeptorantagonisten Skopolamin beeinträchtigt. Mit den beiden Mauslinien, die in der Literatur als unterschiedlich beschrieben wurden was ihre Emotionalität und ihr Angstverhalten betrifft, wurde ein EPM, ein FS Test nach Porsolt und ein mHb Test durchgeführt. Unabhängig von der Behandlung durch Skopolamin, zeigten die Mauslinien das für beide oft dokumentierte individuelle Angstverhalten in allen der durchgeführten Tests. Jedoch zeigten sich nur im FS Test Verhaltensänderungen, die auf einen kognitiven Effekt hindeuten. Das weist darauf hin, dass im FS Test nach Porsolt kognitive Elemente eine Rolle spielen, die in den anderen Tests nicht zum Tragen kamen. Damit wird der FS Test als geeignetes Modell zur Überprüfung der Wirkung von Antidepressiva in Frage gestellt, da bisher die Wirkung des Medikamentes und nicht eine kognitive Leistung des Tieres als Ursache für die Verhaltensänderung angenommen wurde.

Bei einem groß angelegten Screening-Programm, durchgeführt durch das ENU-Programm mit dem Ziel, neue Mausmutanten zu finden, wurde eine Mausmutante entdeckt, die ein reduziertes Explorationsverhalten im mHb zeigte. Nach mehreren Generationen Zucht war bei deren Nachkommen noch immer ein stabiler Phänotyp mit dem beobachteten Verhalten vorhanden, welches diese Eigenschaft als erblich bestätigte. Die EXR002 (**EX**plorativ-**R**educed-**002**) Mauslinie zeigte deutlich weniger *rearings* und Lochbesuche und eine höhere Latenz im mHB Test als die, ihr zu Grunde liegende, Wildtyp Mauslinie C3Hwt. Die reduzierte Motivation, die sich von diesem Verhalten ableiten lässt, steht im Zusammenhang mit Symptomen wie sie bei der Depression beobachtet werden. Dabei bleiben die Parameter, die Angstverhalten, Erregung und Kognition ermitteln, weitgehend unbeeinträchtigt. In weiteren selektiven Verhaltenstests, wie dem EPM und dem FS Test nach Porsolt, konnten die Beobachtungen über das reduzierte Explorationsverhalten bestätigt werden. Bei einer zweiten Mauslinie, bei der es sich um eine Hybridverpaarung mit BL6 Mäuse handelte, konnten die gefundenen Ergebnisse bestätigt und erweitert werden. Bei einer pharmakologischen Validierung mit dem Antidepressiva R121919 konnte das Verhaltensprofil der EXR002-

Hybrid Mäuse als Depressions-ähnlich bestätigt werden. Damit stellt die EXR002 Mauslinie ein vielversprechendes neues Tiermodell für Depression dar.

6. ANHANG

Tabelle 2:

Versuch 1a: Modified hole board mit Skopolamin Behandlung

Ergebnisse der Zwei-Faktoren Varianzanalyse für alle Parameter der Skopolamin-behandelten und Vehikel-behandelten DBA und BL6 Mäuse.

Effekt	Testgröße	Freiheitsgrad	p-Level
Eintritte board			
Mauslinie	1/36	54.991	0.000
Behandlung	1/36	0.194	0.66
Interaktion	1/36	1.94	0.17
Latenz board			
Mauslinie	1/36	56.440	0.000
Behandlung	1/36	0.998	0.32
Interaktion	1/36	0.530	0.47
% Zeit board			
Mauslinie	1/36	21.165	0.000
Behandlung	1/36	0.333	0.56
Interaktion	1/36	1.913	0.17
Anzahl rear board			
Mauslinie	1/36	1.528	0.22
Behandlung	1/36	0.169	0.68
Interaktion	1/36	1.528	0.22
Latenz rear board			
Mauslinie	1/36	1.331	0.25
Behandlung	1/36	0.692	0.41
Interaktion	1/36	0.003	0.95
Anzahl stretched attends			
Mauslinie	1/36	0.205	0.65
Behandlung	1/36	0.339	0.56
Interaktion	1/36	1.513	0.22
Anzahl explorierte Löcher			
Mauslinie	1/36	55.445	0.000
Behandlung	1/36	0.430	0.51
Interaktion	1/36	2.777	0.10
Latenz Loch			
Mauslinie	1/36	42.438	0.000
Behandlung	1/36	0.109	0.74
Interaktion	1/36	0.000	0.97
Anzahl rearings			
Mauslinie	1/36	0.649	0.42
Behandlung	1/36	0.121	0.72
Interaktion	1/36	0.000	0.97
Latenz rearings			
Mauslinie	1/36	1.160	0.28

Anhang

Behandlung	1/36	0.344	0.56
Interaktion	1/36	0.111	0.74
Latenz Linienübertritt			
Mauslinie	1/36	6.274	0.01
Behandlung	1/36	1.062	0.30
Interaktion	1/36	0.844	0.36
Anzahl Linienübertritte			
Mauslinie	1/36	8.712	0.005
Behandlung	1/36	0.013	0.90
Interaktion	1/36	0.025	0.87
Anzahl unbekanntes Objekt			
Mauslinie	1/36	12.807	0.001
Behandlung	1/36	3.952	0.054
Interaktion	1/36	0.309	0.58
Latenz unbekanntes Objekt			
Mauslinie	1/36	19.350	0.000
Behandlung	1/36	0.386	0.537
Interaktion	1/36	0.112	0.739
% Zeit unbekanntes Objekt			
Mauslinie	1/36	0.000	0.98
Behandlung	1/36	2.479	0.14
Interaktion	1/36	0.477	0.49
Anzahl bekanntes Objekt			
Mauslinie	1/36	25.332	0.000
Behandlung	1/36	0.095	0.75
Interaktion	1/36	0.517	0.47
Latenz bekanntes Objekt			
Mauslinie	1/36	21.552	0.000
Behandlung	1/36	0.193	0.66
Interaktion	1/36	0.860	0.35
% Zeit bekanntes Objekt			
Mauslinie	1/36	0.038	0.84
Behandlung	1/36	0.810	0.37
Interaktion	1/36	0.213	0.64
Latenz grooming			
Mauslinie	1/36	10.313	0.002
Behandlung	1/36	0.411	0.52
Interaktion	1/36	0.407	0.52
% Zeit grooming			
Mauslinie	1/36	1.038	0.31
Behandlung	1/36	0.278	0.60
Interaktion	1/36	1.413	0.24
ACTH Konzentration			
Mauslinie	1/36	9.045	0.004
Behandlung	1/36	1.629	0.21
Interaktion	1/36	0.032	0.85
Cort Konzentration			
Mauslinie	1/36	8.177	0.007
Behandlung	1/36	0.492	0.48

Interaktion	1/36	0.890	0.35
-------------	------	-------	------

Tabelle 3:

Versuch 1b: Elevated Plus-Maze mit Skopolamin Behandlung

Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse für alle Parameter der Skopolamin-behandelten und Vehikel-behandelten DBA und BL6 Mäuse im EPM.

Effekt	Testgröße	Freiheitsgrad	p-Level
Anzahl rearings			
Stamm	1/36	36.489	0.000
Behandlung	1/36	7.407	0.000
Interaktion	1/36	2.132	0.15
Latenz rearing			
Stamm	1/36	46.508	0.000
Behandlung	1/36	0.047	0.82
Interaktion	1/36	0.890	0.35
Anzahl head dips			
Stamm	1/36	115.367	0.000
Behandlung	1/36	1.162	0.28
Interaktion	1/36	0.460	0.50
Latenz head dip			
Stamm	1/36	13.370	0.000
Behandlung	1/36	0.221	0.64
Interaktion	1/36	0.025	0.87
Anzahl Eintritte offener Arm			
Stamm	1/36	25.442	0.002
Behandlung	1/36	10.246	0.000
Interaktion	1/36	0.338	0.56
Latenz Eintritt offener Arm			
Stamm	1/36	8.962	0.004
Behandlung	1/36	1.582	0.21
Interaktion	1/36	1.025	0.32
% Zeit offenen Arm			
Stamm	1/36	14.044	0.000
Behandlung	1/36	0.061	0.80
Interaktion	1/36	1.167	0.28
Anzahl Eintritte geschlossener Arm			
Stamm	1/36	4.169	0.048
Behandlung	1/36	2.932	0.09
Interaktion	1/36	0.351	0.55
Latenz Eintritt geschlossener Arm			
Stamm	1/36	3.110	0.08
Behandlung	1/36	0.386	0.53
Interaktion	1/36	0.137	0.72
% Zeit geschlossenem Arm			

Anhang

Stamm	1/36	79.818	0.000
Behandlung	1/36	0.021	0.88
Interaktion	1/36	0.457	0.50
Anzahl Eintritte Plattform			
Stamm	1/36	8.636	0.005
Behandlung	1/36	14.837	0.000
Interaktion	1/36	0.684	0.41
% Zeit Plattform			
Stamm	1/36	0.001	0.96
Behandlung	1/36	1.022	0.31
Interaktion	1/36	1.627	0.21
Anzahl risk assessments			
Stamm	1/36	7.659	0.008
Behandlung	1/36	0.076	0.78
Interaktion	1/36	0.306	0.58
Latenz risk assessment			
Stamm	1/36	1.234	0.27
Behandlung	1/36	0.959	0.33
Interaktion	1/36	0.345	0.56
% Zeit grooming			
Stamm	1/36	40.573	0.000
Behandlung	1/36	4.964	0.03
Interaktion	1/36	6.482	0.01
Defäkation			
Stamm	1/36	0.890	0.35
Behandlung	1/36	0.098	0.75
Interaktion	1/36	2.472	0.12
ACTH Konzentration			
Stamm	1/36	0.086	0.76
Behandlung	1/36	0.087	0.76
Interaktion	1/36	0.001	0.96
CORT Konzentration			
Stamm	1/36	9.854	0.003
Behandlung	1/36	5.567	0.02
Interaktion	1/36	6.288	0.01

Tabelle 4:

Versuch 1c: Forced swim Test nach Porsolt mit Skopolamin Behandlung

Ergebnisse der Varianzanalyse mit Messwiederholung aller Hauptfaktoren der Skopolamin- und Vehikel-Behandlung der DBA Mäuse und BL6 Mäuse im Forced swim Test.

Effekt	Testgröße	Freiheitsgrad	p-Level
ACTH Konzentration			
Mauslinie	1/26	0.239	ns
Behandlung	1/26	0.798	ns
Mauslinie/ Behandlung	1/26	0.006	ns

Anhang

Versuchsdurchgang	1/26	0.241	ns
Mauslinie/ Versuchsdurchgang	1/26	2.075	ns
Versuchsdurchgang / Behandlung	1/26	0.232	ns
Versuchsdurchgang/ Mauslinie/ Behandlung	1/26	0.042	ns
Cort Konzentration			
Mauslinie	1/31	5.279	0.02
Behandlung	1/31	2.155	ns
Mauslinie/ Behandlung	1/31	0.009	ns
Versuchsdurchgang	1/31	1.154	ns
Mauslinie/ Versuchsdurchgang	1/31	0.504	ns
Versuchsdurchgang / Behandlung	1/31	0.454	ns
Versuchsdurchgang/ Mauslinie/ Behandlung	1/31	0.037	ns
Latenz swimming			
Mauslinie	1/36	0.234	ns
Behandlung	1/36	0.067	ns
Mauslinie/ Behandlung	1/36	3.710	ns
Versuchsdurchgang	1/36	1.513	ns
Mauslinie/ Versuchsdurchgang	1/36	6.115	0.01
Versuchsdurchgang / Behandlung	1/36	1.490	ns
Versuchsdurchgang/ Mauslinie/ Behandlung	1/36	4.369	0.04
Anzahl swimming			
Mauslinie	1/36	0.075	ns
Behandlung	1/36	0.159	ns
Mauslinie/ Behandlung	1/36	5.001	0.03
Versuchsdurchgang	1/36	0.650	ns
Mauslinie/ Versuchsdurchgang	1/36	2.129	ns
Versuchsdurchgang / Behandlung	1/36	0.178	ns
Versuchsdurchgang/ Mauslinie/ Behandlung	1/36	2.139	ns
% Zeit swimming			
Mauslinie	1/36	3.962	ns
Behandlung	1/36	0.201	ns
Mauslinie/ Behandlung	1/36	0.123	ns
Versuchsdurchgang	1/36	1.541	ns
Mauslinie/ Versuchsdurchgang	1/36	0.057	ns
Versuchsdurchgang / Behandlung	1/36	4.287	0.04
Versuchsdurchgang/ Mauslinie/ Behandlung	1/36	0.231	ns
Latenz struggle			
Mauslinie	1/36	2.047	ns
Behandlung	1/36	0.073	ns
Mauslinie/ Behandlung	1/36	1.183	ns
Versuchsdurchgang	1/36	45.739	0.00
Mauslinie/ Versuchsdurchgang	1/36	0.957	ns
Versuchsdurchgang / Behandlung	1/36	0.135	ns
Versuchsdurchgang/ Mauslinie/ Behandlung	1/36	0.002	ns
Anzahl struggle			
Mauslinie	1/36	0.037	ns
Behandlung	1/36	0.463	ns
Mauslinie/ Behandlung	1/36	0.009	ns
Versuchsdurchgang	1/36	18.237	0.00
Mauslinie/ Versuchsdurchgang	1/36	0.372	ns
Versuchsdurchgang / Behandlung	1/36	0.093	ns
Versuchsdurchgang/ Mauslinie/ Behandlung	1/36	0.506	ns
% Zeit struggle			

Anhang

Mauslinie	1/36	0.149	ns
Behandlung	1/36	0.523	ns
Mauslinie/ Behandlung	1/36	0.432	ns
Versuchsdurchgang	1/36	32.062	0.00
Mauslinie/ Versuchsdurchgang	1/36	0.013	ns
Versuchsdurchgang / Behandlung	1/36	2.693	ns
Versuchsdurchgang/ Mauslinie/ Behandlung	1/36	0.008	ns
Latenz floating			
Mauslinie	1/36	0.950	ns
Behandlung	1/36	1.125	ns
Mauslinie/ Behandlung	1/36	0.019	ns
Versuchsdurchgang	1/36	35.469	0.00
Mauslinie/ Versuchsdurchgang	1/36	2.361	ns
Versuchsdurchgang / Behandlung	1/36	4.184	0.04
Versuchsdurchgang/ Mauslinie/ Behandlung	1/36	3.103	ns
Anzahl floating			
Mauslinie	1/36	0.524	ns
Behandlung	1/36	0.039	ns
Mauslinie/ Behandlung	1/36	5.934	0.01
Versuchsdurchgang	1/36	2.074	ns
Mauslinie/ Versuchsdurchgang	1/36	1.177	ns
Versuchsdurchgang / Behandlung	1/36	0.047	ns
Versuchsdurchgang/ Mauslinie/ Behandlung	1/36	1.448	ns
% Zeit floating			
Mauslinie	1/36	4.038	ns
Behandlung	1/36	0.791	ns
Mauslinie/ Behandlung	1/36	0.865	ns
Versuchsdurchgang	1/36	18.320	0.00
Mauslinie/ Versuchsdurchgang	1/36	0.098	ns
Versuchsdurchgang / Behandlung	1/36	0.699	ns
Versuchsdurchgang/ Mauslinie/ Behandlung	1/36	0.084	ns

Tabelle 5:

Versuch 2a: Initiale Charakterisierung und Konfirmation der EXR002-Alpha Mäuse
 Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung für die EXR002-Alpha Mäuse und den C3Hwt Mäuse im mHB:

Effekt	Testgröße	Freiheitsgrad	p-Level
Eintritte board			
Mauslinie	1/103	45.996	0.000
Versuchsdurchgang	1/103	3.003	0.08
Interaktion	1/103	2.433	0.12
Latenz board			
Mauslinie	1/103	37.242	0.000
Versuchsdurchgang	1/103	16.768	0.000
Interaktion	1/103	3.998	0.04
% Zeit board			
Mauslinie	1/103	2.014	0.15
Versuchsdurchgang	1/103	2.847	0.09

Anhang

Interaktion	1/103	0.339	0.52
Anzahl rear board			
Mauslinie	1/103	21.976	0.000
Versuchsdurchgang	1/103	4.849	0.02
Interaktion	1/103	5.603	0.01
Latenz rear board			
Mauslinie	1/103	135.834	0.000
Versuchsdurchgang	1/103	0.079	0.77
Interaktion	1/103	0.028	0.86
Anzahl stretched attends			
Mauslinie	1/103	15.149	0.000
Versuchsdurchgang	1/103	4.804	0.03
Interaktion	1/103	2.119	0.14
Anzahl explorierte Löcher			
Mauslinie	1/103	71.728	0.000
Versuchsdurchgang	1/103	1.167	0.28
Interaktion	1/103	3.649	0.058
Latenz Loch			
Mauslinie	1/103	27.358	0.000
Versuchsdurchgang	1/103	10.709	0.001
Interaktion	1/103	6.405	0.01
Anzahl rearings			
Mauslinie	1/103	156.868	0.000
Versuchsdurchgang	1/103	7.139	0.008
Interaktion	1/103	0.121	0.72
Latenz rearings			
Mauslinie	1/103	19.043	0.000
Versuchsdurchgang	1/103	3.788	0.05
Interaktion	1/103	0.516	0.47
Latenz Linienübertritt			
Mauslinie	1/103	2.125	0.14
Versuchsdurchgang	1/103	2.126	0.14
Interaktion	1/103	1.754	0.18
Anzahl Linienübertritte			
Mauslinie	1/103	29.758	0.000
Versuchsdurchgang	1/103	6.132	0.01
Interaktion	1/103	6.063	0.01
Anzahl unbekanntes Objekt			
Mauslinie	1/103	9.913	0.002
Versuchsdurchgang	1/103	0.805	0.37
Interaktion	1/103	2.079	0.15
Latenz unbekanntes Objekt			
Mauslinie	1/103	19.312	0.000
Versuchsdurchgang	1/103	13.167	0.000
Interaktion	1/103	8.112	0.005
% Zeit unbekanntes Objekt			
Mauslinie	1/103	0.095	0.75
Versuchsdurchgang	1/103	0.141	0.70
Interaktion	1/103	0.589	0.44

Anhang

Anzahl bekanntes Objekt			
Mauslinie	1/103	16.808	0.000
Versuchsdurchgang	1/103	0.983	0.32
Interaktion	1/103	2.174	0.14
Latenz bekanntes Objekt			
Mauslinie	1/103	30.850	0.000
Versuchsdurchgang	1/103	4.760	0.03
Interaktion	1/103	6.970	0.009
% Zeit bekanntes Objekt			
Mauslinie	1/103	5.490	0.02
Versuchsdurchgang	1/103	0.627	0.43
Interaktion	1/103	0548	0.46
Latenz grooming			
Mauslinie	1/103	16.636	0.000
Versuchsdurchgang	1/103	7.802	0.00
Interaktion	1/103	4.749	0.03
% Zeit Gruppe			
Mauslinie	1/103	3.670	0.058
Versuchsdurchgang	1/103	0.807	0.37
Interaktion	1/103	1.771	0.18
Latenz Gruppe			
Mauslinie	1/103	2.406	0.12
Versuchsdurchgang	1/103	1.338	0.24
Interaktion	1/103	0.000	0.98

Tabelle 6:

Versuch 2b: Elevated Plus-Maze

Ergebnisse der einfaktoriellen Varianzanalyse für alle Parameter des EPM für EXR002-Alpha und C3Hwt Mäuse.

Parameter	Freiheitsgrad (1/22)	p-Level
Anzahl <i>rearings</i>	36.874	0.000
Latenz <i>rearing</i>	12.313	0.001
Anzahl <i>head dips</i>	6.616	0.01
Latenz <i>head dip</i>	1.204	0.28
Anzahl Eintritte <i>offener Arm</i>	4.631	0.04
Latenz Eintritt <i>offener Arm</i>	0.012	0.91
% Zeit <i>offenen Arm</i>	1.801	0.19
Anzahl Eintritte <i>geschlossener Arm</i>	1.724	0.20
Latenz Eintritt <i>geschlossener Arm</i>	0.818	0.37
% Zeit <i>geschlossenem Arm</i>	1.273	0.27
Anzahl Eintritte <i>Plattform</i>	2.678	0.11
% Zeit <i>Plattform</i>	0.063	0.80
Anzahl Eintritte <i>Ende des offenen Armes</i>	0.959	0.33
Latenz Eintritt <i>Ende des offenen Armes</i>	1.183	0.28
Anzahl Eintritte <i>Ende des geschlossenen Armes</i>	3.385	0.07
Latenz Eintritt <i>Ende des geschlossenen Armes</i>	2.917	0.10
Anzahl der <i>risk assessments</i>	0.992	0.33

Anhang

Latenz <i>grooming</i>	0.005	0.94
% Zeit <i>grooming</i>	0.000	1.00
CORT Konzentration	0.017	0.89

Tabelle 7:

Versuch 2c: Forced swim Test nach Porsolt

Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung zwischen EXR002-Alpha und C3Hwt Mäuse:

Effekt	Testgröße	Freiheitsgrad	p-Level
Cort Konzentration			
Mauslinie	1/15	7.544	0.01
Versuchsdurchgang	1/15	35.869	0.00
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/15	1.753	0.20
Latenz <i>swimming</i>			
Mauslinie	1/15	0.561	0.46
Versuchsdurchgang	1/15	4.847	0.04
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/15	0.199	0.66
Anzahl <i>swimming</i>			
Mauslinie	1/15	0.819	0.37
Versuchsdurchgang	1/15	1.072	0.31
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/15	1.136	0.30
% Zeit <i>swimming</i>			
Mauslinie	1/15	6.513	0.02
Versuchsdurchgang	1/15	1.373	0.25
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/15	0.468	0.50
Latenz <i>struggle</i>			
Mauslinie	1/15	0.437	0.51
Versuchsdurchgang	1/15	2.297	0.15
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/15	0.009	0.92
Anzahl <i>struggle</i>			
Mauslinie	1/15	2.988	0.10
Versuchsdurchgang	1/15	1.761	0.20
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/15	1.761	0.20
% Zeit <i>struggle</i>			
Mauslinie	1/15	2.823	0.11
Versuchsdurchgang	1/15	3.449	0.08
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/15	0.887	0.36
Latenz <i>floating</i>			
Mauslinie	1/15	9.017	0.008
Versuchsdurchgang	1/15	0.790	0.38
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/15	0.004	0.94
Anzahl <i>floating</i>			
Mauslinie	1/15	5.804	0.02
Versuchsdurchgang	1/15	2.642	0.12
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/15	0.000	0.99

Anhang

% Zeit floating			
Mauslinie	1/15	14.666	0.001
Versuchsdurchgang	1/15	8.021	0.01
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/15	0.128	0.72

Tabelle 8:

Versuch 2d: mHB mit Paroxetin Behandlung

Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse für alle Parameter der Paroxetin- behandelten und Vehikel-behandelten EXR002-Alpha und C3Hwt Mäuse:

Effekt	Testgröße	Freiheitsgrad	p-Level
Eintritte board			
Mauslinie	1/30	0.345	0.56
Behandlung	1/30	0.028	0.86
Interaktion	1/39	7.016	0.01
Latenz board			
Mauslinie	1/30	0.323	0.57
Behandlung	1/30	0.213	0.64
Interaktion	1/39	5.708	0.02
% Zeit board			
Mauslinie	1/30	0.056	0.81
Behandlung	1/30	0.035	0.85
Interaktion	1/39	2.960	0.09
Anzahl rear board			
Mauslinie	1/30	2.061	0.16
Behandlung	1/30	0.847	0.36
Interaktion	1/39	0.847	0.36
Latenz rear board			
Mauslinie	1/30	2.116	0.15
Behandlung	1/30	0.783	0.38
Interaktion	1/39	0.783	0.38
Anzahl stretched attends			
Mauslinie	1/30	0.563	0.45
Behandlung	1/30	0.563	0.45
Interaktion	1/39	0.563	0.45
Anzahl explorierte Löcher			
Mauslinie	1/30	0.390	0.53
Behandlung	1/30	0.001	0.96
Interaktion	1/39	2.310	0.13
Latenz Loch			
Mauslinie	1/30	0.492	0.48
Behandlung	1/30	0.648	0.42
Interaktion	1/39	5.318	0.02
Anzahl rearings			
Mauslinie	1/30	42.742	0.000
Behandlung	1/30	0.1693	0.68

Anhang

Interaktion	1/39	0.344	0.56
Latenz rearings			
Mauslinie	1/30	15.266	0.000
Behandlung	1/30	0.898	0.35
Interaktion	1/39	0.030	0.86
Latenz Linienübertritt			
Mauslinie	1/30	0.947	0.33
Behandlung	1/30	3.683	0.06
Interaktion	1/39	0.529	0.47
Anzahl Linienübertritte			
Mauslinie	1/30	24.607	0.000
Behandlung	1/30	3.776	0.06
Interaktion	1/39	6.968	0.01
Anzahl unbekanntes Objekt			
Mauslinie	1/30	19.060	0.000
Behandlung	1/30	1.245	0.27
Interaktion	1/39	3.038	0.09
Latenz unbekanntes Objekt			
Mauslinie	1/30	17.448	0.000
Behandlung	1/30	2.732	0.10
Interaktion	1/39	1.011	0.32
% Zeit unbekanntes Objekt			
Mauslinie	1/30	11.019	0.002
Behandlung	1/30	0.177	0.67
Interaktion	1/39	1.468	0.23
Anzahl bekanntes Objekt			
Mauslinie	1/30	14.999	0.000
Behandlung	1/30	0.137	0.71
Interaktion	1/39	0.650	0.42
Latenz bekanntes Objekt			
Mauslinie	1/30	16.044	0.000
Behandlung	1/30	0.709	0.40
Interaktion	1/39	6.886	0.01
% Zeit bekanntes Objekt			
Mauslinie	1/30	18.028	0.000
Behandlung	1/30	0.253	0.61
Interaktion	1/39	3.671	0.06
Latenz grooming			
Mauslinie	1/30	17.559	0.000
Behandlung	1/30	18.757	0.000
Interaktion	1/39	3.217	0.08
Gewicht			
Mauslinie	1/30	12.614	0.000
Behandlung	1/30	10.714	0.002
Interaktion	1/39	1.821	0.18

Tabelle 9:

Versuch 2e: Initiale Charakterisierung und Konfirmation der EXR002 Hybrid Mäuse
Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung für die EXR002-Hybrid Mäuse und den C3HBL6wt-Hybrid Mäuse im mHB:

Effekt	Testgröße	Freiheitsgrad	p-Level
Eintritte board			
Mauslinie	1/63	8.774	0.004
Versuchsdurchgang	1/63	4.089	0.04
Interaktion	1/63	0.001	0.97
Latenz board			
Mauslinie	1/63	2.228	0.14
Versuchsdurchgang	1/63	19.598	0.000
Interaktion	1/63	0.476	0.49
% Zeit board			
Mauslinie	1/63	4.780	0.03
Versuchsdurchgang	1/63	2.322	0.12
Interaktion	1/63	1.646	0.20
Anzahl rear board			
Mauslinie	1/63	27.094	0.000
Versuchsdurchgang	1/63	5.732	0.01
Interaktion	1/63	3.549	0.06
Latenz rear board			
Mauslinie	1/63	39.880	0.000
Versuchsdurchgang	1/63	12.683	0.000
Interaktion	1/63	3.943	0.051
Anzahl explorierte Löcher			
Mauslinie	1/63	106.653	0.000
Versuchsdurchgang	1/63	1.049	0.30
Interaktion	1/63	0.037	0.84
Latenz Loch			
Mauslinie	1/63	11.283	0.001
Versuchsdurchgang	1/63	21.789	0.000
Interaktion	1/63	2.103	0.15
Anzahl rearings			
Mauslinie	1/63	82.0650	0.000
Versuchsdurchgang	1/63	0.640	0.42
Interaktion	1/63	1.838	0.18
Latenz rearings			
Mauslinie	1/63	15.222	0.000
Versuchsdurchgang	1/63	7.742	0.007
Interaktion	1/63	8.638	0.004
Latenz Linienübertritt			
Mauslinie	1/63	11.832	0.001
Versuchsdurchgang	1/63	7.387	0.008
Interaktion	1/63	5.796	0.01
Anzahl Linienübertritte			

Anhang

Mauslinie	1/63	0.086	0.76
Versuchsdurchgang	1/63	12.952	0.000
Interaktion	1/63	0.326	0.57
Anzahl unbekanntes Objekt			
Mauslinie	1/63	2.553	0.11
Versuchsdurchgang	1/63	0.178	0.67
Interaktion	1/63	0.239	0.62
Latenz unbekanntes Objekt			
Mauslinie	1/63	0.952	0.33
Versuchsdurchgang	1/63	1.894	0.16
Interaktion	1/63	2.796	0.09
% Zeit unbekanntes Objekt			
Mauslinie	1/63	6.160	0.01
Versuchsdurchgang	1/63	0.333	0.56
Interaktion	1/63	0.375	0.54
Anzahl bekanntes Objekt			
Mauslinie	1/63	5.193	0.02
Versuchsdurchgang	1/63	1.037	0.31
Interaktion	1/63	0.490	0.48
Latenz bekanntes Objekt			
Mauslinie	1/63	1.669	0.20
Versuchsdurchgang	1/63	18.865	0.000
Interaktion	1/63	4.346	0.04
% Zeit bekanntes Objekt			
Mauslinie	1/63	5.053	0.02
Versuchsdurchgang	1/63	0.890	0.34
Interaktion	1/63	0.515	0.47
Latenz grooming			
Mauslinie	1/63	0.729	0.39
Versuchsdurchgang	1/63	10.609	0.001
Interaktion	1/63	0.395	0.53
% Zeit Gruppe			
Mauslinie	1/63	8.786	0.004
Versuchsdurchgang	1/63	0.048	0.82
Interaktion	1/63	0.023	0.87
Latenz Gruppe			
Mauslinie	1/63	4.833	0.03
Versuchsdurchgang	1/63	5.653	0.02
Interaktion	1/63	0.070	0.79

Tabelle 10:

Versuch 2f: Elevated Plus-Maze

Ergebnisse der einfaktoriellen Varianzanalyse für alle Parameter des EPM für EXR002-Hybriden und C3H/BL6wt-Hybriden:

Anhang

Parameter	Freiheitsgrad (1/18)	p-Level
Anzahl <i>rearings</i>	15.219	0.001
Latenz <i>rearing</i>	8.153	0.01
Anzahl <i>head dips</i>	8.805	0.008
Anzahl Eintritte <i>offener Arm</i>	9.163	0.007
Latenz Eintritt <i>offener Arm</i>	0.615	0.44
% Zeit <i>offenen Arm</i>	2.143	0.16
Anzahl Eintritte <i>geschlossener Arm</i>	12.348	0.002
Latenz Eintritt <i>geschlossener Arm</i>	2.393	0.13
% Zeit <i>geschlossenem Arm</i>	2.602	0.12
Anzahl Eintritte <i>Plattform</i>	15.037	0.001
% Zeit <i>Plattform</i>	0.005	0.94
Anzahl Eintritte <i>Ende des offenen Armes</i>	0.015	0.90
Latenz Eintritt <i>Ende des offenen Armes</i>	0.667	0.42
Anzahl Eintritte <i>Ende des geschlossenen Armes</i>	10.094	0.005
Latenz Eintritt <i>Ende des geschlossenen Armes</i>	3.615	0.07
Anzahl <i>risk assessments</i>	0.095	0.76
Anzahl <i>grooming</i>	0.129	0.72
Latenz <i>grooming</i>	0.095	0.76
Defäkation	1.489	0.23

Tabelle 11:

Versuch 2g: Forced swim Test nach Porsolt

Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung aller Hauptfaktoren zwischen EXR002-Hybrid Weibchen und C3H/BL6wt-Hybrid Weibchen:

Effekt-Weibchen	Testgröße	Freiheitsgrad	p-Level
Latenz <i>swimming</i>			
Mauslinie	1/26	0.631	0.43
Versuchsdurchgang	1/26	0.700	0.41
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/26	0.983	0.33
Anzahl <i>swimming</i>			
Mauslinie	1/26	1.473	0.23
Versuchsdurchgang	1/26	2.401	0.13
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/26	1.303	0.26
% Zeit <i>swimming</i>			
Mauslinie	1/26	4.342	0.04
Versuchsdurchgang	1/26	4.422	0.04
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/26	0.622	0.43
Latenz <i>struggle</i>			
Mauslinie	1/26	0.821	0.37
Versuchsdurchgang	1/26	5.094	0.03
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/26	0.380	0.54
Anzahl <i>struggle</i>			
Mauslinie	1/26	3.401	0.07
Versuchsdurchgang	1/26	0.140	0.71
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/26	0.079	0.78

Anhang

% Zeit struggle			
Mauslinie	1/26	0.127	0.66
Versuchsdurchgang	1/26	25.817	0.000
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/26	2.639	0.11
Latenz floating			
Mauslinie	1/26	0.308	0.58
Versuchsdurchgang	1/26	67.468	0.000
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/26	0.014	0.90
Anzahl floating			
Mauslinie	1/26	0.122	0.72
Versuchsdurchgang	1/26	1.910	0.17
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/26	0.101	0.75
% Zeit floating			
Mauslinie	1/26	4.362	0.04
Versuchsdurchgang	1/26	23.597	0.000
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/26	2.584	0.11

Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung aller Hauptfaktoren zwischen EXR002-Hybrid Männchen und C3H/BL6wt-Hybrid Männchen:

Effekt Männchen	Testgröße	Freiheitsgrad	p-Level
Latenz swimming			
Mauslinie	1/10	0.542	0.47
Versuchsdurchgang	1/10	0.324	0.58
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/10	0.032	0.85
Anzahl swimming			
Mauslinie	1/10	3.050	0.11
Versuchsdurchgang	1/10	0.473	0.50
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/10	3.535	0.08
% Zeit swimming			
Mauslinie	1/10	5.044	0.04
Versuchsdurchgang	1/10	0.160	0.69
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/10	5.179	0.04
Latenz struggle			
Mauslinie	1/10	1.020	0.33
Versuchsdurchgang	1/10	2.169	0.17
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/10	0.429	0.52
Anzahl struggle			
Mauslinie	1/10	3.657	0.08
Versuchsdurchgang	1/10	3.990	0.07
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/10	0.197	0.66
% Zeit struggle			
Mauslinie	1/10	0.128	0.72
Versuchsdurchgang	1/10	16.257	0.002
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/10	0.435	0.52
Latenz floating			

Anhang

Mauslinie	1/10	1.041	0.33
Versuchsdurchgang	1/10	77.832	0.000
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/10	0.057	0.81
Anzahl floating			
Mauslinie	1/10	4.527	0.059
Versuchsdurchgang	1/10	1.451	0.25
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/10	5.130	0.04
% Zeit floating			
Mauslinie	1/10	3.293	0.09
Versuchsdurchgang	1/10	5.418	0.04
Versuchsdurchgang/ Mauslinie	1/10	4.544	0.058

Tabelle 12:

Versuch 11: mHB mit R121919 Behandlung

Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung der Mauslinien EXR002-Hybriden und C3H/BL6wt-Hybriden:

Effekt	Testgröße	Freiheitsgrad	p-Level
Eintritte board			
Mauslinie	1/12	7.100	0.02
Versuchsdurchgang	1/12	0.049	0.82
Interaktion	1/12	2.617	0.13
Latenz board			
Mauslinie	1/12	3.677	0.07
Versuchsdurchgang	1/12	9.862	0.008
Interaktion	1/12	14.785	0.002
% Zeit board			
Mauslinie	1/12	7.430	0.01
Versuchsdurchgang	1/12	0.045	0.83
Interaktion	1/12	0.271	0.61
Anzahl rear board			
Mauslinie	1/12	0.099	0.75
Versuchsdurchgang	1/12	0.842	0.37
Interaktion	1/12	0.134	0.71
Latenz rear board			
Mauslinie	1/12	0.039	0.84
Versuchsdurchgang	1/12	0.339	0.57
Interaktion	1/12	0.156	0.69
Anzahl explorierte Löcher			
Mauslinie	1/12	7.326	0.01
Versuchsdurchgang	1/12	1.128	0.30
Interaktion	1/12	0.417	0.53
Latenz Loch			
Mauslinie	1/12	12.178	0.004
Versuchsdurchgang	1/12	51.652	0.000
Interaktion	1/12	15.177	0.002

Anhang

Anzahl rearings			
Mauslinie	1/12	1.332	0.27
Versuchsdurchgang	1/12	3.207	0.09
Interaktion	1/12	1.561	0.23
Latenz rearings			
Mauslinie	1/12	3.412	0.08
Versuchsdurchgang	1/12	6.336	0.02
Interaktion	1/12	1.177	0.29
Latenz Linienübertritt			
Mauslinie	1/12	3.440	0.08
Versuchsdurchgang	1/12	1.488	0.24
Interaktion	1/12	2.577	0.13
Anzahl Linienübertritte			
Mauslinie	1/12	0.072	0.79
Versuchsdurchgang	1/12	1.074	0.32
Interaktion	1/12	0.090	0.76
Anzahl unbekanntes Objekt			
Mauslinie	1/12	8.237	0.01
Versuchsdurchgang	1/12	2.227	0.16
Interaktion	1/12	0.727	0.41
Latenz unbekanntes Objekt			
Mauslinie	1/12	0.715	0.41
Versuchsdurchgang	1/12	3.959	0.06
Interaktion	1/12	0.747	0.40
% Zeit unbekanntes Objekt			
Mauslinie	1/12	2.484	0.14
Versuchsdurchgang	1/12	4.439	0.05
Interaktion	1/12	0.675	0.42
Anzahl bekanntes Objekt			
Mauslinie	1/12	7.053	0.02
Versuchsdurchgang	1/12	0.007	0.93
Interaktion	1/12	1.771	0.20
Latenz bekanntes Objekt			
Mauslinie	1/12	1.466	0.24
Versuchsdurchgang	1/12	0.073	0.79
Interaktion	1/12	1.102	0.31
% Zeit bekanntes Objekt			
Mauslinie	1/12	0.647	0.43
Versuchsdurchgang	1/12	20.867	0.000
Interaktion	1/12	1.207	0.29
Latenz grooming			
Mauslinie	1/12	0.700	0.41
Versuchsdurchgang	1/12	0.128	0.72
Interaktion	1/12	0.070	0.79

7. LITERATURANGABEN

Alcaro A., Cabib S., Ventura R., Pugliesi-Allegra S. 2002. *Genotype- and experience-dependant susceptibility to depressive-like responses in the forced-swimming test*. *Psychopharmacology* 164: 138-143.

Almeida S. S., Garcia R. A., Cibien M. M. R., De Araújo M., Moreira G. M. S., De Oliveira L. M. 1994. *The ontogeny of exploratory behaviors in early malnourished rats exposed to elevated plus-maze test*. *Psychobiology* 22: 283-288.

Almeida S. S., Tonkiss J., Galler J. R. 1996. *Prenatal protein malnutrition behavior of female rats in elevated plus-maze*. *Physiology and Behavior* 60: 675-680.

Ammassari-Teule M., Fagioli S., Rossi-Arnaud C. 1994. *Radial maze performance and open-field behaviours in aged C57BL/6 mice: further evidence for preserved cognitive abilities during senescence*. *Physiology & Behavior* 55: 341-345.

Ammassari-Teule M., Hoffmann H.-J., Rossi-Arnaud C. 2003. *Learning in inbred mice: strain-specific abilities across three radial maze problems*. *Behavior Genetics* 23: 405-412.

Andreatini R. & Bacellar L. F. 1999. *The relationship between anxiety and depression in animal models: a study using the forced swimming test and elevated plus-maze*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 32 (9): 1121-1126.

Anisman H., Lacosta S., Kent P., McIntyre D. C., Merali Z. 1998. *Stressor-induced corticotropin-releasing hormone, bombesin, ACTH and corticosterone variations in strains of mice differentially responsive to stressors*. *Stress* 2 (3): 209-220.

APA. 1998. *Teen suicide*. Public Information. American Psychiatric Association, USA

Arai I., Tsuyuki Y., Shiimoto H., Satoh M., Otomo S. 2000. *Decreased body temperature dependant appearance of behavioral despair in the forced swimming test in mice*. *Pharmacological Research* 42: 171-176.

Archer I. 1973. *Tests for emotionality in rats and mice: a review*. *Animal Behavior* 21: 205-235.

- Augustsson H. & Meyerson B. J. 2004. *Exploration and risk assessment: a comparative study of male house mice (*mus musculus musculus*) and two laboratory strains*. *Physiology & Behavior* 81: 685-698.
- Avgustinovich D. F., Lipina T. V., Bondar N. P., Alekseyenko O. V., Kudryavtseva N. N. 2000. *Features of the genetically defined anxiety in mice*. *Behavior Genetics* 30 (2): 101-109.
- Balling R. 2001. *ENU mutagenesis: Analyzing gene function in mice*. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 2: 463-492.
- Barnett S. A. & Cowan P. E. 1976. *Activity, exploration, curiosity and fear: An ethological study*. *Interdisciplinary Science Reviews* 1 (1): 43-62.
- Bartolini L., Casamenti F., Pepeu G. 1996. *Aniracetam Restores Object Recognition Impaired by Age, Scopolamine, and Nucleus Basalis Lesions*. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 53: 277-283.
- Becker E. S. & Rinck M. 2000. *Aufmerksamkeit und Gedächtnis bei Angst und Depression*. *Psychologische Rundschau* 51 (2): 67-74.
- Belzung A. & Beuzen A. 1995. *Link between emotional memory and anxiety states: a study by principal component analysis*. *Physiology & Behaviour* 58: 111-118.
- Belzung C. & Griebel G. 2001. *Measuring normal and pathological anxiety-like behavior in mice: a review*. *Behavioral Brain Research* 125: 141-149.
- Belzung C., Berton F. 1997. *Further pharmacological validation of the BALB/c neophobia in the free exploratory paradigm as an animal model of anxiety*. *Behavioral Pharmacology* 8: 541-584.
- Berlyne D.E. 1950. *Novelty and curiosity as determinants of exploratory behaviour*. *British Journal of Psychology* 41: 68-80.
- Bertoglio L. J. & Carobrez A. P. 2004. *Scopolamine given pre-trial 1 prevents the one-trial tolerance phenomenon in the elevated plus-maze trial 2*. *Behavioral Pharmacology* 15 (1): 45-54.
- Beuzen A. & Belzung C. 1995. *Link between emotional memory and anxiety states: a study by principal component analysis*. *Physiology & Behavior* 58: 111-118.

- Binder E. 2004. *Charakterisierung und Validierung von ENU-Mausvarianten mit beeinträchtiger Fähigkeit zur Objekterkennung*. Dissertation, Fakultät für Biologie, LMU München.
- Blanchard D. C. Griebel G., Blanchard R. J. 2001. *Mouse defensive behavior: pharmacological and behavioral assay for anxiety and panic*. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 25: 783-789.
- Bolivar V. J., Caldarone B. J., Reilly A. A., Flaherty L. 2000. *Habituation of activity in an open field: A survey of inbred strains and F₁ hybrids*. *Behavior Genetics* 30 (4): 285-293.
- Bond N. W. 1988. *Ontogeny of activity in inbred and random-bred strains of mice: Effects of Scopolamine*. *Behavioral Neuroscience* 102: 887-893.
- Borsini F. & Meli A. 1988. *Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity?* *Psychopharmacology* 94: 147-160.
- Borsini F., Volterra G., Meli A. 1986. *Does the behavioral "despair" test measure "despair"?* *Physiology & Behavior* 38 (3): 385-386.
- Bovet-Nitti F. 1969. *Facilitation of simultaneous visual discrimination by nicotine in four „inbred“ strains of mice*. *Psychopharmacologia* 14: 193-199.
- Boyle P. M., Brewer J. A., Funatsu M., Wozniak D. F., Tsien J. Z., Izumi Y., Muglia L. J. 2005. *Acquired deficit of forebrain glucocorticoid receptor produces depression-like changes in adrenal axis regulation and behavior*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 102 (2): 473-478.
- Bratt A. M., Kelly M. E., Domeney A. M., Naylor R. J., Costall B. 1996. *Acute and chronic acecoline: Effects on a scopolamine-induced deficit in complex maze learning*. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 53 (3): 713-721.
- Brown M. W., Aggleton J. P. 2001. *Recognition memory: What are the roles of the perirhinal cortex and hippocampus?* *Nature Reviews Neuroscience* 2: 51-61.
- Brown S. D. & Hardisty R. E. 2003. *Mutagenesis strategies for identifying novel loci associated with disease phenotypes*. *Seminal Cell & Developmental Biology* 14 (1): 19-24.
- Bushnell P. J. 1987. *Effects of Scopolamine on locomotor activity and metabolic rate in mice*. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 26 (1): 195-198.

Bussey T. J., Saksida L. M., Murray E. A. 2003. *Impairments in visual discrimination after perirhinal cortex lesions: testing "declarative" vs. "perceptual-mnemonic" views of perirhinal cortex function.* European Journal of Neuroscience 17: 649-660.

Cabib S., Algeri S., Perego C., Pugliesi-Allegra S. 1990. *Behavioral and biochemical changes monitored in two inbred strains of mice during exploration of an unfamiliar environment.* Physiology and Behavior 47 (4): 749-753.

Calatayud F., Belzung C. 2001. *Emotional reactivity in mice, a case of nongenetic heredity?* Physiology and Behavior 74: 355-362.

Chen B., Dowlatsahi D., MacQueen G. M., Wang J. F., Young L. T. 2001. *Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication.* Biological Psychiatry 50: 260-265.

Choleris E., Thomas A W., Kavaliers M., Prato F. S. 2001. *A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field.* Neuroscience & Biobehavioral Reviews 25: 235-260.

Christensen H. D., Rayburn W. F., Gonzalez C. L. 2000. *Chronic prenatal exposure to Paroxetine (Paxil) and cognitive development of mice offspring.* Neurotoxicology and Teratology 22: 733-739.

Crabbe J. C., Wahlsten D., Dudek B. C. 1999. *Genetics of mouse behavior: Interactions with laboratory environment.* Science 284: 1670-1672.

Crawley J.N. 1981. *Neuropharmacological specificity of a simple animal model for the behavioural actions of benzodiazepines.* Pharmacology, Biochemistry & Behavior 15: 695-699.

Crawley J.N. 2000. *What's Wrong With My Mouse? Behavioral Phenotyping of Transgenic and Knockout Mice.* Wiley, New York.

Crawley J.N., Belknap J.K., Collins, A., Crabbe J.C., Frenel W., Henderson N., Hitzemann R.J., Maxson S.C., Miner L.J., Silva A.J., Wehner J.M., Wynshaw-Boris A., Paylor R., 1997. *Behavioral phenotypes of inbred mouse strains: implications and recommendations for molecular studies.* Psychopharmacology 132: 107-124.

Crawley N. C. 1985. *Exploratory behavior models of anxiety in mice*. Neuroscience & Biobehavioral Reviews 9: 37-44.

Crawley L. N. & Goodwin F. K. 1980. *Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines*. Pharmacology, Biochemistry and Behavior 13: 167-170.

Crusio W. E. 2001. *Genetic dissection of mouse exploratory behaviour*. Behavioral Brain Research 125: 127-132.

Crusio W. E., Schwegler H., Brust I., Van Abeelen J. H. 1989. *Genetic selection for novelty-induced rearing behavior in mice produces changes in hippocampal mossy fiber distributions*. Journal of Neurogenetics 5 (1): 87-93.

Cryan J. F., Mombereau C. 2004. *In search of the depressed mouse: utility of models for studying depressed related behavior in genetically modified mice*. Molecular Psychiatry 9 (4): 326-357.

Dalvi A, & Lucki I. 1999 *Murine models of depression*. Psychopharmacology 147: 14-16.

David D. J. P., Nic Dhonnchadha B. A., Jolliet P., Hascoet M., Bourin M. 2001. *Are there gender differences in the temperature profile of mice after acute antidepressant administration and exposure to two animal models of depression?* Behavioral Brain Research 119: 203-211.

David D. J., Renard C. E., Jolliet P., Hascoet M., Bourin M. 2003. *Antidepressant-like effects in various mice strains in the forced swimming test*. Psychopharmacology 166: 373-382.

De Pablo J. M., Parra A., Segovia S., Guillamon A. 1989. *Learned immobility explains the behavior of rats in the forced swimming test*. Physiology & Behavior 46 (2): 229-237.

De Souza B. E. 1995. *Corticotropin-releasing factor receptors : physiology, pharmacology, biochemistry and role in the nervous system and immune disorders*. Psychoneuroendocrinology 20: 789-819.

De-Mello N. & Carobrez A. P. 2002. *Elevated plus-maze as an animal model of memory: effects of scopolamine*. Behavioral Pharmacology 13 (2): 139-148.

Department of Health. 1999. *National suicide prevention strategy for England*. London: Department of Health.

Dodart J. C., Mathis C., Ungerer A. 1997. *Scopolamine-induced deficits in a two-trial object recognition task in mice*. Neuroreport 8 (5): 1173-1178.

DSM-IV: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM, Hrsg. American Psychiatric Association).

Ducottett C. & Belzung C. 2005. *Correlations between behaviors in the elevated plus-maze and sensitivity to unpredictable subchronic mild stress: evidence from inbred strains of mice*. Behavioral Brain research 156: 153-162.

Dulawa S. C., Holick K. A., Gundersen B., Hen R. 2004. *Effects of chronic fluoxetine in animal model of anxiety and depression*. Neuropsychopharmacology 29 (7): 1321-1330.

Edsbagge J., Zhu S., Xiao M.-Y., Wigström H., Mohammed A. H., Semb H. 2004. *Expression of dominant negative cadherin in the adult mouse brain modifies rearing behavior*. Molecular and Cellular Neuroscience 25: 524-535.

Ennaceur A., Delacour J. 1988. *A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. I: Behavioral studies*. Behavioural Brain Research 31: 47-59.

Eyseneck M.W. 1992. *Anxiety: The Cognitive Perspective*. Essays in Cognitive Psychology Series. Ed.: Henry L. Roediger, III. Lawrence Erlbaum Ass. Ltd. East Sussex, U.K.

Ferre P., Fernandez-Teruel A., Escorihuela R. M., Driscoll P., Garcia E., Zapata A., Tabena A. 1994. *Struggling and flumazenil effects in the swimming test are related to the level of anxiety in mice*. Neuropsychobiology 29: 23-27.

File S. 2001. *Factors controlling measures of anxiety and responses to novelty in the mouse*. Behavioral Brain Research 125: 151-157.

File S. E. & Wardill A. G. 1975. *Validity of head-dipping as a measure of exploration in a modified hole-board*. Psychopharmacology 44: 53-59.

Flint J., Corley R., De Fries J. C., Fulker D. W., Gray J. A., Miller S., Collins A. C. 1995. *A simple genetic basis for a complex psychological trait in laboratory mice*. Science 269: 1432-1435.

Fuchs E., Wasmuth J. C., Flugge G., Huether G., Troost R., Beyer. 1996. *Diurnal variation of corticotropin-releasing factor binding sites in the rat brain and pituitary*. Cell and Molecular Neurobiology 1996 16 (1): 21-37.

Giardino L., Puglisi-Allegra S., Beccatelli S. 1996. *CRH-R1 mRNA expression in two strains of inbred mice and its regulation after repeated restrain stress*. Molecular Brain Research 40: 310-314.

Gilles G. E., Linton E. A., Lowry P. J. 1982. *Corticotropin releasing activity of the new CRF is potentiated several times by Vasopressin*. Nature 299: 355-357.

Griebel G. 1995. *5-hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research*. Pharmacological Theory 65: 319-395.

Griebel G., Moreau J.-L., Jenck F., Martin J. R., Misslin R. 1993. *Some critical determinants of the behavior of rats in the elevated plus-maze*. Behavioral Processes 29: 37-48.

Harro J. 2004. *Animal models for better antidepressants: can pathogenic approaches make a difference?* Preclinica 2 (6): 402-407.

Heise G. A. 1984. Behavioral methods for measuring effects of drugs on learning and memory in animals. Medical Research Reviews 4 (4): 535-58.

Hilakivi L. A. & Lister R. G. 1990. *Correlations between behavior of mice in Porsolt's swim test and in tests of anxiety, locomotion, and exploration*. Behavioral & Neural Biology 53 (2): 153-159.

Hlinak Z. & Krejci I. 2003. *Oxiracetam prevented the scopolamine but not the diazepam induced memory deficits in mice*. Behavioral Brain Research 133: 395-399.

Hogg S. 1996. *A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety*. Pharmacology, Biochemistry and Behavior 54 (1): 21-30.

Holesboer F. 1999. *The rationale for corticotropin-releasing hormone receptor (CRH-R) antagonists to treat depression and anxiety*. Journal of Psychiatric Research 33: 181-214.

Holmes P. V. 2003. *Rodent models of depression: re-examining validity without anthropomorphic inference*. Critical Reviews in Neurobiology 15: 143-174.

Holsboer F. 1997. *Transgenic mouse models: new tools for psychiatric research*. *Neuroscientist* 3: 328-336.

Holsboer F. 1999. *Stress-Angst-Depression: Die neue Psychopharmakologie*. Max Planck Research HV 99: 40-53.

Hrabe de Angelis M., Flaswinkel H., Fuchs H., Rathkolb B., Soewarto D., Marschall S., Heffner S., Pargent W., Wuensch K., Jung M., Reis A., Richter T., Alessandrini F., Jakob T., Fuchs E., Kolb H., Kremmer E., Schaeble K., Rollinski B., Roscher A., Peters C., Meitinger T., Strom T., Steckler T., Holsboer F., Klopstock T., Gekeler F., Schindewolf C., Jung T., Avraham K., Behrendt H., Ring J., Zimmer A., Schughart K., Pfeffer K., Wolf E., Balling R. 2000. *Genome-wide, large-scale production of mutant mice by ENU mutagenesis*. *Nature Genetics* 25: 444-447.

Hughes R. N. 1997. *Intrinsic exploration in animals: motives and measurement*. *Behavioral Processes* 41: 213-226.

Humby T., Laird F. M., Davies W., Wilkinson L. S. 1999. *Videospatial attentional functioning in mice: interactions between cholinergic manipulations and genotype*. *European Journal of Neuroscience* 11 (8): 2813-2823.

Hyman S. E. 1999. *Introduction to the complex genetics of mental disorders*. *Biological Psychiatry* 45: 518-521.

Itho J., Nabeshima T., Kameyama T. 1991. *Utility of an elevated plus-maze for dissociation of amnesic and behavioural effects of drugs in mice*. *European Journal of Pharmacology* 194 (1): 71-76.

Kalueff A. V. & Tuohimaa P. 2004. *Experimental modeling of anxiety and depression*. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 64: 439-448.

Kazlauskas V., Schuh J., Dall'Igna O. P., Pereira G. S., Bonan C. D., Lara D. R. 2005. *Behavioral and cognitive profile of mice with high and low exploratory phenotypes*. *Behavioral Brain Research* 162 (2): 272-278.

Keck M. E., Sartori S. B., Welt T., Müller M. B., Ohl F., Holsboer F., Landgraf R., Singewald N. 2005. *Differences in serotonergic neurotransmission between rats displaying high or low anxiety/depression-like behaviour: effects of chronic paroxetine treatment*. *Journal of Neurochemistry* 92 (5): 1170-1179.

Keck M.E., Welt T., Wigger A., Renner U., Engelmann M., Holsboer F., Landgraf R. 2001. *The anxiolytic effect of the CRH1 receptor antagonist R121919 depends on innate emotionality in rats.* European Journal of Neuroscience 13: 373-380.

Kendler K. S. 2002. *Psychiatric genetics: an intellectual journey.* Clinical Neuroscience Research 2: 110-119.

Kopp C., Vogel E., Rettori M.C., Delagrang P., Misslin R. 1999. *The effects of melatonin on the behavioral disturbances induced by chronic mild stress in C3H/He mice.* Behavioral Pharmacology 10: 73-83.

Kopp C., Vogel E., Rettori M.C., Delagrang P., Misslin R. 2000. *Reentrainment of the spontaneous locomotor activity rhythm to a daylight reversal in C57BL/6 and C3H/He mice: Implication of melatonin.* Physiology & Behavior 70: 171-176.

Korte S. M. & De Boer S. F. 2003. *A robust animal model of state anxiety: fear-potentiated behaviour in the elevated plus-maze.* European Journal of Pharmacology 463: 163-175.

Korte S. M. 2001. *Corticosteroids in relation to fear, anxiety and psychopathology.* Neuroscience and Biobehavioral Reviews 25: 117-142.

Landgrebe J., Welzl G., Metz T., van Gaalen M. M., Ropers H., Wurst W., Holsboer F. 2002. *Molecular characterisation of antidepressant effects in the mouse brain using gene expression profiling.* Journal of Psychiatric Research 36: 119-129.

Landgrebe J., Welzl G., Metz T., van Gaalen M. M., Ropers H., Wurst W., Holsboer F. 2002. *Molecular characterisation of antidepressant effects in the mouse brain using gene expression profiling.* Journal of Psychiatric Research 36: 119-129.

Lavi-Avnon Y., Yadid G., Overstreet D. H., Weller A. 2005. *Abnormal patterns of maternal behavior in a genetic animal model of depression.* Physiology & Behavior 84: 607-615.

Lister R. G. 1990. *Ethologically based animal models of anxiety disorders.* Pharmacology and Therapeutics 46: 321-340

Lister R.G., 1987. *The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse.* Psychopharmacology 92: 180-185.

- Lucki I., Dallvi A., Mayorga A. 2001. *Sensitivity to the effects of pharmacologically selective antidepressants in different strains of mice*. *Psychopharmacology* 155: 315-322.
- Malakoff D. 2000. *The rise of the mouse, biomedicine's model mammal*. *Science* 288: 248-253.
- McNaughton N. 1997. *Cognitive dysfunction resulting from hippocampal hyperactivity a possible cause of anxiety disorder?* *Pharmacology, Biochemistry & Behaviour* 56: 630-611.
- Misslin R. & Ropartz P. 1981. *Responses in mice to a novel object*. *Behaviour* 78: 169-177.
- Montkowski A., Barden N., Wotjak C., Stec I., Ganster J., Meaney M., Engelmann M., Reul J. M. H. M. Landgraf R., Holsboer F. 1995. *Long-term antidepressant treatment reduces behavioral deficits in transgenic mice with impaired glucocorticoid receptor function*. *Journal of Neuroendocrinology* 7: 841-845.
- Müller M. B & Keck M. E. 2002. *Genetically engineered mice for studies of stress-related clinical conditions*. *Journal of Psychiatric Research* 36 (2): 53-76.
- Muller U., Cristina N., Li Z. W., Wolfer D. P., Lipp H. P., Rulicke T., Brandner S., Aguzzi A., Weissmann C. 1994. *Behavioral and anatomical deficits in mice homozygous for a modified beta-amyloid precursor protein gene*. *Cell* 79: 755-765.
- Mumby D. G., Glenn M. J., Nesbitt C., Kyriazis D. A. 2002. *Dissociation in retrograde memory for object discriminations and object recognition in rats with perirhinal cortex damage*. *Behavioral Brain Research* 132: 215-226.
- Naveen K. & Kohli K. 2003. *Effect of metoclopramide on Scopolamine-induced working memory impairment in rats*. *Indian Journal of Pharmacology* 35: 104-108.
- Nesse R. M. 1999. *Proximate and evolutionary studies of anxiety, stress and depression: synergy at the interface*. *Neuroscience and Behavioral Reviews* 23: 895-903.
- Nestler E. J., Barrot M., DiLeone R. J., Eisch A. J., Gold S. J., Monteggia L. M. 2002. *Neurobiology of depression*. *Neuron* 34: 13-25.

Nibuya N., Nestler E. J., Duman R. S. 1996. *Chronic antidepressant administration increases the expression of cAMP response element binding protein (CREB) in rat hippocampus*. Journal of Neuroscience 16: 2365-2372.

Nikulina E. M., Skrinskaya J. A., Popova N. K. 1991. *Role of genotype and dopamine receptors in behavior of inbred mice in a forced swimming test*. Psychopharmacology 105: 525-529.

Nolan P.M., Peters J., Strivens M., Rogers D., Hagan J., Spur N., Gray I. C., Vizer L., Brooker D., Whitehill E., Washbourne R., Hough T., Greenaway S., Hewitt M., Lui X., McCormack S., Pickford K., Selley R., Wells C., Tymowska-Lalanne Z., Roby P., Glenister P., Thronton C., Thaug C., Stevenson J.-A., Arkell R., Mburu P., Hardisty R., Kiernan A., Erven A., Steel K. P., Voegelings S., Guenet J.-L., Nickols C., Sadri R., Naase M., Isaacs A., Davies K., Browne M., Fisher E. M. C., Martin J., Rastan S., Brown S. D. M., Hunter J. 2000. *A systematic, genome-wide, phenotype-driven mutagenesis programme for gene function studies in the mouse*. Nature Genetics 25: 440-443.

O'Keefe J., Nadel L. 1978. *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford : Clarendon Press, 570pp.

Ohl F. & Fuchs E. 1999. *Differential effects of chronic stress on memory processes in the tree shrew*. Cognitive Brain Research 7: 379-387.

Ohl F., Holsboer F. Landgraf R. 2001. *The modified holeboard as differential screen for behavior in rodents*. Behavioral Research in Methods, Instruments, & Computers 33 (3): 392-397.

Ohl F., Keck M. E. 2003. *Behavioral screening in ENU-mutant mice- in search for novel animal models of psychiatric disorders*. European Journal of Pharmacology 480: 219-228.

Ohl F., Oitzl M.S., Fuchs, E. 1998. *Assessing cognitive functions in tree shrews: visio-spatial and spatial testing in the home cage*. Journal of Neuroscience Methods 81: 5-40.

Ohl F., Rödel A., Binder E., Holsboer F. 2003. *Impact of high and low anxiety and cognitive performance in a modified hole board test in C57BL/6 and DBA/2 mice*. European Journal of Neuroscience 17: 128-136.

Ohl F., Sillaber I., Binder E., Keck M.E., Holsboer F. 2001a. *Differential analysis of behavior and diazepam-induced alterations in C57BL/6N und BALB/c mice using the modified hole board test*. Journal of Psychiatric Research 35: 147-154.

Ohl F., Toschi N., Wigger A., Henninger M.S.H., Landgraf R. 2001b. *Dimensions of emotionality in a rat model of innate anxiety*. Behavioral Neuroscience 115: 429-436.

Oitzl M. S., Mulder M., Lucassen P. J. 1997 *Severe learning deficits in apolipoprotein E-knockout mice in a water maze task*. Brain Research 752: 189-196.

Okaichi H., Oshima Y., Jarrad L. E. 1989. *Scopolamine impairs both working and reference memory in rats: A replication and extension*. Pharmacology, Biochemistry & Behavior 34: 599-602.

Owen M. J. Cardno A. G., Donovan M. C. 2000. *Psychiatric genetics: back to the future*. Molecular Psychiatry 5: 22-31.

Passino E., Ammassari-Teule M. 1999. *Visual discrimination in inbred mice: strain-specific involvement of hippocampal regions*. Physiology & Behavior 67 (3): 393-399.

Paterniti S., Dufouil C., Bisslerbe J.-C., Alépovitch A. 1999. *Anxiety, depression, psychotropic drug use and cognitive impairment*. Psychological Medicine 29: 421-428.

Paxinos G. T. & Franklin K. B. 2000. *Mouse brain in stereotaxic coordinates*. Morgan Kaufmann, San Francisco.

Pellow S., Chopin P., File S. E., Briley M. 1985. *Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat*. Journal of Neuroscience & Methods 14: 149-167.

Petit-Demouliere B., Chenu F., Bourin M. 2005. *Forced swimming Test in mice: a review of antidepressant activity*. Psychopharmacology 177: 245-255.

Picciotto M. R., Zoli M., Changeux J. P. 1999. *Use of knock-out mice to determine the molecular basis for the actions of nicotine*. Nicotine Tob Research. 1 Suppl 2: 121-125.

Podhorna J., Brown R. E. 2002. *Strain differences in activity and emotionality do not account for differences in learning and memory performance between C57BL/6 and DBA/2 mice*. Genes, Brain and Behavior 1 (2): 96-110.

Porsolt R. D., LePichon M., Jalfre M. 1977. *Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments*. Nature 266: 730-732.

Post A., Ohl F., Almeida O. F., Binder E. B., Rucker M., Welt S., Binder E., Holsboer F., Sillaber I. 2005. *Identification of molecules potentially involved in mediating the in vivo actions of the corticotropin-releasing hormone receptor 1 antagonist, NBI30775 (R121919)*. Psychopharmacology. In print

Powell S. B. & Geyer M. A. 2002. *Developmental markers of psychiatric disorder as identified by sensorimotor gating*. Neurotoxic Research 4 (5-6): 489-502.

Powell S. B., Geyer M. A., Gallager D., Paulus M. P. 2004. *The balance between approach and avoidance behaviors in a novel object exploration paradigm in mice*. Behavioral Brain Research 152: 341-349.

Powell S. B., Paulus M. P., Hartman D. S., Godel T., Geyer M. A. 2003. *RO-10-5824 is a selective dopamine D4 receptor agonist that increases novel object exploration in C57 mice*. Neuropharmacology 44: 473-481.

Powell S. B., Swerdlow N. R., Pitcher L. K., Geyer M. A. 2001. *Isolation rearing-induced deficits in prepulse inhibition and locomotor habituation are not potentiated by water deprivation*. Physiology and Behavior 77(1): 55-64.

Prilipp A. 2001. *When the soul cries out-the doctor has to help*. Max Planck Research 2: 70-73.

Rivier C. & Vale W. 1983. *Modulation of stress induced ACTH release by corticotropin-releasing factor, catecholamines and vasopressin*. Nature 305: 325-327.

Rivier C. & Vale W. 1983b. *Interaction of corticotropin-releasing factor and arginine Vasopressin on adrenocorticotropin secretion in vivo*. Endocrinology 113: 939-942.

Rödel A. 2002. *Verhaltensbiologische Korrelate kognitiver Leistungen bei ängstlichen und nicht-ängstlichen Mäusen*. Diplomarbeit an der LMU München.

Rodgers R. J. & Cole J. C. 1993. *Anxiety enhancement in the murine elevated plus-maze by immediate prior exposure to social stressors*. Physiology and Behavior 53: 383-388.

Rodgers R. J. & Cole J. C. 1993b. *Influence of social isolation, gender, strain, and prior novelty on plus-maze behavior in mice*. Physiology and Behavior 54: 729-736.

Rodgers R. J. & Cole J. C. 1995. Effects of Scopolamine and its quaternary analogue in the murine elevated plus-maze test of anxiety. *Behavioral Pharmacology* 6 (3): 283-289.

Rodgers R. J. & Dalvi A. 1997. *Anxiety, defence and the elevated plus-maze*. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 21: 801-810.

Rodgers R. J. 1997. *Animal models of 'anxiety': where next?* *Behavioral Pharmacology* 8 (6-7): 477-496.

Rodgers R. J., Cole J. C., Cobain M. R., Daly P., Doran P. J., Eells J. R., Wallis P. 1992. *Anxiogenic-like effects of fluprazine and eltoprazine in the mouse elevated plus-maze: profile comparison with 8-OH-DPAT, TFMPP and mCPP*. *Behavioral Pharmacology* 3: 621-624.

Rodgers R. J., Haller J., Holmes A., Halasz J., Walton T. J., Brain P. F. 1999. *Corticosterone response to the plus-maze: High correlation with risk assessment in rats and mice*. *Physiology and Behavior* 68 (1-2): 47-53.

Rodgers R.J. & Johnson N.J.T. 1996. *Neuroactive steroid influences on anxiety*. *Behavioural Pharmacology* 7 (Suppl 1): 96.

Rodgers R.J., Cao B. J. Dalvi A., Holmes A. 1997. *Animal models of anxiety: an ethological perspective*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 30: 289-304.

Rosen J. B. & Schulkin J. 1998. *From normal fear to pathological anxiety*. *Psychological Reviews* 105 (2): 325-50

Ryabinin A. E., Miller M. N., Durrant S. 2002. *Effects of acute alcohol administration on object recognition learning in C57BL/6J mice*. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 71: 307-312.

Salimov R. M., Markina N. V., Perepelkina O. V., Poletaeva I. I. 2004. *Exploratory behavior of F2 crosses of mouse lines selected for different brain weight: a multivariate analysis*. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 28: 583-589.

Salome N., Vilart O., Darnaudery M., Salchner P., Singewald N., Landgraf R., Sequeira H., Wigger A. 2002. *Reliability of high and low anxiety-related behavior: Influence of laboratory environment and multifactorial analysis*. *Behavioral Brain Research* 136: 227-237.

Sargolini F., Roullet P., Oliverio A., Mele A. 2002. *Effects of intra-accumbens focal administrations of glutamate antagonists on object recognition memory in mice*. Behavioural Brain Research 00: 1-11.

Sawchenko P. E. & Swanson L. W. 1985. *Localization, colocalization, and plasticity of corticotropin-releasing factor immunoreactivity in rat brain*. Federation Proceedings 44: 221-227.

Schmidt M., Oitzl M. S., Seymour L., de Kloet R. 2002. The HPA system during the postnatal development of CD1 mice and the effects of maternal deprivation. Developmental Brain Research 139 1: 39-49.

Sewards T. V. & Sewards M. A. 2002. *Innate visual object recognition in vertebrates: some proposed pathways and mechanisms*. Comparative Biochemical, Physiological and Molecular Integrational Physiology 132 (4): 861-91.

Sherman S. J., Atri A., Hasselmo M. E., Stern C. E. 2003. *Scopolamin impairs human recognition memory: Data and modelling*. Behavioral Neuroscience 117 (3): 526-539.

Skolnick R. & Trullas P. 1993. *Differences in fear motivated behaviors among inbred mouse strains*. Psychopharmacology 111 (3): 323-331.

Spreng M., Cotecchia S., Schenk F. 2001. *A behavioral study of alpha-1b adrenergic receptor knockout mice: Increased reaction to novelty and selectively reduced learning capacities*. Neurobiology of Learning and Memory 75: 214-229.

Squire L. R., Davis H. P. 1981. *The pharmacology of memory: a neurobiological perspective*. Annual Review of Pharmacology and Toxicology 21: 323-356.

Squire L. R., Spanis C. W. 1994. *Long gradient of retrograde amnesia in mice: continuity with the findings in humans*. Behavioral Neuroscience 9 (2): 345-348.

Steckler T., Rammes G., Sauvage M., van Gaalen M. M., Weis C., Zieglänsberger W., Holsboer F. 2001. *Effects of the monoamine oxidase A inhibitor moclobemide on hippocampal plasticity in GR-impaired transgenic mice*. Journal of Psychiatric Research 35: 29-42.

Strekalova T., Spanagel R., Bartsch D., Henn F. A. 2004. *Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and Exploration*. Neuropsychopharmacology 29: 2007-2017.

Swanson L. W. & Petrovich G. D., 1998. *What is the amygdala?* Trends in Neuroscience 21 (8): 323-331.

Takeda H., Tsuji M., Matsumiya T. 1998. *Changes in head-dipping behavior in the hole-board test reflect the anxiogenic and/or anxiolytic state in mice.* European Journal of Pharmacology 350: 21-29.

Tejani-Butt S., Kluczynski J., Pare' W. P. 2003. *Strain-dependent modification of behavior following antidepressant treatment.* Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry 27: 7-14.

Telner J. I. & Singhal R. L. 1984. Psychiatric progress. *The learned helplessness model of depression.* Journal of Psychiatric Research 18 (3): 207-213.

Thiel C. M. Müller C. P. Huston J. P., Schwarting R. K. W. 1999. *High versus low reactivity to a novel environment: Behavioral, pharmacological and neurochemical assessments.* Neuroscience 93 (1): 243-251.

Thinus-Blanc C., Save E., Rossi-Arnaud C., Tozzi A., Ammassari-Teule M. 1996. *The differences shown by C57BL/6 and DBA/2 inbred mice in detecting spatial novelty are subserved by a different hippocampal and parietal cortex interplay.* Behavioral Brain Research 80: (1-2): 33-40.

Tomkins D. M., Costall B., Naylor R. J. 1990. *Action of ritanserin and DOI on the elevated plus-maze.* Psychopharmacology (Berlin) Suppl. 101: 219.

Trullas R. & Skolnick P. 1993. *Differences in fear motivated behaviors among inbred mouse strains.* Psychopharmacology 111: 323-331.

Trullas R., Jackson B., Skolnick P. 1989. *Genetic differences in a tail suspension test for evaluating antidepressant activity.* Psychopharmacology (Berl.) 99 (2): 287-288.

Vale W., Spiess J. Rivier C., Rivier J. 1981. *Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin.* Science 213: 1394-1397.

Van Abeelen J. & Gerads H. J. 1986. *Role of hippocampal Met-enkephalin in the genotype-dependent regulation of exploratory behavior in mice.* Journal of Neurogenetics 3 (3): 183-186.

Van Abeelen J. H. & van Nies J. H. 1983. *Effects of intrahippocampally-injected naloxone and morphine upon behavioral responses to novelty in mice from two selective-bred lines.* Psychopharmacology (Berl.) 81 (3): 232-235.

Van Daal J. H., De Kok Y. J., Jenks B. G., Wendelaar Bonga S. E., Van Abeelen J. H. 1987. *A genotyp-dependent hippocampal dynorphinergic mechanism controls mouse exploration.* Pharmacology, Biochemistry and Behavior 28 (4): 465-458.

Vaucher E., Reymond I., Najaffe R., Kar S., Quirion R., Miller M. M., Franklin K. B. 2002. *Estrogen effects on object memory and cholinergic receptors in young and old female mice.* Neurobiology of Aging 23 (1): 87-95.

Vaugeois J. M. & Costentin J. 1998. *Creation of a line of « depressed » mice from a selection of breeders exhibiting a behavioral helplessness.* Comptes-rendus des Séances de la Société de Biologie 192 (6): 1149-1161.

Wall P. M., Messier C. 2000. *Concurrent modulation of anxiety and memory (Review).* Behavioral Brain Research 109 (2): 29-241.

Wall P. M., Messier C. 2001. *Methodological and conceptual issues in the use of the elevated plus-maze as a psychological measurement instrument of animal anxiety-like behavior.* Neuroscience and Biobehavioral Reviews 25: 275-286.

Weiss S. M., Wadsworth G, Fletcher A & Dourish CT. 1998. *Utility of ethiological analysis to overcome locomotor confounds in elevated plus-maze models of anxiety.* Neuroscience & Biobehavioral Reviews 23 (3): 265-271.

West A. P. 1990. *Neurobehavioral studies of forced swimming: the role of learning and memory in the forced swim test.* Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry 14 (6): 863-877.

Whishaw I. Q. & Tomie J. A. 1987. *Cholinergic receptor blockade produces impairments in a sensorimotor subsystem for place navigation in the rat: Evidence from sensory, motor, and acquisition tests in a swimming pool.* Behavioral Neuroscience 101: 603-616.

Whitnall M. H. Mezey E., Gainer H. 1985. *Co-localisation of corticotropin-releasing factor and Vasopressin in median eminence neurosecretory vesicles.* Nature 317: 248-250.

Willner P. 1984. *The validity of animal models of depression*. Psychopharmacology 83: 1-16.

Willner P., Muscat R., Papp M. 1992. *Chronic mild stress-induced anhedonia, a realistic animal model of depression*. Neuroscience and Biobehavioral Reviews 16: 525-534.

Zhu X. O., McCabe B. J., Aggleton J. P., Brown M. W. 1996. *Mapping visual recognition memory through expression of the immediate early gene c-fos*. Neuroreport 7: 1871-1875

Zobel A. W., Nickel T., Künzel H. E., Ackl N., Sonntag A., Ising M., Holsboer F. 2000. *Effects of the high-affinity corticotropin-releasing hormone receptor 1 antagonist R121919 in major depression: the first 20 patients treated*. Journal of Psychiatric Research 34: 171-181.

Curriculum Vitae

13.12.1962

Geboren in München, Deutschland

1969 – 1973

Grundschule an der Schwanthalerstrasse, München

1973 – 1981

Theresiengymnasium, München

1981 – 1984

Lehre im Holzbildhauer Handwerk, München, Staatliche Berufsfachschule Bad Neustadt a.d. Saale.

Abschluss: Gesellin im Holzbildhauer Handwerk.

1984 – 1997

Selbständige Restauratorin und freischaffende Künstlerin

1993 – 1995

Anton-Fingerle-Berufsbildungszentrum-Abendgymnasium, München.

Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

1995 – 2002

Studium der Biologie an der Ludwig-Maximilians Universität, München.

Prüfungsfächer: Neurobiologie, Psychologie, Anthropologie/Humangenetik und Völkerkunde.

2000 – 2001

Studentische Hilfswissenschaftlerin am MPI für Psychiatrie, AG Landgraf. Verhaltensstudien mit ängstlichen- und nicht-ängstlichen Ratten (HAB-LAB Ratten).

2001 - 2002

Diplomarbeit am Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München: „Verhaltensbiologische Korrelate kognitiver Leistungen bei ängstlichen und nicht-ängstlichen Mäusen.“

Abschluss: Diplom Biologin.

2002 – 2005

Doktorarbeit am Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München.

Thema: „Auswirkungen der pharmakologischen Modulation von kognitiven Fähigkeiten auf das Verhalten von Mäusen in Tests für Angst/Depression und Charakterisierung eines neuen Mausmodells für Depression.“

Danksagung

An erster Stelle möchte ich Prof. Dr. Walter Schartau danken für seine Bereitschaft meine Dissertation als externe Arbeit zu betreuen.

Besonders möchte ich mich bei Prof. Dr. Dr. Florian Holsboer bedanken, dass er mir das Arbeitsthema zur Verfügung gestellt hat und die Durchführung der Projekte am MPI für Psychiatrie ermöglicht hat. Mein ganz besonderer Dank gilt auch Prof. Dr. Frauke Ohl, die mein Projekt wissenschaftlich betreut und unterstützt hat. Ebenso bedanke ich mich sehr bei Dr. Dr. Martin E. Keck, der mir durch seine Unterstützung geholfen hat meine Dissertation am MPI zu beenden.

Für die fachkundige und umsichtige Betreuung der Tiere möchte ich mich bei Dr. Barbara Wörle und dem gesamten Team der Tierpfleger am MPI bedanken.

Ich danke allen Kollegen aus der AG Ohl, AG Keck und AG Müller für die freundliche Aufnahme, Mitarbeit und Hilfe.

Herzlicher Dank gilt meinen Kollegen aus der Medizin: Dr. Christoph Thöringer, Dr. Angelika Erhardt, Tobias Welt und Pauline Naumann für die besonders nette Zusammenarbeit und die interessanten Gespräche.

Karin Ganea, Vera Sterlemann, Stephanie Alam und Dr. Mathias Schmidt möchte ich herzlichst für ihre freundliche und freundschaftliche Unterstützung danken.

Für anregende wissenschaftliche Fragen und Diskussionen möchte ich Dr. Elke Binder, Corinna Storch, Caroline Knorr und Dr. Petra Weißenbacher danken. Elke Binder möchte ich außerdem für die gute Zusammenarbeit bei dem Forced swim Versuch mit Skopolamin-Behandlung danken.

Bei Ursula Habersetzer und Daniela Harbich möchte ich mich besonders bedanken für die professionelle Hilfe und Freundschaft, die sie mir in all den Jahren gewährt haben.

Ich möchte abschließend meiner Familie danken, die mich in meinem Berufswechsel immer unterstützt hat. Besonders gilt dies für meinem Vater Ferdinand Rödel, dessen Begeisterung für die Naturwissenschaften mich immer begleiten werden.

Angelika Rödel

München, den 1.12.2005

St. Paulsplatz 6

80336 München

Sehr geehrte Damen und Herren,

hiermit erkläre ich, dass die eingereichte Dissertation meine erste Dissertation ist.

Es gab keinen früheren Versuch eine Dissertation einzureichen oder sich einer Doktorprüfung zu unterziehen.

Angelika Rödel

Angelika Rödel

München, den 1.12.2005

St. Paulsplatz 6

80336 München

Sehr geehrte Damen und Herren,

hiermit gebe ich meine ehrenwörtliche Versicherung, dass die Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt worden ist.

Angelika Rödel

Angelika Rödel

München, den 1.12.2005

St. Paulsplatz 6

80336 München

Sehr geehrte Damen und Herren,

Hiermit erkläre ich, dass die Dissertation vollständig eingereicht wird. Die Dissertation wurde nicht in wesentlichen Teilen einer anderen Prüfungskommission vorgelegt.

Angelika Rödel