

aus dem Max Planck Institut für Psychiatrie

Vorstand: Prof. Dr. Florian Holsboer

**Effekte der systemischen Cholecystokiningabe bei C57BL/6-Mäusen und
Einfluss einer chronischen Vitamin D- und / oder Paroxetinbehandlung auf
das Verhalten und die HPA-Achse bei C57BL/6- und DBA/2-Mäusen**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Pauline Naumann

aus Kustanai

im Jahr 2009

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. Dr. med. Martin Ekkehard Keck

Mitberichterstatter: PD Dr. med. Marianne Brigitte Müller
Prof. Dr. med. Rainer Rupprecht

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Tobias Welt

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 29.01.2009

Inhaltsübersicht

1 EINLEITUNG.....	4
1.1 DIE ROLLE VON STRESS BEI ANGST- UND DEPRESSIONSERKRANKUNGEN	4
1.1.1 <i>Die Aktivierung der HPA-Achse</i>	4
1.1.1.1 Die Reaktion des Organismus auf akuten Stress	4
1.1.1.2 Der Mechanismus einer anhaltenden HPA-Achsen-Aktivierung	6
1.1.2 <i>Die hypothalamischen Neuropeptide der HPA-Achse</i>	7
1.1.2.1 Die anxiogene Wirkung von CRH	7
1.1.2.3 Die synergistische und kompensatorische Rolle des Vasopressins	9
1.1.2.4 Die HNS-Achse und ihre Verbindungen zur HPA-Achse	9
1.1.3 <i>Depression</i>	11
1.1.3.1 Symptomatik und Ätiologie	11
1.1.3.2 Die HPA-Achsenveränderungen bei Depression	13
1.1.4 <i>Angststörungen</i>	14
1.1.4.1 Normale und pathologische Angst	14
1.1.4.2 Angststörungen und Depression	15
1.1.4.3 Die Panikstörung	16
1.1.4.4 Die Panikmodelle	17
1.1.5 <i>Tiermodelle der Depression und der Angst</i>	18
1.1.5.1 Voraussetzungen für ein gültiges Tiermodell	18
1.1.5.2 Die induzierte Angst und die Charakterangst	19
1.1.5.4 Die Interaktion zwischen dem Gedächtnis und der Angst	20
1.1.5.5 Bekannte Ergebnisse zum Verhalten von C57BL/6- und DBA/2-Mäusen	21
1.2 CHOLECYSTOKININ	22
1.2.1 <i>Vorkommen und Funktionen</i>	22
1.2.3 <i>Verhaltenseffekte von CCK8</i>	23
1.2.4 <i>Cholecystokinin und die Panikstörung</i>	24
1.3 VITAMIN D	26
1.3.1 <i>Chemische Struktur und Synthese</i>	26
1.3.2 <i>Vom Vitamin D-Rezeptor (VDR) zur Wirkung des Vitamins D</i>	27
1.3.3 <i>Kontrolle der Synthese</i>	28
1.3.4 <i>Funktionen im Organismus</i>	28
1.3.5 <i>Versorgung und Mangelerscheinungen</i>	29
1.3.6 <i>Vorkommen von Vitamin D und seinen Rezeptoren im Nervensystem</i>	30
1.3.7 <i>Wirkungen von Vitamin D im Gehirn</i>	31
1.3.8 <i>VDR-Knockout-Mäuse</i>	32
1.3.9 <i>Einfluss von Vitamin D auf die Stimmung</i>	33
1.4 PAROXETIN	34
1.4.1 <i>Die Monoaminmangelhypothese der Depression</i>	34
1.4.2 <i>Wirkungsweise, Indikationen und Nebenwirkungen des Paroxetins</i>	34
1.4.3 <i>Verhaltenseffekte bei Nagetieren</i>	35
1.5 FRAGESTELLUNGEN	36
2 MATERIALIEN UND METHODEN.....	37
2.1 TIERE UND TIERHALTUNG	37
2.2 MEDIKAMENTE	37
2.2.1 <i>Herkunft und Verabreichungsmodus</i>	37
2.2.2 <i>Dosisfindung</i>	38
2.3 VERHALTENSEXPERIMENTE	38
2.3.1 <i>Elevated Plus Maze (EPM)</i>	38

2.3.2 Das modifizierte Holeboard (mHb)	40
2.3.2.1 Der Objekterkennungstest	40
2.3.2.1 Der Lernkurventest.....	41
2.3.3 Das Rotarod.....	43
2.3.4 Temperaturmessung.....	44
2.3.5 Dark-Light Test (DLT).....	44
2.3.6 Forced swimming Test (FST).....	45
2.4 BLUT-, HIRN- UND ORGANENTNAHME.....	46
2.5 RADIOIMMUNOASSAY (RIA).....	47
2.6 IN-SITU HYBRIDISIERUNG.....	48
2.7 HOCHLEISTUNGSFLÜSSIGKEITSCHROMATOGRAPHIE (HPLC).....	49
2.8 STATISTIK	50
2.9 EXPERIMENTENPROTOKOLLE	50
2.9.1 Experiment 1: Auswirkung einer akuten systemischen CCK8-Gabe auf das Verhalten der C57BL/6-Mäuse.....	50
2.9.2 Experiment 2: Auswirkung einer chronischen oralen Vitamin D-Gabe auf das Verhalten der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse.....	50
2.9.3 Experiment 3: Auswirkung einer chronischen oralen Vitamin D- und / oder Paroxetin- Gabe auf das Verhalten der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse	51
2.9.4.1 Experiment 4.1: Auswirkung einer chronischen oralen Vitamin D-Gabe auf basale und stressinduzierte HPA- und HNS-Achsen-Regulation der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse	51
2.9.4.2 Experiment 4.2: Beeinflussung der HPA- und der HNS-Achse durch eine chronische Vitamin D- und / oder Paroxetin-Gabe bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen	52
3 ERGEBNISSE.....	53
3.1 EXPERIMENT 1: AUSWIRKUNG EINER AKUTEN SYSTEMISCHEN CCK8-GABE AUF DAS VERHALTEN DES C57BL/6-STAMMS.....	53
3.1.1 Modifiziertes Holeboard.....	53
3.1.2 Elevated Plus Maze.....	54
3.1.3 Temperatur und Dark Light Test	54
3.2 EXPERIMENT 2: AUSWIRKUNG EINER CHRONISCHEN ORALEN VITAMIN D-GABE AUF DAS VERHALTEN DER C57BL/6- UND DER DBA/2-MÄUSE.....	55
3.2.1 Calciumspiegel.....	55
3.2.2 Elevated Plus Maze am 19. Tag.....	55
3.2.3 Rotarod am 21. Tag	58
3.2.4 Forced Swimming Test am 22. Tag	59
3.2.5 Die Lernkurve	61
3.2.5.1 Anzahl der Fehler (wrong choice) (Abb.21)	61
3.2.5.2 Auslassung eines belegten Lochs (omission) (Abb.22).....	62
3.2.5.3 Anzahl der Lochbesuche (hole number) (Abb.23)	63
3.2.5.4 Anzahl der Wiederholungen (repeated choice)(Abb.24).....	64
3.2.5.5 Aufenthaltszeit auf board (Abb.25).....	65
3.2.5.6 Anzahl der Linienübertritte pro Minute (Abb.26).....	66
3.2.5.7 Versuchsdauer (Abb.27).....	68
3.2.5.8 Latenz bis zum dem Betreten des boards (Abb.28).....	69
3.2.5.9 Anzahl der rearings pro Minute (Abb.29)	70
3.2.5.10 Die grooming-Dauer (Abb.30).....	71
3.3 EXPERIMENT 3: EINFLUSS VON VITAMIN D UND PAROXETIN AUF DAS VERHALTEN DER C57BL/6- UND DBA/2-MÄUSE	72
3.3.1 Paroxetin- und Calciumspiegel, Gewichtsveränderungen	72
3.3.2 Elevated Plus Maze am 19. Tag.....	73
3.3.3 Rotarod am 21.Tag	77
3.3.4 Forced Swimming Test am 22.Tag	78

3.4.1 Experiment 4.1: Auswirkung einer chronischen oralen Vitamin D-Gabe auf die basale und die stressinduzierte HPA- und HNS-Achsenregulation.....	80
3.4.1.1 Einfluss von 1 µg/kg Vitamin D auf die CRH-Expression im PVN	80
3.4.1.2 Einfluss von 1 µg/kg Vitamin D auf die CRH-Expression in der Amygdala.....	82
3.4.1.3 Einfluss von 1 µg/kg Vitamin D auf die AVP-Expression im PVN	82
3.4.1.4 Einfluss von 1 µg/kg Vitamin D auf die AVP-Expression im SON	83
3.4.1.5 Einfluss von 1 µg/kg Vitamin D auf den ACTH-Spiegel.....	84
3.4.1.6 Einfluss von 1 µg/kg Vitamin D auf den Corticosteronspiegel.....	84
3.4.2 Experiment 4.2: Beeinflussung der HPA- und der HNS-Achse durch eine chronische orale Vitamin D- und / oder Paroxetingabe bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen.....	85
3.4.2.1 Einfluss von Paroxetin / Vitamin D auf die CRH-Expression im PVN	85
3.4.2.2 Einfluss von Paroxetin / Vitamin D auf die CRH-Expression in der Amygdala.....	85
3.4.2.3 Einfluss von Paroxetin / Vitamin D auf die AVP-Expression im PVN	86
3.4.2.4 Einfluss von Paroxetin / Vitamin D auf die AVP-Expression im SON	87
3.4.2.5 Einfluss von Paroxetin / Vitamin D auf den ACTH-Spiegel.....	87
3.4.2.6 Einfluss von Paroxetin / Vitamin D auf den Corticosteronspiegel.....	87
4 DISKUSSION	88
4.1 MÖGLICHE URSACHEN FÜR DEN FEHLENDEN CHOLECYSTOKININ-EFFEKT	88
4.1.1 CCK als Neuromodulator v.a. des dopaminergen Systems	88
4.1.2 Spezies- und Stammunterschiede der CCK-Empfindlichkeit	89
4.1.3 Konnte Cholecystokinin nach 30 Minuten zentral wirken?	90
4.1.4 Unterschiedliche Verhaltenseffekte von CCK.....	91
4.1.5 Unterschiedliche Tests für Angst und Panik?	92
4.1.6 Die Vermittlung der anxiogenen Wirkung durch die CCK ₂ -Rezeptoren	93
4.2 VERGLEICH BEIDER STÄMME	94
4.2.1.1 EPM: DBA/2-Mäuse als der ängstlichere Stamm	94
4.2.1.2 Behandlungseffekte auf dem EPM.....	95
4.2.2 Die motorische Geschicklichkeit der DBA/2- und C57BL/6-Mäuse.....	96
4.2.3 FST: Wirkungen von Paroxetin	97
4.2.4.1 Lernkurve: Veränderung der Ängstlichkeit über die Zeit	98
4.2.4.2 Vergleich beider Stämme in Bezug auf Kognition.....	100
4.2.4.3 Einfluss von Vitamin D auf Angst und Kognition	102
4.5 DER EINFLUSS VON STRESS UND BEHANDLUNG AUF DIE HPA-ACHSE	103
4.5.1 Höhere Corticosteronspiegel bei den gestressten DBA/2-Mäusen.....	103
4.5.2 CRH-Expression im PVN und Amygdala bei den DBA/2- und C57BL/6-Mäusen ..	104
4.5.3 Höhere AVP- Expression bei den DBA/2-Mäusen.....	105
4.5.4 Der Einfluss von Vitamin D und Paroxetin auf die HPA-Achse.....	106
9 ZUSAMMENFASSUNG	108
5 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	110
6 ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	111
7 TABELLENVERZEICHNIS	112
8 LITERATURVERZEICHNIS	112
10 DANKSAGUNG	1466
11 LEBENS LAUF VON PAULINE NAUMANN	1477

1 EINLEITUNG

1.1 Die Rolle von Stress bei Angst- und Depressionserkrankungen

1.1.1 Die Aktivierung der HPA-Achse

1.1.1.1 Die Reaktion des Organismus auf akuten Stress

Seyle beschrieb 1946 die Reaktion des Organismus auf einen akuten Stress. Stress stellt eine unspezifische Antwort auf eine körperliche oder seelische, reale oder fiktive Bedrohung dar, welche die Homöostase des Organismus stört (Stratakis & Chrousos 1995). Stress führt zur Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (engl. *hypothalamic pituitary adrenocortical system*), nachfolgend die HPA-Achse genannt (Abb.1). Diese Aktivierung versetzt den Körper in den Zustand maximaler Leistungsfähigkeit, die es dem Organismus ermöglicht, aus einer Gefahrensituation zu entkommen oder sie aktiv zu bewältigen (Engelmann, Landgraf *et al.* 2004). Auf der neuroendokriner Ebene geschieht dabei Folgendes:

1) Die parvozellulären Neurone des paraventriculären Nukleus (PVN) des Hypothalamus projizieren zu der *Zona externa* der *Eminentia mediana* am Hypophysenstiel, dort werden das *Corticotropin releasing hormone* (CRH) und Vasopressin (AVP) in die Portalgefäße freigesetzt. AVP und CRH bewirken synergistisch (Gillies, Linton *et al.* 1982) die Freisetzung vom adrenocorticotropen Hormon (ACTH) aus dem Hypophysenvorderlappen in den systemischen Blutkreislauf (Antoni 1993).

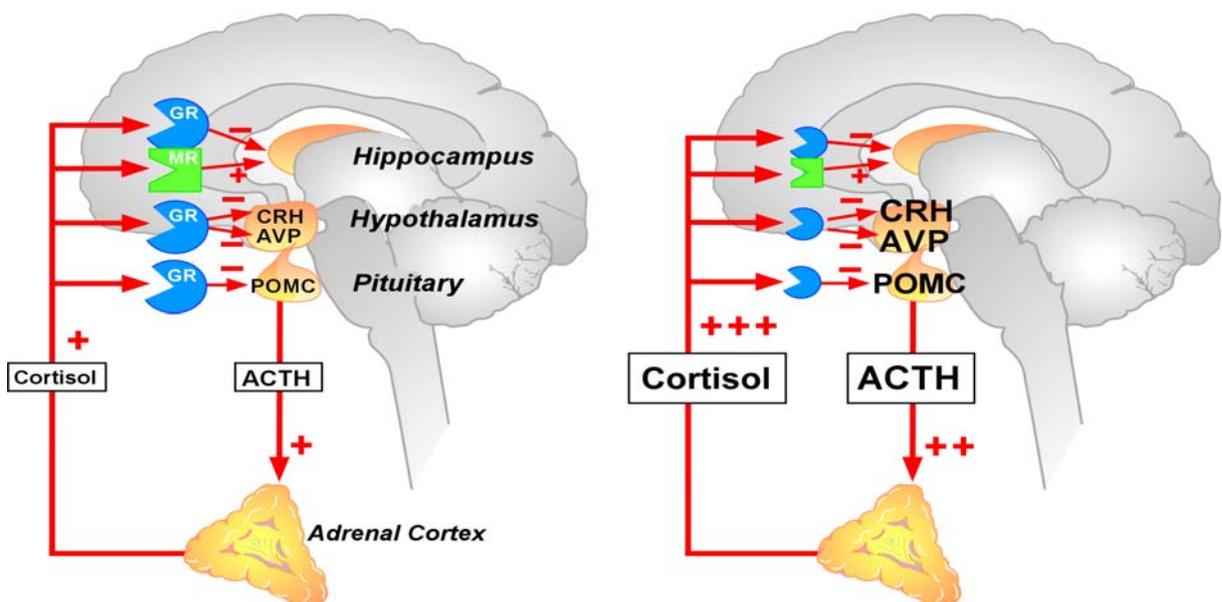
2) ACTH ist ein Peptidhormon, das neben dem Melanozyten stimulierendem Hormon (MSH), dem Beta-Endorphin und dem Enkephalin aus einer gemeinsamen Vorstufe, dem Proopiomelanocortin (POMC), gebildet wird. ACTH steigert die Produktion und die Freisetzung von Glucocorticoiden aus der Nebennierenrinde.

3) Das gebildete Cortisol (beim Menschen) oder Corticosteron (bei Nagetieren) hemmt durch die negative Rückkopplung die Synthese von CRH und ACTH (Keller-Wood & Dallman 1984). Diese *feedback*-Hemmung erfolgt hauptsächlich direkt über die parvozellulären Neurone des PVN (Erkut, Pool *et al.* 1998) und des Hypophysenvorderlappens, aber auch indirekt über den ventralen Hippocampus, der über den *bed nucleus of the stria terminalis* (BNST) wiederum zum PVN projiziert (Muller & Keck 2002; Herman & Cullinan 1997).

Die Wirkung von Glucocorticoiden wird über die Mineralocorticoid- (MR) und Glucocorticoidrezeptoren (GR) vermittelt. Die tonische basale Aktivierung durch

Corticosteron erfolgt über die MR, die am stärksten im Hippocampus exprimiert sind und Corticosteron im Vergleich zu den GR mit 10-fach größerer Affinität binden (Reul & de Kloet 1985). MR sind fast ständig von Glucocorticoiden besetzt und regulieren die basale HPA-Achsen-Aktivität (de Kloet 2004). Die Aktivierung der GR, die im ZNS ubiquitär und besonders zahlreich im Hypothalamus vorkommen (Reul & de Kloet 1985), erfolgt erst bei höheren Glucocorticoidspiegeln, also entweder im Rahmen einer Stresserfahrung oder des tageszeitlichen Peaks der Corticosteroauschüttung. GR vermitteln die Angstreaktion, die *feedback*-Hemmung der HPA-Achse, die Speicherung entsprechender Informationen und die Erholung nach einer Stresserfahrung (Korte 2001; de Kloet 2004). Das Zusammenspiel zwischen den GR- und den MR- vermittelten Cortisoleffekten bestimmt die Aktivität der HPA-Achse (de Kloet, Vreugdenhil *et al.* 1998).

Stress führt auch zur Aktivierung des sympathischen Nervensystems mit Freisetzung von Adrenalin und Noradrenalin aus dem Nebennierenmark. Die Glucocorticoid- und Adrenalin-vermittelte Stressreaktion führt zu Blutdruckanstieg, Lipolyse, Glykogenolyse und Glukoneogenese, die der Bereitstellung von Energiereserven dienen (Munck & Naray-Fejes-Toth 1992). Diese Wirkungen kommen sowohl durch die Beeinflussung der Gentranskription (de Kloet & Derijk 2004) als auch durch die nichtgenomischen Prozesse zustande, die die Erregbarkeit der Neurone verändern (Zakon 1998).



normal

chronischer Stress / Depression

Abbildung 1: HPA-Achse im Normalzustand und bei einem chronischen Stress oder Depression (übernommen von: Keck, 2004).

1.1.1.2 Der Mechanismus einer anhaltenden HPA-Achsen-Aktivierung

Alle oben genannten hormonellen Reaktionen sind in einer Stresssituation notwendig, um die Energiereserven für deren Bewältigung oder Flucht bereitzustellen. Wenn die Homöostase dadurch wiederhergestellt wird, spricht man von Eustress (griechisch „eu“=gut). Bei einer anhaltenden Aktivierung der HPA-Achse, die durch einen chronischen, nicht bewältigbaren Stressor (Dysstress, griechisch „dys“=widrig) zustandekommt, kann die *feedback*-Regulation beeinträchtigt werden. Dann kommt es zu zahlreichen Veränderungen des neuroendokrinen und des Immunsystems, wie z. B. Proliferation der Nebenniere oder Thymusatrophie (Berczi 1998). Chronischer Stress steigert das Risiko sowohl für psychische als auch für körperliche Erkrankungen wie z. B. Depressions- und Angsterkrankungen, posttraumatische Belastungsstörung, Herz- und Kreislauf- oder Tumorerkrankungen (McEwen 2000). Auf der Ebene der HPA-Achse geschieht dabei Folgendes:

- 1) Hohe Glucocorticoidspiegel führen über längere Zeit zur Herunterregulation der GR und MR (Abb.1), was zu einer verminderten *feedback*-Hemmung mit einer vermehrten CRH-Sekretion und in Folge zu einer weiteren Zunahme der Cortisolspiegel führt (Sapolsky, Romero *et al.* 2000; Reul & Holsboer 2002).
- 2) Stress erhöht die CRH-mRNA-Transkription im PVN (Makino, Schulkin *et al.* 1995), CRH kann wiederum seine eigene Expression im PVN induzieren (Keck & Holsboer 2001), was die HPA-Achsen-Aktivierung weiter verstärkt.
- 3) Ein anderer Mechanismus, der zur Stresssensibilisierung beitragen kann (Koob 1999), ist die Wechselwirkung zwischen dem CRH- und dem Noradrenalin-System: Stress führt zur Noradrenalinfreisetzung in der Amygdala (Quirarte, Galvez *et al.* 1998), diese noradrenerge Stimulation fördert die CRH-Sekretion in die Portalgefäße der Hypophyse (Plotsky 1987); letztendlich aktiviert das freigesetzte CRH die noradrenergen Neurone des Locus coeruleus (Lehnert, Schulz *et al.* 1998; Valentino, Foote *et al.* 1983).

Ob ein Stressor Eustress oder Dysstress bewirkt, hängt von seiner Qualität, Intensität und Dauer ab. Auch die Voraussetzungen des Organismus wie die genetische Prädisposition oder die vorangegangenen Erfahrungen spielen eine wichtige Rolle (Engelmann, Landgraf *et al.* 2004).

1.1.2 Die hypothalamischen Neuropeptide der HPA-Achse

Neuropeptide nehmen eine Zwischenstellung zwischen Hormonen und Neurotransmittern ein und wirken in erster Linie als Neuromodulatoren. Im Gegensatz zu den kleinmolekularen Neurotransmittern werden sie langsam gebildet und erst bei intensiveren Stimuli freigesetzt (Hokfelt, Broberger *et al.* 2000). Die Wirkung der Neuropeptide tritt im Gegensatz zu den klassischen Neurotransmittern wie Acetylcholin, Dopamin, Adrenalin, Noradrenalin oder Serotonin später, aber länger anhaltend ein, da sie zumeist über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren und konsekutive Effekte auf die intrazellulären *second messenger*- Systeme vermittelt wird (Robert & Clauser 2005).

Neuropeptide sind oft in sehr geringen Konzentrationen wirksam und können im Gegensatz zu den klassischen Neurotransmittern nicht nur von der Synapse, sondern vom ganzen Neuron diffus sezerniert werden und somit über längere Entfernungen wirken (Landgraf, Wotjak *et al.* 1998). Dazu zählen neben CRH und AVP unter anderem ACTH, CCK, Prolactin, Oxytocin, Somatostatin, Substanz P, Neuropeptid Y, beta-Enkephalin, Insulin, Glucagon, Gastrin und Angiotensin II.

1.1.2.1 Die anxiogene Wirkung von CRH

Hypothalamus ist hauptverantwortlich für die Homöostase, er reguliert den Wasser- und Elektrolythaushalt, die Nahrungsaufnahme und die Körpertemperatur. Der PVN im Hypothalamus (Koob & Heinrichs 1999) ist der Hauptsitz der CRH-haltigen Neurone (Swanson & Simmons 1989) und dient der Stressregulation. Durch die Projektionen zur *Eminentia mediana* beteiligen sich die CRH-Neurone an der HPA-Achsenregulation, durch Projektionen zum Hirnstamm und Rückenmark beeinflussen sie das Verhalten und die autonomen Funktionen (Holsboer 1999).

Angsterregende Stimuli führen zu einem Anstieg von CRH im PVN (Lightman & Young, III 1988). Andererseits wirkt CRH selbst anxiogen (Steckler & Holsboer 1999). CRH-überexprimierende Mäuse sind ängstlicher als der Wildtyp (Stenzel-Poore, Heinrichs *et al.* 1994).

CRH führt bei Versuchstieren zur Verminderung des Explorationsverhaltens, der Nahrungsaufnahme (Britton, Koob *et al.* 1982), zur Zunahme der Schreckreaktionen (Kalin & Takahashi 1990), der konditionierten Angst (Swerdlow, Britton *et al.* 1989; Sherman & Kalin 1988) und des Vermeidungsverhaltens (Koob & Heinrichs 1999), was uns an die Symptome der depressiven Patienten erinnert. Bei gesunden

Probanden induziert CRH neuroendokrine Veränderungen, die für depressiv Erkrankte typisch sind (von Bardeleben & Holsboer 1988).

Die Wirkung von CRH wird über zwei unterschiedliche Rezeptoren vermittelt.

CRH Rezeptor Typ 1 (CRHR1) ist hauptverantwortlich für die Aktivierung der HPA-Achse und für das angstassoziierte Verhalten (Muller, Zimmermann *et al.* 2003; Skutella, Criswell *et al.* 1994; Timpl, Spanagel *et al.* 1998; Keck, Welt *et al.* 2001). Obwohl die Entfernung der Nebenniere bei CRHR1-überexprimierenden Mäusen den Corticosteronspiegel normalisiert, wird die erhöhte Ängstlichkeit der transgenen Tiere nicht vermindert (Heinrichs, Min *et al.* 1997). Sie weisen eine für Stresszustände typische autonome Dysregulation auf wie z. B. eine verminderte Herzratenvariabilität oder eine erhöhte Temperatur während der inaktiven Tagesphase (Dirks, Groenink *et al.* 2002).

CRH induziert die Synthese der CRHR1 im Hypothalamus und Hippocampus, diese *feed-forward*-Schleife kommt der Fähigkeit des Organismus zugute, unter den Bedingungen einer chronischen Belastung auf einen akuten Stressor reagieren zu können, sie kann aber auch zu einer Dysregulation der HPA-Achse führen (Holsboer 1999).

Der selektive CRHR1-Antagonist R121919 ist antidepressiv wirksam (Holsboer 1999; Zobel, Nickel *et al.* 2000). Dieser Effekt ist nur in Organismen mit pathologisch gesteigerter Freisetzung von AVP und CRH nachweisbar (Liebsch, Landgraf *et al.* 1995; Keck, Welt *et al.* 2001). Auch klassische Antidepressiva wirken nur bei psychisch Kranken stimmungsstabilisierend und stimmungsaufhellend (Bonne, Krausz *et al.* 1999).

CRH-Rezeptor Typ 2 (CRHR2) beeinflusst das Ess- und Fortpflanzungsverhalten und moduliert die Stressbewältigungsstrategie (Steckler & Holsboer 1999; Liebsch, Landgraf *et al.* 1999; Bale, Contarino *et al.* 2000; Coste, Kesterson *et al.* 2000).

Im hypothalamischen PVN gibt es viele Interaktionen zwischen dem CRH- und dem serotoninergeren und dem noradrenergen System wie z. B. die gegenseitige Synapsenverschaltung (Liposits, Phelix *et al.* 1987) oder die Stimulation der CRH-Freisetzung durch Noradrenalin (Alonso, Szafarczyk *et al.* 1986).

Auch der limbische Amygdalakern enthält viele CRH-haltige Neurone, die monoaminerge Afferenzen erhalten und via CRHR1 das Angstverhalten regulieren (Holsboer 1999; Asan, Yilmazer-Hanke *et al.* 2005). Dieser Kern vermittelt die Emotionen und das Stressverhalten wie z.B. die Angstkonditionierung bei neuen

oder stressassoziierten Stimuli (Gallagher & Chiba 1996). Eine erhöhte CRH-Expression in der Amygdala trägt zur Entstehung von Angst- und Depressionserkrankungen bei (Schulkin, Gold *et al.* 1998).

Durch die Projektion der CRH-Neurone der Amygdala an die parvozellulären Regionen des PVN besteht eine enge Verbindung zwischen den autonomen, neuroendokrinen und den Verhaltenswirkungen des CRH (Holsboer 1999).

1.1.2.3 Die synergistische und kompensatorische Rolle des Vasopressins

Arginin-Vasopressin (AVP) wird in den parvo- und magnozellularen Neuronen des *Nucleus supraopticus* (SON) und des *Nucleus paraventricularis* (PVN) des Hypothalamus gebildet (Wotjak, Naruo *et al.* 2001).

Stress stimuliert AVP-Freisetzung aus den hypothalamischen (wie SON und PVN) und limbischen (wie Amygdala) Hirnstrukturen (Landgraf, Wotjak *et al.* 1998). In der Amygdala vermittelt AVP eine passive *Coping*-Strategie (Ebner, Wotjak *et al.* 2002).

Prolongierter Stress führt sowohl beim Menschen als auch beim Nagetier zu einer Zunahme der AVP-Coexpression und -Freisetzung in den CRH-haltigen Neuronen des Hypothalamus (Tilders, Schmidt *et al.* 1993; Austin, Janosky *et al.* 2003), die man auch bei depressiven Patienten findet (Purba, Hoogendijk *et al.* 1996; Raadsheer, Hoogendijk *et al.* 1994).

Im Tierversuch führt eine Blockade der CRHR1 zu einer kompensatorischen Steigerung der AVP-Sekretion (Muller, Landgraf *et al.* 2000); es ist naheliegend, dass AVP an der Kontrolle einer dysregulierten HPA-Achse entscheidend beteiligt ist (Scott & Dinan 1998).

1.1.2.4 Die HNS-Achse und ihre Verbindungen zur HPA-Achse

Die magnozellularen Neurone des PVN und des SON, die via *Zona interna* der *Eminentia mediana* als *Tractus hypothalamicus neurohypophyseus* zum Hypophysenhinterlappen projizieren, synthetisieren AVP und Oxytocin (OXT).

AVP wird bei erhöhter Osmolarität des Blutes aus dem Hypophysenhinterlappen ausgeschüttet, es steigert die Wasserrückresorption aus der Niere und verengt in unphysiologischen Dosierungen die Gefäße, was zu einer Blutdrucksteigerung führt.

Bei Stress wird AVP zentral aus den parvo- und magnozellularen Neuronen des PVN in den PVN und SON freigesetzt (Wotjak, Ganster *et al.* 1998), diese AVP-Freisetzung in verschiedene Kompartimente ermöglicht eine fein abgestimmte

Beeinflussung der HPA-Achse (Landgraf, Wotjak *et al.* 1998; Wotjak, Ganster *et al.* 1998). Man spricht ähnlich der HPA- von der HNS-Achse (*hypothalamic neurohypophyseal system*). Die beiden Systeme interagieren auf mehreren Ebenen untereinander (Abb.2): AVP- und CRH-exprimierende Neurone liegen dicht nebeneinander, viele Neurone koexprimieren beide Neuropeptide.

AVP und OXT werden *en passant* in der *Eminentia mediana* (Holmes, Antoni *et al.* 1986) ins Blut abgegeben (Engelmann, Landgraf *et al.* 2004), was die ACTH-Ausschüttung erhöht. Die AVP-Freisetzung aus den magnozellulären Neuronen im PVN hemmt dagegen die parvozelluläre AVP-Ausschüttung und somit die ACTH-Sekretion aus der Adenohypophyse (Landgraf, Wotjak *et al.* 1998; Welt, Engelmann *et al.* 2006). Diese Eigenschaft, je nach Ort der Sekretion und Vorhandensein verschiedener Rezeptoren eine unterschiedliche Wirkung entfalten zu können, ist vielen Neuropeptiden gemeinsam.

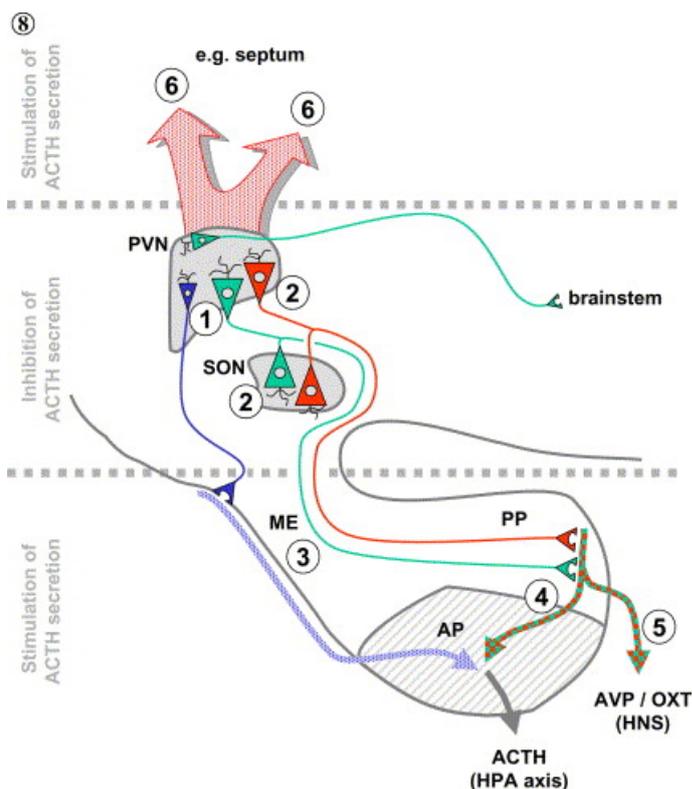


Abbildung 2: Zusammenwirken der HPA- und der HNS-Achse (aus Engelmann, 2004):

- 1) Die lokale Freisetzung von AVP/OXT aus den magnozellulären Neuronen beeinflusst die Aktivität der parvozellulären Neurone.
- 2) Die Autoregulation der Aktivität der magnozellulären Neurone.
- 3) Die *en passant* Freisetzung von AVP/OXT in der Eminentia mediana in die langen portalen Gefäße (Holmes, Antoni *et al.* 1986).
- 4) Die AVP/OXT-Freisetzung in die kurzen portalen Gefäße (Bergland & Page 1978).
- 5) Die Sekretion von AVP und OXT ins Blut.
- 6) Das AVP aus dem Blut erreicht bei hohen Konzentrationen andere Hirnregionen wie z. B. das Septum.

1.1.3 Depression

1.1.3.1 Symptomatik und Ätiologie

Depression gehört mit der Lebenszeitprävalenz von ca. 10% zu den häufigsten Erkrankungen westlicher Gesellschaft. Sie gehört weltweit zu den führenden Ursachen für Erwerbsunfähigkeit (Spiessl, Hubner-Liebermann *et al.* 2006) und verursacht viele direkte und indirekte Kosten.

Depression ist gekennzeichnet durch eine anhaltende traurige Verstimmung (Hasler, Drevets *et al.* 2004), Grübeln, Unentschlossenheit und Konzentrationsstörungen (Nelson & Charney 1981), unbegründete Schuldgefühle, Vorherrschen negativer Gedanken, Verlust an Freude, Antrieb, Energie und Interesse, psychomotorische Verlangsamung oder Unruhe, vegetative Symptomatik mit Müdigkeit, Schlaf-, Appetit- und Libidostörungen sowie Suizidgedanken (ICD-10, Klassifizierung der psychischen und Verhaltensstörungen). Für die Diagnose müssen mindestens 5 dieser Symptome für mindestens 2 Wochen jeden Tag bestehen, sie dürfen dabei nicht akut durch Schicksalsschläge verursacht worden sein. Bis zu 20% der Patienten mit schwerer Depression nehmen sich das Leben im Laufe der Erkrankung (Bradvik & Berglund 2006). Außerdem verschlechtert eine bestehende Depression die Prognose anderer Erkrankungen (Blumenthal 2008; Baker, Buchanan *et al.* 2008; Leserman 2008). Bei positiver Anamnese für Depression ist die Inzidenz der Hypertonie, des Magenulcus, der Osteoporose, der atopischen u.a. Erkrankungen erhöht (Himmerich, Fulda *et al.* 2008).

Mehrere Hirnstrukturen sind bei depressiv Erkrankten beeinträchtigt. Der Hippocampus ist oft nach längerer Krankheitsdauer verkleinert, was auf eine andauernde Erhöhung des neurotoxischen Cortisols zurückgeführt werden kann (Videbech & Petersen 2001) und möglicherweise zur verminderten Gedächtnisleistung beiträgt. Die Amygdala vermittelt die bei depressiv Erkrankten häufig anzutreffende Angstsymptomatik (Gallagher & Chiba 1996). Der Neocortex vermittelt kognitive Aspekte der Depression wie z. B. Schuldgefühle oder Gedankenkreisen, der Ncl. accumbens die Anhedonie (Genussunfähigkeit) und den Antriebsmangel (Cabib, Castellano *et al.* 1996; Nestler & Carlezon, Jr. 2006), der Hypothalamus die neurovegetativen Veränderungen wie Schlaf- oder Appetitstörungen (Nestler, Barrot *et al.* 2002).

Depression hat eine nachgewiesene genetische Komponente, wenn auch die Suszeptibilitätsgene noch nicht eindeutig identifiziert sind (Wong & Licinio 2001). Den

Umweltfaktoren wird ebenfalls eine große Rolle zugeschrieben (Kendler & Gardner 2001). Oft gehen den Depressionsepisoden belastende Lebensereignisse (*life events*) voraus, die bei anfälligen Menschen zu einer Dysregulation der HPA-Achse führen können (Checkley 1992; Kendler, Karkowski *et al.* 1999). Frühkindliche Stresserfahrungen wie Vernachlässigung oder Missbrauch erhöhen das Risiko für eine psychopathologische Entwicklung (Heim & Nemeroff 2002).

Möglicherweise setzt die genetische Prädisposition die Schwelle für die Stresserfahrungen, die in eine Depression münden können, herab (Nestler, Barrot *et al.* 2002; Heim & Nemeroff 2002).

Die Kombination von genetischer Prädisposition, der frühkindlichen und der aktuellen Stressexposition führt zu chemischen und plastischen Veränderungen der Nervenzellen wie einer beeinträchtigten MR- und GR-Übertragung, die die Stressbewältigungsfähigkeit eines Individuums herabsetzen und so in eine depressive Episode münden können (Charney & Manji 2004; de Kloet, Vreugdenhil *et al.* 1998; de Kloet & Derijk 2004). Auch bei Ratten führt chronischer unvorhersehbarer Stress zu Veränderungen an den 5HT_{1A}-, GR- und MR-Rezeptoren, die weitgehend den Befunden im Gehirn depressiver Patienten entsprechen (Lopez, Chalmers *et al.* 1998).

Nach der Monoaminmangelhypothese liegt den Symptomen der Depression ein Mangel an serotonerger, adrenerger und dopaminerger Transmission zugrunde, dementsprechend beeinflussen die meisten heute verfügbaren Antidepressiva diese Transmission (Pacher, Kohegyi *et al.* 2001). Ein großes Problem in der Anwendung der klassischen Antidepressiva stellt ihre große Wirklatenz dar (Quitkin, McGrath *et al.* 1996), die durch Adaptationsvorgänge auf Rezeptorebene, die einige Zeit in Anspruch nehmen, begründet ist (Duman, Heninger *et al.* 1997; Hyman & Nestler 1996). Daher ist es wichtig, mehr über die der Depression zugrundeliegenden Mechanismen zu erfahren, um noch spezifischere und möglicherweise schneller wirkende Antidepressiva zu entwickeln (Nemeroff 2002). Diese Behandlungsansätze beinhalten eine direkte Induktion von Neurogenese, eine direkte Beeinflussung der HPA-Achse oder eine verstärkte Expression von neurotrophischen Faktoren wie *brain derived neurotrophic factor* (BDNF), alles Langzeiteffekte der chronischen Einnahme der heute verfügbaren Antidepressiva. (Millan 2004; Barden, Reul *et al.* 1995; Dwivedi, Rizavi *et al.* 2006).

1.1.3.2 Die HPA-Achsenveränderungen bei Depression

Die Aktivität der HPA-Achse korreliert mit der Wahrscheinlichkeit, an einer Depression zu erkranken (Holsboer, Lauer *et al.* 1995). Eine beeinträchtigte MR- und GR-Übertragung im Hippocampus (de Kloet, Vreugdenhil *et al.* 1998; Pariante & Miller 2001) kann zu einer Dysregulation der HPA-Achse mit verminderter *feedback*-Hemmung führen (Young, Haskett *et al.* 1991; Holsboer 2000; Heuser, Yassouridis *et al.* 1994) und so zur Entstehung einer Depression beitragen.

Bei vielen Depressiven wurden erhöhte CRH-Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis (Nemeroff, Widerlov *et al.* 1984) sowie eine erhöhte CRH-Expression im PVN und in den extrahypothalamischen Strukturen festgestellt (Raadsheer, Hoogendijk *et al.* 1994). Auf der Grundlage dieser Befunde wurde die CRH-Hypothese der Depression entwickelt (Nemeroff 1996; Holsboer 2000). Diese postuliert, dass die CRH-Überexpression sowohl die Depressionssymptomatik als auch die Dysregulation der HPA-Achse aufrechterhält (Keck & Holsboer 2001). Es zeigt sich jedoch zunehmend, dass AVP ebenfalls entscheidend zur Steuerung der HPA-Achse beiträgt. Das Wiederauftreten oder die Persistenz der HPA-Achsen-Dysregulation ist mit einem erhöhten Rückfallrisiko behaftet, ihre Normalisierung sagt eine Besserung der klinischen Symptomatik voraus (Holsboer & Barden 1996).

Man geht davon aus, dass die Stimmungsverbesserung durch die Pharmakotherapie über ihre langfristigen Effekte auf die HPA-Achse erfolgt (Heuser, Deuschle *et al.* 2000; Holsboer 1999; Reul, Stec *et al.* 1993). So führt eine chronische Antidepressivagabe zu einer Abnahme der CRH-Expression im PVN sowie zu einer Hochregulation von GR und MR und somit zu einer Zunahme der MR- und GR-Übertragung und in Folge zur Normalisierung der überaktiven HPA-Achse (Brady, Gold *et al.* 1992; Barden, Reul *et al.* 1995; Holsboer & Barden 1996; Ising, Kunzel *et al.* 2005; Kunzel, Binder *et al.* 2003). Die Normalisierung der HPA-Achsen-Funktion ist eine Voraussetzung für ein Ansprechen auf Antidepressiva (eine positive *response*) und eine stabile Remission (Zobel, Yassouridis *et al.* 1999).

Um die Veränderungen der HPA-Achsen-Regulation beim Menschen festzustellen, wird der kombinierte Dexamethason-/CRH-Stimulationstest verwendet. Bei ca. 80% der depressiven Patienten findet sich eine verminderte Supprimierbarkeit von ACTH und Cortisol nach der Dexamethasongabe und ein überhöhter ACTH- und Cortisol-Anstieg nach der CRH-Stimulation (Heuser, Yassouridis *et al.* 1994; Ising, Kunzel *et al.* 2005). Mit diesem Test können selbst subtile Veränderungen der HPA-Achse, die

sich noch nicht in Form von erhöhten Cortisol- oder ACTH-Spiegeln im Plasma zeigen, festgestellt werden und eine Aussage über die Prognose und den möglichen Therapieerfolg erlauben (Ising, Kunzel *et al.* 2005). Interessanterweise zeigte sich in der Münchner Vulnerabilitätsstudie bei den Verwandten ersten Grades der an Depression erkrankten Menschen eine verglichen mit der Kontrollgruppe über die Zeit hinweg erhöhte Cortisolsekretion im Dexamethason-/CRH-Test (Holsboer, Lauer *et al.* 1995). Diese Menschen haben ein dreifach erhöhtes Risiko, an Depression zu erkranken (Lauer, Schreiber *et al.* 1998), was eine starke genetische Komponente und gleichzeitig die Beteiligung der HPA-Achse an der Pathogenese dieser Erkrankung nahelegt. Somit fungiert der Dexamethason-/CRH-Test als ein Marker der genetisch verankerten Vulnerabilität.

1.1.4 Angststörungen

1.1.4.1 Normale und pathologische Angst

Angst ist ein Zustand der Erwartung einer tatsächlichen oder vermeintlichen Bedrohung. Im Zusammenspiel mit Kognition reguliert sie das Verhalten und hilft, gefährliche Situationen zu meiden oder zu meistern; im Übermaß und ohne entsprechende Reize wird sie pathologisch (Gross & Hen 2004), wie z. B. bei einer Überempfindlichkeit der entsprechenden neurobiologischen Regelkreise (Rosen & Schulkin 1998), die eine ausgeprägte genetische Komponente hat (Hettema, Neale *et al.* 2001; Gordon & Hen 2004). Zu den Angststörungen gehören die generalisierte Angststörung, die durch übermäßige Besorgnis in Bezug auf verschiedene Lebensbereiche gekennzeichnet ist; die soziale Phobie mit typischer Vermeidung der öffentlichen Exposition im sozialen Kontext; die spezifische Phobie mit Angst vor bestimmten Objekten wie z. B. Spinnen, Schlangen, giftigen Pflanzen; die posttraumatische Belastungsstörung nach einem traumatisierenden Erlebnis mit sich aufdrängenden Traumaerinnerungen, allgemein erhöhter Wachsamkeit und sozialem Rückzug. Auch die Zwangsstörung mit nicht kontrollierbaren Zwangsgedanken und angstmindernden Zwangshandlungen und die Panikstörung zählen zu den Angsterkrankungen (Diagnostic und Statistical Manual of Mental Disorders DSM IV, 1994). Jeder Fünfte leidet im Laufe seines Lebens an zumindest einer Angststörung, wobei den Großteil davon die spezifische und die soziale Phobie ausmachen (Hirschfeld, Holzer *et al.* 2003; Gross & Hen 2004).

Es gibt zwei Möglichkeiten, psychopharmakologisch eine Angststörung zu behandeln: kurzfristig und schnell mit Anxiolytika wie z. B. Benzodiazepinen, die jedoch die Gefahr einer Abhängigkeit in sich bergen, oder langfristig mit selektiven Serotoninwiederaufnahmehemmern (SSRIs) oder anderen Antidepressiva sowie mit Verhaltens- oder Psychotherapie (Gross & Hen 2004).

Die Wirkmechanismen der oben genannten, bei den Angststörungen wirksamen Medikamente lassen eine Störung der serotonergen und der GABA-ergen Transmission bei den Angsterkrankungen vermuten (Griebel 1995; Lesch, Bengel *et al.* 1996), wobei speziell bei generalisierter Angststörung, Phobie und Panikstörung das noradrenerge System ebenfalls beteiligt ist (Sullivan, Coplan *et al.* 1999).

1.1.4.2 Angststörungen und Depression

Angststörungen haben eine hohe Komorbidität mit Depression (Barlow, DiNardo *et al.* 1986; Conway, Compton *et al.* 2006) und sprechen auf Antidepressiva an (Kent, Coplan *et al.* 1998). Beide Erkrankungen haben eine gemeinsame genetische Komponente (Kendler 1996). Häufig wird eine Symptomverschiebung beobachtet, so dass die Diagnose eines Patienten sich von Angststörung zu Depression ändern kann (Merikangas, Zhang *et al.* 2003). Andererseits erhöht die Diagnose einer Angststörung das Inzidenzrisiko von Depression (Fava, Rankin *et al.* 2000). Man kann diese Komorbidität mit der Beteiligung der für die Angstvorgänge wichtigen Amygdala bei der HPA-Achsen-Dysregulation der depressiv Erkrankten (Schulkin, Gold *et al.* 1998) erklären. Pathophysiologisch ist bei den beiden Erkrankungen der Emotionsregelkreis aus präfrontalem Cortex, Gyrus cinguli, Hippocampus und Amygdala gestört (Davidson, Abercrombie *et al.* 1999).

Die Befunde zur HPA-Achse bei Angst- und Depressionserkrankungen sind jedoch zum Teil widersprüchlich. Zur CRH-Konzentration in der Zerebrospinalflüssigkeit bei Patienten mit einer Angststörung existieren unterschiedliche Angaben, wobei analog der Depression eher eine Zunahme von CRH berichtet wird (Fossey, Lydiard *et al.* 1996; Keck & Holsboer 2001). Im Gegensatz zur typischen Depression wurden bei der Angststörung auch eine Hypocortisolämie und eine Zunahme der GR beschrieben (Boyer 2000).

Im Falle der Komorbidität ist die HPA-Achse besonders stark aktiviert (Young, Abelson *et al.* 2004) und eine stabile Remission besonders schwer zu erreichen (Merikangas, Zhang *et al.* 2003).

1.1.4.3 Die Panikstörung

Die Panikstörung ist durch plötzliche, unkontrollierbare Angstanfälle gekennzeichnet, die nach DSM IV (= vierte Ausgabe von *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*=Diagnostisches und Statistisches Handbuch psychischer Störungen, Klassifikationssystem der amerikanischen psychiatrischen Vereinigung) durch mindestens vier der folgenden Symptome begleitet werden: Depersonalisation, Derealisation, Abdominalbeschwerden, Schwitzen, Übelkeit, Bruststechen, Zittern, Parästhesien, Erstickungsgefühl, Palpitationen, Atemnot, Schwindel, Tachykardie, Hitzewallungen, Frieren oder Angst, Kontrolle zu verlieren, zu sterben oder verrückt zu werden. Das mittlere Alter beim Erstauftreten der Panikstörung liegt am Ende der 3. Lebensdekade, die Lebenszeitprävalenz beträgt ca. 2,5% (Myers, Weissman *et al.* 1984).

Die Panikstörung wird oft von der Agoraphobie begleitet. Diese ist gekennzeichnet durch Angst in Situationen, aus denen Flucht unmöglich oder Hilfe schwer zugänglich ist, wie z. B. beim Fahren in öffentlichen Verkehrsmitteln oder beim Aufenthalt in großen Menschenmengen oder auf Brücken (DSM IV).

Man geht davon aus, dass Panikattacken in einem überempfindlichen neuronalen Netzwerk mit Zentrum in der Amygdala und Projektionen zum Präfrontalcortex und zum Hippocampus entstehen (Gorman, Kent *et al.* 2000). Künstliche Läsionen des Amygdalakerns verhindern eine Angstkonditionierung bei Ratten (Hitchcock & Davis 1987). Die Efferenzen von der Amygdala verlaufen zum Ncl. parabrachialis, der einen Respirationsanstieg bewirkt, zum Ncl. lateralis des Hypothalamus, der das sympathische und das autonome Nervensystem aktiviert, zum Locus coeruleus, welcher zur Noradrenalinausschüttung und somit zum Blutdruck- und Herzfrequenzanstieg führt, zum PVN des Hypothalamus mit einem darauf folgenden Cortisolanstieg und zum periäquadrakalen Grau, welches das intrinsische Furchtverhalten wie z. B. *freezing* (Erstarren) vermittelt (Gorman, Kent *et al.* 2000).

Zusätzlich vermutet man bei Panikpatienten eine kognitive Mißinterpretation der körperlichen Empfindungen: leichte Palpitationen, Schwindel oder Tachykardie werden als lebensbedrohlich empfunden, was die bestehende körperliche Symptomatik und die nachfolgende Angst verstärkt (Clark 1986). Panikpatienten zeichnen sich durch übermäßige Bemühungen aus, ihre intensiv wahrgenommenen, aber schwer zuordenbaren negativen Gefühle kontrollieren zu wollen (Baker, Holloway *et al.* 2004).

Panikstörung ist von allen Angststörungen am stärksten genetisch determiniert: bei Verwandten der Patienten besteht ein 10-mal höheres Erkrankungsrisiko im Vergleich zu den Verwandten der in dieser Hinsicht gesunden Menschen (Merikangas & Low 2005). Wie bei den meisten psychiatrischen Störungen, tragen belastende Lebensereignisse (*life events*) in der Kindheit und im Erwachsenenalter zum Ausbruch einer Panikstörung bei (Horesh, Amir *et al.* 1997).

Panikstörung hat eine hohe Komorbidität mit Depression (Lieb 2005). Die pharmakologischen Therapiemöglichkeiten beider Störungen in Form von Antidepressiva und Anxiolytika überschneiden sich weitgehend (Kent, Coplan *et al.* 1998; Duman & Duman 2005). Ca. 30% der Panikpatienten zeigen keine Besserung ihrer Symptomatik nach der Einnahme von Antidepressiva. Die Pharmakoresistenz wird durch ein ausgeprägtes Vermeidungsverhalten, eine lange Krankheitsdauer und Persönlichkeitsstörungen begünstigt (Slaap & den Boer 2001). Deswegen ist es wichtig, Tiermodelle der Panik zu etablieren, um zur bestehenden Psychopharmakotherapie alternative Behandlungsmethoden zu entwickeln.

1.1.4.4 Die Panikmodelle

Die klassische Panikinduktion beim Menschen erfolgt mittels Kohlendioxid (Bradwejn & Koszycki 1991), welches die Chemorezeptoren in der *Medulla oblongata* und im *Locus coeruleus* aktiviert, was bei anfälligen Individuen zu einer übersteigerten Wahrnehmung von Azidose und Hypoxie und zu Panik führt (Klein 1993).

Weitere Substanzen, die beim Menschen Panik induzieren können, sind Laktat, welches zu Kohlendioxid abgebaut wird, Yohimbin, ein α_2 -Antagonist, welcher die vom *Locus coeruleus* aufsteigenden noradrenergen Neurone stimuliert oder Adrenalin, welches primär die körperliche und erst sekundär die psychische Paniksymptomatik auslöst (Keck & Strohle 2005).

Für die Mäuse wurde die *Mouse Defence Test Battery* entwickelt, in welcher sie ihrem Fressfeind, der Ratte, exponiert werden (Blanchard, Griebel *et al.* 1997). Die Stimulation des periaquäduktalen Graus oder die konditionierte Unterdrückung des Trinkens (Blanchard, Griebel *et al.* 1997) stellen weitere Ansätze zur Induktion des panikartigen Verhaltens dar. Dabei korreliert das Vermeidungsverhalten der Maus mit dem von vielen Patienten subjektiv empfundenen Flucht drang während einer Panikattacke (Blanchard, Griebel *et al.* 2001; Klein 1993).

1.1.5 Tiermodelle der Depression und der Angst

1.1.5.1 Voraussetzungen für ein gültiges Tiermodell

Tiermodelle sind eine wichtige Grundlage zur Untersuchung der Zusammenhänge zwischen dem physiologischen Verhalten, dessen pathologischen Abweichungen und den zugrundeliegenden neuroendokrinen Mechanismen und somit zum Verständnis der entsprechenden Zustände beim Menschen.

Depression ist ein mannigfaltiges Krankheitsbild, das in seiner Gesamtheit tierexperimentell schwierig darstellbar ist (Cryan & Mombereau 2004). Bei den Tiermodellen der Depression untersucht man möglichst viele Teilaspekte der Krankheit wie z. B. die passive Stressbewältigungsstrategie, die mangelnde Motivation, die verminderte oder übersteigerte motorische Aktivität, das verstärkte Vermeidungsverhalten oder die Anhedonie (Willner, Muscat *et al.* 1992) und versucht, ein häufiges und im Tiermodell zuverlässig reproduzierbares und leicht messbares Symptom der Depression darzustellen (Muller & Keck 2002; Seong, Seasholtz *et al.* 2002; Ohl & Keck 2003). Man spricht von einem zuverlässigen Tiermodell, wenn das der Krankheit entsprechende Verhalten in verschiedenen Labors reproduzierbar, vom Untersucher unabhängig und zeitlich stabil ist (Willner 1997). Erstens, die Reaktion des Tieres sollte vergleichbar mit der des Menschen in einer ähnlichen Situation sein, z. B. führt eine chronische Stressexposition zu einer Verminderung der Nahrungsaufnahme bei Menschen und Tieren [Erscheinungsgültigkeit]. Zweitens, die beim Patienten wirksame Behandlung sollte im gewählten Tiermodell die entsprechenden klinisch bekannten Effekte zeigen, z. B. wirken Benzodiazepine bei Menschen und Tieren anxiolytisch [Vorhersagegültigkeit]. Drittens, die pathologische Symptomatik sollte durch dieselben neurobiologischen Mechanismen hervorgerufen werden [Konstruktgültigkeit] (Ohl 2005). Beispielsweise fällt der Dexamethason/CRH-Test als empfindlichster Indikator der HPA-Achsendysregulation sowohl bei depressiven Patienten (Heuser, Yassouridis *et al.* 1994) als auch bei den *high anxiety related behavior* (HAB)-Ratten, die ein Tiermodell für die Depression und Angststörung darstellen, pathologisch aus (Keck, Wigger *et al.* 2002).

Da ca. 99% der Gene bei Maus und Mensch übereinstimmen (Tecott 2003), ist die Maus als Modell für die Untersuchung der neurobiologischen und genetischen Grundlagen der psychiatrischen Störungen gut geeignet. Folgende Vorgehensweisen werden zur Angstinduktion bei Tieren angewandt:

(1) *Pharmakologisch* kann z. B. bei Ratten durch die Gabe von Cholecystokinin (Zanoveli, Netto *et al.* 2004) oder von Doxapram, eines CCK_B-Rezeptoragonisten (Sullivan, Apergis *et al.* 2003), Panik induziert werden.

(2) Bei *Knockout*-Tieren wird ein bestimmtes Gen ausgeschaltet und somit ein funktionsfähiges Protein nicht mehr synthetisiert (Muller, Zimmermann *et al.* 2003). Zum Beispiel führt die Ausschaltung der 5HT-Transporter- oder der 5HT_{1A}-Rezeptoren durch ein *Knockout* der entsprechenden Gene zur erhöhten Ängstlichkeit bei Mäusen (Holmes, Lit *et al.* 2003; Parks, Robinson *et al.* 1998).

(3) *Transgene* Tiere überexprimieren ein Gen und produzieren somit ein Protein im Übermaß, auf diese Weise kann man die Funktion dieses Proteins untersuchen; beispielsweise führt eine Überexpression von CRH zur erhöhten Ängstlichkeit der Tiere (Holmes, Lit *et al.* 2003; van Gaalen, Stenzel-Poore *et al.* 2002; Parks, Robinson *et al.* 1998).

Die in (2) und (3) beschriebenen Tiermodelle werden durch ihren Genotyp definiert.

(4) Der genetische Hintergrund übt einen großen Einfluss auf das Verhalten einzelner Mausstämme aus (Voikar, Koks *et al.* 2001). Die Verwendung von *Inzuchtmäusen* erlaubt es, den gewünschten Phänotyp durch Selektion zu erzeugen. Nach der Durchführung von Verhaltenstests mit jeder Mäusegeneration kreuzt man z. B. die jeweils am wenigsten ängstlichen und die explorativ aktivsten Geschwister miteinander, dabei wird dieses Phänotyp von einer Generation zur nächsten immer ausgeprägter. So ist der Stamm C57BL/6 entstanden, den wir bei unseren Versuchen verwendet haben. Sein Gegenpart ist die DBA/2-Maus, die sich durch eine hohe Ängstlichkeit auszeichnet und als ein Tiermodell für die Angsterkrankungen dient (Rodgers & Cole 1993; Trullas & Skolnick 1993; Crawley, Belknap *et al.* 1997).

1.1.5.2 Die induzierte Angst und die Charakterangst

Für die präklinische Untersuchung von Ängstlichkeit muss man zwei Arten von Angst unterscheiden. Die *state anxiety*, die induzierte Zustandsangst, ist vorübergehend und situationsgebunden; die *trait anxiety*, die Charakterangst, die meist für die Tiermodelle der Angst verwendet wird, beschreibt die Tendenz eines Individuums, mit Angst auf seine Umgebung zu reagieren und ist unabhängiger von experimentellen Bedingungen (Lister 1990). Die *state anxiety* wird durch einen aversiven Reiz ausgelöst, den Tieren wird dabei die Möglichkeit offengelassen, der

angstauslösenden Situation zu entfliehen; dieses gut messbare Vermeidungsverhalten korreliert mit der Ängstlichkeit des Tieres wie z. B. im *Dark Light Test* (DLT), *Elevated Plus Maze* (EPM) oder *Holeboard*, die gut geeignet sind, psychoaktive Substanzen zu testen (Belzung & Griebel 2001; Hascoet, Bourin *et al.* 2001; Menard & Treit 2001). Beispiele für die *trait anxiety* im Tiermodell sind DBA/2-Inzucht- (Ohl, Roedel *et al.* 2003), 5HT_{1A}-*Knockout*- (Parks, Robinson *et al.* 1998) oder CRH-überexprimierende Mäuse (van Gaalen, Stenzel-Poore *et al.* 2002). Tiere mit einer ausgeprägten Charakterangst reagieren in einer neuen Umgebung ängstlicher als jene mit einer niedrigen Angstneigung, somit interagieren beide Angstarten miteinander.

1.1.5.4 Die Interaktion zwischen dem Gedächtnis und der Angst

Viele psychische Störungen, wie z. B. die Depression oder die Angststörung, gehen mit kognitiven Beeinträchtigungen einher (Gualtieri, Johnson *et al.* 2006), so dass man sogar von einer Pseudodemenz bei einer Depression spricht (Fischer, Bailer *et al.* 2002). Diese kognitive Beeinträchtigung kann entweder nur subjektiv oder auch objektiv bestehen und ist nach der Behandlung der zugrundeliegenden Symptomatik reversibel (Yousef, Ryan *et al.* 1998). Die Patienten beklagen vor allem eine psychomotorische Verlangsamung, Gedächtnis- und Konzentrationsstörungen (Fischer 1996).

CRH-überexprimierende Mäuse sind ängstlicher als der Wildtyp und sind im Wasserlabyrinth kognitiv beeinträchtigt; dieses Defizit kann durch ein Anxiolytikum behoben werden (Heinrichs, Stenzel-Poore *et al.* 1996), was einen Zusammenhang zwischen der Angst und den Lernvorgängen zeigt.

Hypercortisolimus, der bei einer Depression oft nachweisbar ist, beeinträchtigt den Energieumsatz im für das Lernen und Gedächtnis wichtigen Hippocampus (Sapolsky, Romero *et al.* 2000). Die Interaktion zwischen der Stressantwort und den Lernvorgängen bei den C57BL/6- und DBA/2-Tieren ist insbesondere aufgrund der hippocampalen Unterschiede zwischen diesen beiden Stämmen von großem Interesse (Wimer, Wimer *et al.* 1976; Room & Groenewegen 1986; Middei, Restivo *et al.* 2004; Wehner, Sleight *et al.* 1990; Kempermann & Gage 2002).

1.1.5.5 Bekannte Ergebnisse zum Verhalten von C57BL/6- und DBA/2-Mäusen

Für unsere Experimente wurden die Inzuchtstämme C57BL/6 und DBA/2 verwendet. C57BL/6-Tiere gelten als ein exploratorisch und lokomotorisch aktiver und wenig ängstlicher Stamm (Lucki, Dalvi *et al.* 2001; Mathis, Paul *et al.* 1994; Crawley, Belknap *et al.* 1997). DBA/2-Mäuse sind ängstlich, lokomotorisch aktiv (Rogers, Jones *et al.* 1999) und aggressiv bei Verteidigung des eigenen Reviers (Selmanoff, Maxson *et al.* 1976). Die beiden Stämme unterscheiden sich außerdem im Lernverhalten (Ohl, Roedel *et al.* 2003; Ammassari-Teule & Caprioli 1985) und in der Neigung, psychoaktive Substanzen wie Alkohol oder Cocain zu konsumieren (Belknap, Crabbe *et al.* 1993; Seale & Carney 1991), was auf mögliche Unterschiede beider Stämme bei der Motivierbarkeit auf Belohnungsreize hinweist.

In den meisten Studien wie z. B. in den räumlichen Tests wie *radial-arm-maze* (Ammassari-Teule & Caprioli 1985), *four-baited-arm task* (Ammassari-Teule, Hoffmann *et al.* 1993) oder *Morris water maze* (Owen, Logue *et al.* 1997) sind DBA/2-Tiere kognitiv beeinträchtigt.

Man nimmt eine hippocampale Dysfunktion der DBA/2-Mäuse an: der Hippocampus dieses Stamms besitzt im Vergleich zum C57BL/6-Stamm weniger Pyramidalneurone (Wimer, Wimer *et al.* 1976) und eine geringere Aktivität der Proteinkinase C, die bei der klassischen Konditionierung und Langzeitpotenzierung eine wichtige Rolle spielt (Wehner, Sleight *et al.* 1990). Auch in der Funktion des Parietalcortex zeigen sich Unterschiede zwischen den beiden Stämmen: eine Läsion dieses Areals beeinträchtigt das räumliche Lernen der DBA/2-Tiere, weniger der C57BL/6-Mäuse (Ammassari-Teule, Save *et al.* 1998).

Beide Stämme unterscheiden sich weiterhin bezüglich des Gehalts und der Verteilung der monoaminergen Projektionen im Gehirn (Jones, Hou *et al.* 1996) und bezüglich des Ansprechens auf verschiedene Pharmaka: DBA/2-Mäuse zeigen eine stärkere Lokomotion nach Kokain- oder Fluoxetin-Einnahme als C57BL/6-Tiere (Crawley, Belknap *et al.* 1997; Dulawa, Holick *et al.* 2004). GABA_A-Antagonisten und Corticosteron führen zu einer Gedächtnisverbesserung bei C57BL/6-Tieren, dagegen zu einer kognitiven Verschlechterung bei DBA/2-Mäusen (Castellano, Cabib *et al.* 1996).

C57BL/6- und DBA/2-Mäuse wurden bereits mehrmals auf dem EPM getestet. In einer Studie waren DBA/2-Mäuse in diesem Test weniger ängstlich (Trullas & Skolnick 1993), dabei wurde allerdings statt dem bei uns verwendeten Tageslicht

gedämpftes rotes Licht eingeschaltet. Andere Arbeiten zeigten keinen Verhaltensunterschied auf dem EPM zwischen den beiden Stämmen (Griebel, Belzung *et al.* 2000). Vorwiegend zeigte sich jedoch eine größere Ängstlichkeit der DBA/2-Mäuse auf dem EPM (Rogers, Jones *et al.* 1999), im DLT (Crawley, Belknap *et al.* 1997) und auf dem *modified Holeboard* (Ohl, Roedel *et al.* 2003).

Auch in Bezug auf die Immobilität der von uns untersuchten Stämme im FST gibt es unterschiedliche Ergebnisse: entweder waren die C57BL/6- (Dalvi & Lucki 1999; Lucki, Dalvi *et al.* 2001; Alcaro, Cabib *et al.* 2002; Ventura, Cabib *et al.* 2002) oder die DBA/2-Tiere (Thoeringer, Sillaber *et al.* 2007) länger immobil im FST oder es zeigten sich keine Unterschiede zwischen den beiden Stämmen (David, Renard *et al.* 2003). Mögliche Gründe für diese uneinheitlichen Resultate liegen in der Laborausstattung, im Experimentenprotokoll (Petit-Demouliere, Chenu *et al.* 2005) oder in den unterschiedlichen Stammsubtypen (Siegmond, Langnaese *et al.* 2005).

Erste Publikationen zu den neurobiologischen Grundlagen der Verhaltensunterschiede beider Stämme beschreiben eine überaktive HPA-Achse beim DBA/2-Stamm (Thoeringer, Sillaber *et al.* 2007).

1.2 Cholecystokinin

1.2.1 Vorkommen und Funktionen

Cholecystokinin (CCK) zählt wie CRH, ACTH und AVP zu den Neuropeptiden. CCK wurde erstmals im Gastrointestinaltrakt nachgewiesen (Debas, Farooq *et al.* 1975), es vermittelt das Sättigungsgefühl (Smith, Gibbs *et al.* 1981; de Krom, van der Schouw *et al.* 2007) und stimuliert die exokrine Sekretion des Pankreas bei der Nahrungsaufnahme (Gardner & Jackson 1977). Es wirkt dabei auf die CCK_A- (CCK₁-) und die CCK_B- (CCK₂-) Rezeptoren (Noble, Wank *et al.* 1999).

CCK stellt das häufigste Neuropeptid im zentralen Nervensystem dar (Vanderhaeghen, Goldman *et al.* 1985; Rehfeld 1985). Es gibt unterschiedliche biologische Formen dieses Proteins wie z. B. CCK33, sulfatiertes CCK8 (CCK8s), nicht sulfatiertes CCK8, CCK7, CCK4, die alle vom gleichen Vorläufer mit 115 Aminosäuren abstammen (Noble, Wank *et al.* 1999). Besonders viel CCK enthalten Neurone des Hippocampus (Lotstra & Vanderhaeghen 1987), der Hypophyse, des Hypothalamus (Vanderhaeghen, Goldman *et al.* 1985), der Amygdala (McDonald 1985) und des Nervus vagus (Corp, McQuade *et al.* 1993). CCK ist dabei mit

anderen Neurotransmittern, insbesondere mit dem Dopamin, kolokalisiert (Hokfelt, Skirboll *et al.* 1985).

CCK8 wird an den Synapsenmembranen langsamer abgebaut als CCK4 (Deschodt-Lanckman & Bui 1981) und weist geringere Speziesunterschiede zwischen in der Affinität zum Rezeptor auf, da CCK8 im Laufe der Evolution nicht verändert wurde (Williams, Gryson *et al.* 1986; Wank 1995).

Das von uns verwendete sulfatierte CCK8s stellt die häufigste Cholecystokininform im Säugergehirn dar (Lindfors, Brene *et al.* 1991), es hat eine hohe Bindungsaffinität zum CCK₁- und eine geringere zum CCK₂-Rezeptor (Wank 1995); Bohme & Blanchard 1992).

1.2.3 Verhaltenseffekte von CCK8

Folgende Befunde sprechen dafür, dass CCK eine wichtige Rolle fürs Lernen und Gedächtnis spielt: CCK8 verzögert die Löschung des konditionierten Vermeidungsverhaltens bei Ratten (Fekete, Balazs *et al.* 1982) und verbessert die selektive Aufmerksamkeit bei gesunden menschlichen Probanden (Schreiber, Stolz-Born *et al.* 1995). Aktivierung der CCK-exprimierenden Neurone in der Sehrinde ist für das visuelle Gedächtnis wichtig (Maekawa, Nakamori *et al.* 2007).

Eine selektive Besetzung des CCK₂-Rezeptors durch CCK4 verschlechtert das Kurzzeitgedächtnis bei gesunden Probanden (Shlik, Koszycki *et al.* 1998), seine Antagonisierung erleichtert das soziale Wiedererkennen bei Ratten (Lemaire, Piot *et al.* 1992), so dass man daraus schließen kann, dass die gedächtnisfördernden Effekte durch CCK₁- und die amnestischen durch CCK₂-Rezeptoren vermittelt werden (Hadjiivanova, Belcheva *et al.* 2003).

Auch Opioide modulieren die Gedächtnisbildung (Flood, Garland *et al.* 1992). Opioidpeptid Enkephalin (Endorphin) und CCK sind in einigen Hirnregionen der Ratte, wie z. B. dem zentralen Höhlengrau, kolokalisiert (Gall, Lauterborn *et al.* 1987). CCK-Injektion in dieses Gebiet verhindert eine durch Morphin bedingte Beeinträchtigung des mütterlichen Verhaltens bei Ratten (Miranda-Paiva, Canteras *et al.* 2007). Beta-Endorphin antagonisiert den gedächtnisfördernden Effekt von CCK8; Naloxon, ein μ -Opiatrezeptorantagonist, verhindert wiederum die CCK4-induzierte Amnesie bei Ratten (Itoh, Katsuura *et al.* 1987). Im limbischen System herrscht ein feinabgestimmtes Gleichgewicht zwischen den CCK- und Opioideffekten (Hebb, Poulin *et al.* 2005).

CCK8 reduziert dosisabhängig die Glutamat-induzierte Neurotoxizität (Akaike, Tamura *et al.* 1991) und induziert die Synthese von NGF (*nerve growth factor*) und BDNF (*brain derived neurotrophin factor*) im Hippocampus (Tirassa & Costa 2007).

CCK8 wirkt anxiogen auf dem EPM (Hernandez-Gomez, Aguilar-Roblero *et al.* 2002), verstärkt die Furchtreaktion auf ein akustisches Signal (Fendt, Koch *et al.* 1995) und vermindert die Exploration bei Nagetieren (Hsiao, Katsuura *et al.* 1984). Die Exploration wird unter anderem durch CCK₁-Rezeptoren im Ncl. accumbens und in der Amygdala vermittelt (Vasar, Harro *et al.* 1993; Dauge, Dor *et al.* 1989); (Nelovkov, Areda *et al.* 2006; Harro, Kiivet *et al.* 1990). Natürlich vorkommende CCK₁-*knockout*-Ratten explorieren ihre Umgebung weniger als der Wildtypstamm (Kobayashi, Ohta *et al.* 1996).

Applikation von CCK8s i.p. und in das periäquduktale Grau verstärkt das Fluchtverhalten in einem Labyrinth (Zanoveli, Netto *et al.* 2004) und Injektion von CCK8s in den dorsalen Hippocampus wirkt anxiogen auf dem EPM bei Ratten (Rezayat, Roohbakhsh *et al.* 2005).

1.2.4 Cholecystokinin und die Panikstörung

Viele Forschungsergebnisse lassen eine Rolle von CCK bei Entstehung von Panikstörung vermuten. Anxiolytika und Antidepressiva, die bei einer Panikstörung wirksam sind, verstärken die CCK-Immunoreaktivität in den limbischen Hirnregionen der Ratte (Brodin, Ogren *et al.* 1994).

In Zellkultur des periäquiduktalen Graus wirkt CCK8s mittels Depolarisation und des intrazellulären Calciumanstiegs exzitatorisch an der Synapse (Yang, Chung *et al.* 2007). In der basolateralen Amygdala verstärkt CCK die inhibitorische Transmission der GABA-ergen Neurone (Chung & Moore 2007).

Bei Konfrontation mit dem Geruch ihres Fressfeindes steigt bei Nagetieren die CCK-mRNA-Expression in der Amygdala (Hebb, Zacharko *et al.* 2003), bei Stressexposition steigt die Anzahl der CCK-haltigen Neurone im PVN (Barakat, Pape *et al.* 2006; Kim, Whang *et al.* 2003).

Beim Menschen induziert CCK4, welches selektiv an die CCK₂-Rezeptoren bindet, dosisabhängig Panikattacken (de Montigny 1989). Panikpatienten reagieren dabei auf niedrigere Dosierungen als psychisch Gesunde (Bradwejn, Koszycki *et al.* 1990; Bradwejn, Koszycki *et al.* 1991). Die Gabe von CCK führt zu subjektiver Angstempfindung, Steigerung der Hautleitfähigkeit (Radu, Ahlin *et al.* 2003), Anstieg

des Blutdrucks und der Herzfrequenz (Bradwejn, Koszycki *et al.* 1992), Hyperventilation (Bradwejn, LeGrand *et al.* 1998) und gastrointestinaler Symptomatik in Form von Übelkeit, Erbrechen oder Durchfall (de Montigny 1989). Die körperlichen Veränderungen entsprechen somit weitgehend denen während der klassischen Panikinduktion durch das Kohlendioxid (Bradwejn & Koszycki 1991). Die induzierte Symptomatik geht dabei mit einer verstärkten Durchblutung der Amygdala, des anterioren Gyrus cinguli, des Temporallappens und des Vermis cerebelli einher (Benkelfat, Bradwejn *et al.* 1995). Möglicherweise wirkt CCK4 auch auf der Hirnstammebene (Gunnarsson, Mahoney *et al.* 2003). Panikogene Substanzen beeinflussen auf unterschiedliche Art und Weise die HPA-Achse: während CCK4 (Strohle, Holsboer *et al.* 2000; Zwanzger, Eser *et al.* 2007) sie aktiviert, führen die klassischen panikogenen Substanzen Laktat und CO₂ zu keinen Veränderungen (Keck & Strohle 2005).

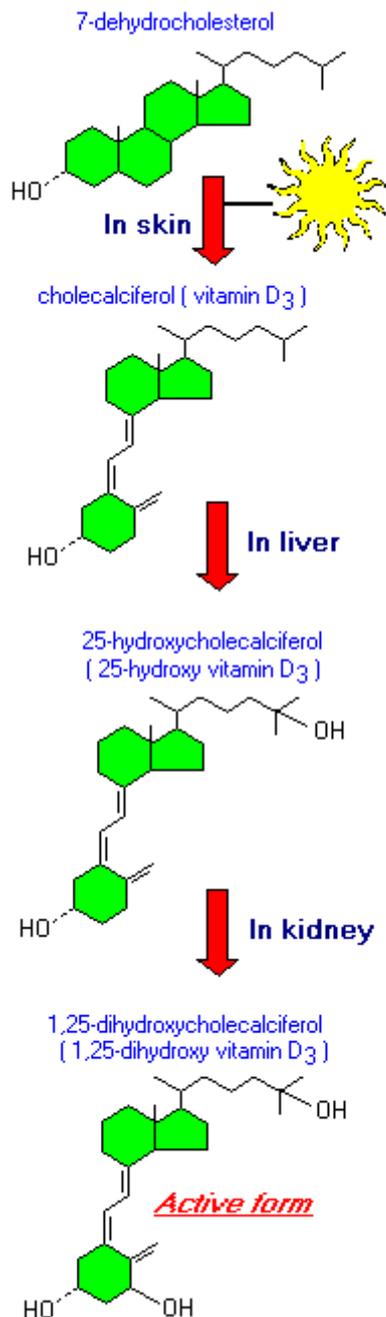
Die bei CCK4-Gabe entstehende Paniksymptomatik kann durch Antidepressiva wie Imipramin (Bradwejn & Koszycki 1994) oder SSRI (Shlik, Aluoja *et al.* 1997; van Megen, Westenberg *et al.* 1997), Benzodiazepine (de Montigny 1989; Zwanzger, Eser *et al.* 2003) oder CCK₂-Antagonisten (Bradwejn, Koszycki *et al.* 1994) verhindert werden.

Beim Menschen wurde eine signifikante Assoziation zwischen dem CCK₂-Rezeptorpolymorphismus und der Panikstörung gefunden (Kennedy, Bradwejn *et al.* 1999). Eine japanische Studie entdeckte eine Häufung des Haplotypen (-81G/-128T) des CCK₁-Rezeptors bei Panikpatienten (Miyasaka, Yoshida *et al.* 2004). Solche CCK-Rezeptorpolymorphismen könnten zur Anfälligkeit für die Panikstörung beitragen (Maron, Nikopentius *et al.* 2005).

Menschen mit einer Panikstörung haben niedrigere CCK8-Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis als gesunde Probanden, dies könnte eine gesteigerte CCK-Rezeptor-Sensitivität oder eine kompensatorische CCK8-Erniedrigung bei erhöhten CCK4-Spiegeln widerspiegeln (Lydiard, Ballenger *et al.* 1992).

1.3 Vitamin D

1.3.1 Chemische Struktur und Synthese



Die wichtigsten Vertreter der Calciferole oder D-Vitamine sind das Colecalciferol und das Ergocalciferol. Ihre chemische Struktur, Wirkungsweise und biochemische Eigenschaften ähneln den Steroidhormonen, zu denen auch Sexualhormone, Cortisol oder Aldosteron gehören (Novak & Potts 1997; Christakos, Raval-Pandya *et al.* 1996). Colecalciferol und Ergocalciferol entstehen in der Haut aus ihren Provitaminen, 7-Dehydrocholesterin und Ergosterol. Die UV-Strahlung katalysiert die Spaltung des Ringes B des Steranskeletts, danach erfolgen dessen Hydroxylierungen in der Leber (25-OH) und in der Niere (1-OH) (Abb.3). Die 1-Hydroxylierung findet zwar hauptsächlich in der Niere (Zehnder & Hewison 1999), aber auch in anderen Geweben (Zehnder, Bland *et al.* 2001) statt. Die im Organismus am meisten vertretene Form des Vitamins D bei physiologischer Einfuhr ist das 25-Hydroxycholecalciferol; bei gezielter 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Gabe wird dieses im Fettgewebe und in der Leber gespeichert und langsam als 25-Hydroxycholecalciferol freigesetzt (Heaney, Armas *et al.* 2008), die Halbwertszeit beträgt bis zu 30 Tage.

Abbildung 3: Synthese des aktiven 1,25-Dihydroxycholecalciferols.
(übernommen von R. Bowen).

1.3.2 Vom Vitamin D-Rezeptor (VDR) zur Wirkung des Vitamins D

Vitamin D bindet an seinen Rezeptor im Zytoplasma, der entstandene Komplex bindet an die DNA im Zellkern und reguliert durch die Interaktion mit den sogenannten *Vitamin D responsive elements* in der Promotorregion der Zielgene deren Expression (Brown, Dusso *et al.* 1999; Christakos, Raval-Pandya *et al.* 1996) (Abb.4). Auf diese Weise wird z. B. die Transkription des Gens für Parathyroidhormon (PTH) unterdrückt (Demay, Kiernan *et al.* 1992).

Vitamin D-Rezeptor (VDR) ist somit ein Transkriptionsfaktor. Es liegt meist als ein heterodimerer Komplex mit dem Retinoid X- Rezeptor (RXR), der auch zur Gruppe der Kernrezeptoren gehört, vor (Carlberg & Saurat 1996). Retinoidsäure moduliert die Bildung des Heterodimers (Schrader, Muller *et al.* 1994) (Abb.3). VDR befinden sich v.a. in der Leber und Niere, im Darm und im Knochen (Haussler 1986).

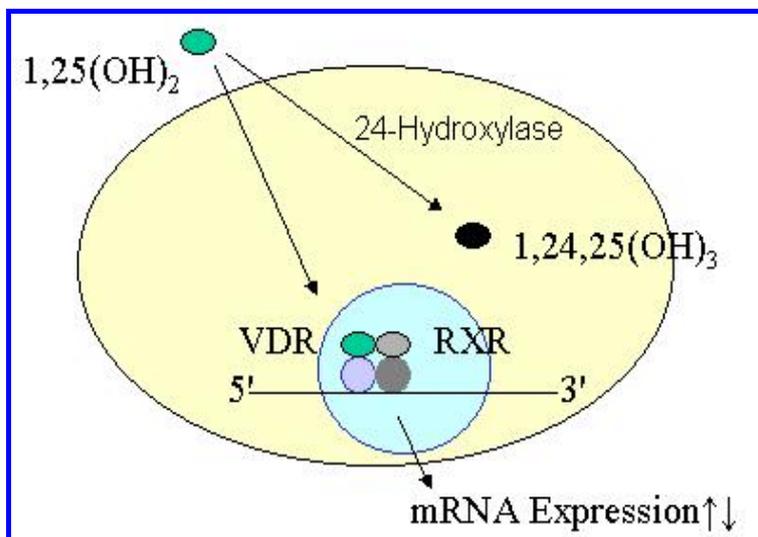


Abbildung 4: Vitamin D als Transkriptionsfaktor im Zellkern.

Neben dem Kernrezeptor bindet Vitamin D auch an einen Zelloberflächenrezeptor, welcher sekundäre Signalwege (*second messenger pathways*) aktiviert, die wiederum die Aktivität des kernständigen VDR modulieren (Brown, Dusso *et al.* 1999). Der Oberflächenrezeptor kann direkt (Yukihiro, Posner *et al.* 1994) oder durch eine Aktivierung der Proteinkinase C (Nemere, Schwartz *et al.* 1998) die Calciumkanäle vom L-Typ aktivieren, die auf diese Weise ähnlich den Glucocorticoidhormonrezeptoren die schnellen Steroidwirkungen vermitteln. So moduliert das Neurosteroid Colecalciferol die Erregbarkeit der Neurone (Zakon 1998).

1.3.3 Kontrolle der Synthese

Die wichtigste Kontrolle der Synthese von Vitamin D obliegt der 1 α -Hydroxylase, die die Synthese von 1,25-Dihydroxyvitamin D aus dem 25-Hydroxycalciferol katalysiert (Hewison, Zehnder *et al.* 2000). In erster Linie wird die Aktivität dieses Enzyms durch den Parathormonspiegel im Blut bestimmt, welcher wiederum vom Calcium- und Phosphatspiegel abhängt (Armbrecht, Hodam *et al.* 1999). Aber auch andere Hormone wie Östrogen (van Hoof, van der Mooren *et al.* 1999), Prolaktin (Mortensen, Gordeladze *et al.* 1993) oder das Wachstumshormon (Gomez 2006; Tryfonidou, Holl *et al.* 2003; Mortensen, Gordeladze *et al.* 1993) fördern die Colecalciferol-Synthese. Vitamin D hemmt durch einen negativen *feedback*-Mechanismus seine eigene Synthese, fördert andererseits die Synthese der VDR (Baas, Prufer *et al.* 2000). Die 24-Hydroxylase, die durch hohe Spiegel von Vitamin D induziert wird, katalysiert die Synthese des inaktiven Trihydroxycalciferols 1,24,25(OH) D_3 (Naveilhan, Neveu *et al.* 1993) (Abb.4).

Das Stresshormon Corticosteron steigert die Aktivität der 24-Hydroxylase und vermindert die der 1-Hydroxylase in Nierenzellkultur (Trechsel, Bonjour *et al.* 1979), es hemmt somit die Synthese und fördert den Abbau von aktivem Dihydroxycalciferol. Ein Mangel an aktivem Vitamin D könnte also zu den stressbedingten Veränderungen im Organismus beitragen.

1.3.4 Funktionen im Organismus

Die am besten erforschte Funktion des Vitamins D ist die Regulation des Calcium- und Phosphat-Haushalts. Colecalciferol fördert durch die Zunahme der Genexpression der Calciumtransportproteine die Calcium- und Phosphatresorption im Darm, dadurch werden die Osteoblasten und die Osteoklasten aktiviert und der Knochenumbau begünstigt (DeLuca 2004).

Bis vor wenigen Jahrzehnten dachte man, dass die Funktion von Vitamin D sich damit erschöpft. Jedoch wird Colecalciferol lokal in unterschiedlichsten Geweben produziert, es reguliert das Zellwachstum (Matilainen, Malinen *et al.* 2005), das Immunsystem (Manolagas, Hustmyer *et al.* 1989), wirkt antiproliferativ, fördert die Zelldifferenzierung (Masuda & Jones 2006; Holt, Bresalier *et al.* 2006; Gavrillov, Steiner *et al.* 2005; Dixon, Deo *et al.* 2005; Yildiz, Kars *et al.* 2005; Brown 2001; Moore, Sidell *et al.* 1995; Baudet, Chevalier *et al.* 1996), stabilisiert Chromosomen, reguliert Protoonkogene und induziert Apoptose (Chatterjee 2001).

Vitamin D wirkt antiinflammatorisch durch den antiproliferativen Effekt auf die B-Lymphozyten (Lemire, Adams *et al.* 1984), die T-Helfer-Zellen vom Typ 1 (Lemire 2000), die antigenpräsentierenden und die dendritischen Zellen (Adorini 2002) sowie durch eine Abnahme der proinflammatorischen (Furman, Baudet *et al.* 1996) und eine Zunahme der antiinflammatorischen Zytokine (Cantorna, Woodward *et al.* 1998).

Durch eine Modulation des Renin-Angiotensin-Systems (Holick 2003) hat Vitamin D günstige Effekte bei kardiovaskulären Erkrankungen (Reinhart 2004). Möglicherweise wirken die cholesterinsenkenden Statine unter anderem durch eine indirekte Erhöhung des Vitamin D-Spiegels präventiv bezüglich dieser Erkrankungen (Perez-Castrillon, Vega *et al.* 2007).

1.3.5 Versorgung und Mangelerscheinungen

Vitamine können vom Körper größtenteils nicht selbst hergestellt werden, aufgrund der Lebensnotwendigkeit dieser Substanzen ist man auf eine Zufuhr mit der Nahrung angewiesen. Calciferole sind im Fisch (vor allem im Lebertran), in Milchprodukten, im Eigelb und in Speisepilzen enthalten. Ergosterol, die Vorstufe des Vitamins D₂, ist in manchen Pflanzen sowie in Hefen enthalten. 7-Dehydrocholesterin wird vom Organismus selbst synthetisiert und stellt die Ausgangsverbindung für die Biosynthese der Steroidhormone Östrogen, Testosteron, Progesteron, Aldosteron, Cortisol und Dihydroxycolecalciferol dar. Somit ist Vitamin D kein Vitamin im eigentlichen Sinne, sondern ein Steroidhormon, das mit Hilfe der Sonneneinstrahlung vom Körper synthetisiert werden kann (Abb. 3).

Vitamin D-Mangelerscheinungen äußern sich bei Kindern als Rachitis, Muskelschwäche oder eine schlechte Zahnbildung (Gartner & Greer 2003), bei Erwachsenen kommt es durch eine ungenügende Knochenmineralisierung zu Osteomalazie und Osteoporose (Levis, Gomez *et al.* 2005; Holick 2004). Möglicherweise liegt einigen unspezifischen muskuloskelettalen Schmerzsyndromen ein Mangel an Vitamin D zugrunde (Mascarenhas & Mobarhan 2004). Experimentell führt eine an Vitamin D arme Ernährung zur erhöhten Inzidenz verschiedener Autoimmunerkrankungen wie rheumatoider Arthritis, multipler Sklerose, Diabetes mellitus oder Morbus Crohn (Cantorna & Mahon 2004).

Vitamin D-Mangelerscheinungen sind auch heutzutage keine Seltenheit (Abrams 2002; Levis, Gomez *et al.* 2005). Höheres Alter (Mosekilde 2005), Schwangerschaft (Bassir, Laborie *et al.* 2001), dunkle Haut (Weisberg, Scanlon *et al.* 2004), schwere

Nieren- oder Lebererkrankung oder Fettmalabsorption (Levis, Gomez *et al.* 2005) prädisponieren für einen Vitamin D-Mangel. Eine mangelnde Sonneneinstrahlung kann durch einen hohen Konsum des an Vitamin D reichen Fischöls kompensiert werden (Brustad, Sandanger *et al.* 2004). Der empfohlene Tagesbedarf liegt bei 100 bis 1000 IE (Internationale Einheiten) Vitamin D je nach Sonneneinstrahlung, die der Hauptlieferant von Colecalciferol ist (Gartner & Greer 2003; Vieth & Fraser 2002). Vitamin D-Mangel wird durch Messung des 25-Hydroxyvitamin D-Spiegels im Blut festgestellt. Dieser Wert sollte über 30 ng/ml liegen, um eine ausreichende Calciumresorption im Darm zu gewährleisten und die Aktivität der 1-Hydroxylase zu erhalten (Holick 2004). Diese Konzentration wird bereits durch eine 10-minütige Sonnenexposition der Arme und des Gesichts mehrmals pro Woche erreicht (Holick 2004).

1.3.6 Vorkommen von Vitamin D und seinen Rezeptoren im Nervensystem

Vitamin D und seine Metaboliten kommen in der Zerebrospinalflüssigkeit vor (Balabanova, Richter *et al.* 1984). Neurone und Mikroglia können Colecalciferol mit Hilfe der 1-Hydroxylase selbst herstellen (Zehnder, Bland *et al.* 2001; Neveu, Naveilhan *et al.* 1994). Dieses Enzym kommt im Zytoplasma vieler Hirnregionen vor, mit größter immunhistochemischer Dichte im Hypothalamus, insbesondere im SON, PVN und in der Substantia nigra (Eyles, Smith *et al.* 2005). Meistens koexistieren die 1-Hydroxylase im Zytoplasma und die VDR im Zellkern in denselben Hirnstrukturen (Eyles, Smith *et al.* 2005). VDR wurden mehrfach im Gehirn der Nagetiere nachgewiesen (Prufer, Veenstra *et al.* 1999; Musiol, Stumpf *et al.* 1992), mit besonders hoher Dichte in der Entwicklungsphase (Veenstra, Prufer *et al.* 1998). Im limbischen System der Ratten (Prufer, Veenstra *et al.* 1999), z. B. im Hippocampus (Langub, Herman *et al.* 2001; McGrath, Saari *et al.* 2004), in der Amygdala und im Hypothalamus, somit in den Hirnstrukturen, die das Verhalten, die Emotionen und das Gedächtnis beeinflussen, sind VDR zahlreich (Walbert, Jirikowski *et al.* 2001). VDR findet man auch im Rückenmark der Nagetiere, insbesondere in den Motoneuronen und Spinalganglien, somit könnte Vitamin D direkt die Innervation der Skelettmuskulatur beeinflussen (Stumpf, Clark *et al.* 1988). Ihr Vorkommen in der menschlichen Hypophyse bedeutet möglicherweise, dass Vitamin D die Expression und Sekretion der Hypophysenhormone reguliert (Perez-Fernandez, Alonso *et al.* 1997). Die Neuronenkerne und Gliazellen der grauen Substanz des menschlichen

Gehirns enthalten ebenfalls große Mengen an VDR (Eyles, Smith *et al.* 2005; Garcion, Wion-Barbot *et al.* 2002).

1.3.7 Wirkungen von Vitamin D im Gehirn

Eine besonders große Rolle spielt Vitamin D bei der Hirnentwicklung. Die Nachkommen von mit Vitamin D unzureichend ernährten Ratten haben einen dünnen Cortex, vergrößerte Seitenventrikel, stärker proliferierende Glia und Neurone und eine verminderte Expression von *nerve growth factor* (NGF) und *glial cell line derived neurotrophic factor* (GDNF) sowie eine geringere Expression von nichtselektiven Neurotrophin - Rezeptoren p75^{NTR} im Gehirn (Veenstra, Prufer *et al.* 1998; Eyles, Brown *et al.* 2003). Die Anzahl der VDR korreliert mit den Apoptosevorgängen im Rahmen der Hirnentwicklung bei Nagetieren (Ko, Burkert *et al.* 2004).

Die Zunahme der Inzidenz des Autismus wird einem pränatalen Vitamin D-Mangel zugeschrieben (Cannell 2007). Eine pränatale Vitamin D-Hypovitaminose bei Ratten beeinträchtigt die Expression der Proteine, die für die oxidative Phosphorylierung, die Erhaltung des Zytoskeletts, den Calciumhaushalt, die synaptische Plastizität und die Neurotransmission wichtig sind und auch bei multipler Sklerose oder Schizophrenie dysreguliert sind (Almeras, Eyles *et al.* 2007). Besonders ein Vitamin D-Mangel im letzten Trimenon der Schwangerschaft kann die Hirnentwicklung des Ungeborenen beeinträchtigen (O'Loan, Eyles *et al.* 2007) und zur Entstehung von Depression (Berk, Sanders *et al.* 2007) oder Schizophrenie (McGrath 1999) beitragen. Interessanterweise kommen sowohl Schizophrenie als auch Vitamin D-Mangel gehäuft bei dunklen Immigranten, in den Großstädten und bei einer Mangelernährung in utero vor (McGrath 1999). Vitamin D-Supplementierung im ersten Lebensjahr reduziert bei Männern das Risiko, später an Schizophrenie zu erkranken (McGrath, Saari *et al.* 2004). Ein kombinierter pränataler und postnataler Vitamin D-Mangel beeinträchtigt die Hemmung der akustischen Schreckreaktion durch einen Vorimpuls bei Ratten, diese mangelnde Reizunterdrückung stellt einen biologischen Marker der Schizophrenie dar (Burne, Feron *et al.* 2004; McGrath, Saari *et al.* 2004; Becker, Eyles *et al.* 2005). Die Prävalenz von Vitamin D-Mangel ist bei Patienten mit multipler Sklerose (Nieves, Cosman *et al.* 1994), Schizophrenie, Depression und Alkoholismus im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung erhöht, was aber auch auf Umweltfaktoren wie Immobilisation, Mangelernährung oder mangelnde Lichtexposition zurückgeführt werden kann (Schneider, Weber *et al.* 2000).

Zentrale oder systemische Vitamin D-Gabe steigert die Aktivität der Acetylcholintransferase im Hypothalamus (Sonnenberg, Luine *et al.* 1986). Colecalciferol aktiviert Protein kinase C, beeinflusst Calciumkanäle und somit die Neuronenerregbarkeit (Nemere, Schwartz *et al.* 1998).

Zu den neuroprotektiven Eigenschaften von Vitamin D trägt die Induktion der Synthese von NGF und von GDNF in Astrozyten *in vitro* und *in vivo* bei (Neveu, Naveilhan *et al.* 1994; Saporito, Brown *et al.* 1994; Naveilhan, Neveu *et al.* 1996). Außerdem hemmt Colecalciferol die Stickoxidsynthetase, die mit entzündlichen Erkrankungen assoziiert ist (Garcion, Nataf *et al.* 1997), hebt den Glutathionspiegel an (Garcion, Thanh *et al.* 1996) und reguliert die gamma-Glutamyltransferase (Garcion, Thanh *et al.* 1996), was seine Beteiligung an Entgiftungsprozessen nahelegt (Garcion, Wion-Barbot *et al.* 2002). Vitamin D reduziert Infarktgröße bei einer künstlichen Ligatur der Arteria cerebri media (Wang, Chiang *et al.* 2000) sowie den durch Verabreichung neurotoxischer Substanzen wie z.B. 6-Hydroxydopamin (Wang, Wu *et al.* 2001), Eisen (Chen, Lin *et al.* 2003) oder Zink (Lin, Fan *et al.* 2003) entstandenen Hirnschaden bei Ratten. Eine chronische Vitamin D-Gabe verzögert das hippocampale Altern bei Ratten: die behandelten Tiere haben eine höhere Neuronendichte noch Monate später als die Vehikeltiere (Landfield & Cadwallader-Neal 1998). Verabreichung von Vitamin D an Mäuse mit experimentell induzierter Enzephalomyelitis (*experimental autoimmune encephalomyelitis* = EAE), die als Tiermodell für multiple Sklerose dient, führt zur reversiblen Besserung klinischer Symptomatik (Cantorna, Woodward *et al.* 1998; Cantorna, Hayes *et al.* 1996). Vitamin D vermindert die apoptotische Dexamethasonwirkung auf hippocampale Zellen *in vitro*, was für einen Antagonismus dieser Neurosteroiden im Hippocampus spricht (Obradovic, Gronemeyer *et al.* 2006).

1.3.8 VDR-Knockout-Mäuse

Mäuse mit fehlenden VDR zeigen im Vergleich zum Wildtyp mehr *grooming*-Verhalten, sie betreten seltener das helle Abteil im DLT und sind somit ängstlicher als der Wildtyp (Kalueff, Lou *et al.* 2004).

Bei intakten Sinnesorganen zeigen VDR-Knockout-Mäuse vermehrt Angst in einer neuen Umgebung (*Neophobie*) (Minasyan, Keisala *et al.* 2007) sowie verändertes Nestbau- (Keisala, Minasyan *et al.* 2007), soziales und mütterliches Verhalten (Kalueff, Keisala *et al.* 2006).

Aufgrund der verminderten Muskelkraft (Burne, Johnston *et al.* 2006) zeigen VDR-*knockout*-Mäuse im FST ein gestörtes *floating*-Verhalten (Kalueff, Lou *et al.* 2004) und im *Holeboard*-Test eine verminderte motorische Aktivität (Burne, McGrath *et al.* 2005).

1.3.9 Einfluss von Vitamin D auf die Stimmung

Die Jahreszeitenabhängigkeit des Wohlbefindens beim Menschen reicht von jeglicher Unempfindlichkeit über die winterliche depressive Verstimmung bis zur sogenannten saisonalen Depression (Spoont, Depue *et al.* 1991), welcher angesichts mangelnder winterlicher Sonneneinstrahlung möglicherweise ein Vitamin D-Mangel zugrunde liegt (Stumpf & Privette 1989). Colecalciferol ist bei dieser Erkrankung therapeutisch wirksam (Gloth, III, Alam *et al.* 1999).

Die Wirkung der Lichttherapie bei der Behandlung des prämenstruellen Syndroms (Parry, Mahan *et al.* 1993) erfolgt möglicherweise über das Vitamin D, welches den Serotoninhaushalt normalisiert (Stumpf & Privette 1989) beziehungsweise die vermutete Calciumdysregulation beseitigt (Thys-Jacobs 2000).

Vitamin D hebt Stimmung bei gesunden Probanden (Lansdowne & Provost 1998) und verbessert dosisabhängig die Befindlichkeit der Menschen mit einem 25-Hydroxyvitamin D-Mangel in den Wintermonaten, wobei in dieser Studie aus ethischen Gründen keine Placebogruppe geprüft wurde (Vieth, Kimball *et al.* 2004). Ein Vitamin D-Mangel bei älteren Individuen oder bei Fibromyalgie-Patienten geht mit einem signifikant höheren Risiko für affektive und kognitive Störungen einher (Wilkins, Sheline *et al.* 2006; Armstrong, Meenagh *et al.* 2007). Auch bei Patienten mit sekundärem Hyperparathyreoidismus korreliert ein niedriger 25-Hydroxyvitamin D-Spiegel mit stärkerer Depressivität (Jorde, Waterloo *et al.* 2006). Genetische Untersuchungen zeigen, dass die Varianz des VDR die Kognition und die Depressivität im hohen Alter beeinflusst (Kuningas, Mooijaart *et al.* 2007). Eine Vitamin D-Supplementierung zeigt jedoch keinen Effekt auf das Befinden älterer Männer (Kenny, Biskup *et al.* 2003) oder älterer Frauen (Dumville, Miles *et al.* 2006) in anderen Studien.

1.4 Paroxetin

1.4.1 Die Monoaminmangelhypothese der Depression

Nach der Monoaminmangelhypothese kann ein Mangel an serotonerger, dopaminerger und noradrenerger Transmission eine depressive Symptomatik auslösen (Schildkraut 1995; Jefferson 2008). Eine verbesserte monoaminerge Neurotransmission ist die gemeinsame Endstrecke chronischer Einnahme der klassischen Antidepressiva (Blier, de Montigny *et al.* 1987; Mongeau, Blier *et al.* 1997). Durch einen künstlichen Entzug des Serotoninvorläufers Tryptophan aus der Nahrung kann eine Verschlechterung der Stimmung bei Gesunden oder sogar ein Rückfall der remittierten Depressionserkrankung bei Patienten beobachtet werden (Bell, Abrams *et al.* 2001).

Das serotonerge System und die HPA-Achse regulieren das Angst- und Depressionsverhalten (Holsboer 2000; Millan 2004), diese beiden Systeme hängen funktionell eng zusammen (McAllister-Williams, Ferrier *et al.* 1998; Asan, Yilmazer-Hanke *et al.* 2005) Tierstudien zeigen, dass Stress die zentrale serotonerge Transmission beeinflusst (Linthorst, Penalva *et al.* 2002; Price, Curtis *et al.* 1998). Langzeiterhöhung des CRH vermindert die Serotoninfreisetzung im dorsalen Hippocampus der Mäuse nach einem akuten Stressstimulus (Linthorst, Flachskamm *et al.* 2000) und vermindert die Expression von 5HT_{1A}-mRNA im Hippocampus (Lopez, Chalmers *et al.* 1998; Meijer & de Kloet 1994). Menschen mit zwei kurzen Allelen der Promotorregion des Serotonintransporter-Gens, die mit einer verminderten Verfügbarkeit von Serotonin verknüpft ist, zeigen eine größere Wahrscheinlichkeit für eine depressive Episode nach Exposition mehreren belastenden Lebensereignissen als Menschen mit zwei langen Allelen (Caspi, Sugden *et al.* 2003). Aufgrund dieser Interaktionen zwischen dem serotonergen System und der HPA-Achse ist es interessant, wie ein serotonerg wirksames Antidepressivum die HPA-Achse beeinflusst.

1.4.2 Wirkungsweise, Indikationen und Nebenwirkungen des Paroxetins

Paroxetin gehört zur Gruppe der selektiven Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (SSRI) (Tanigaki, Manno *et al.* 1987), die heute zu den am meisten verschriebenen Antidepressiva zählen. Es blockiert den Serotonintransporter und hemmt damit die Serotonin-Wiederaufnahme aus dem synaptischen Spalt (Baumann 1996). Eine chronische SSRI-Gabe führt zur 5HT_{1A}-Autorezeptor-Desensibilisierung und somit zur Erleichterung der serotonergen Transmission (Bourin, Chue *et al.* 2001). Auch

wenn die Dichte der 5HT_{1A}-Rezeptoren unverändert bleibt, werden verschiedene G-Proteine herunterreguliert (Li, Muma *et al.* 1997), so dass eine tonische Aktivierung der 5HT_{1A}-Rezeptoren erfolgt (Haddjeri, Blier *et al.* 1998). Diese Vorgänge führen zur klinischen Besserung der Depression (Stahl 1998).

Die Wirkung von Paroxetin setzt erst nach ca. zwei Wochen ein, was zeitlich mit den Veränderungen der neuronalen Plastizität und der Genexpression korreliert (Pei, Zetterstrom *et al.* 2003). Paroxetin wird unter anderem bei der Therapie der Depression (Montgomery 1992; Montgomery, Dunner *et al.* 1995) und der Panikstörung (Tucker, Adamson *et al.* 1997) verwendet. Als Nebenwirkungen sind vor allem Übelkeit (Ueda, Yoshimura *et al.* 2003) und sexuelle Funktionsstörungen (Modell, Katholi *et al.* 1997; Waldinger, van De *et al.* 2002) bekannt. Paroxetin kann auch zu Absetzsymptomatik (Coupland, Bell *et al.* 1996), Induktion einer Manie (Morishita & Arita 2003), Hyponatriämie (Strachan & Shepherd 1998) oder Anorexie mit Gewichtsverlust (Konkle, Sreter *et al.* 2003) führen.

1.4.3 Verhaltenseffekte bei Nagetieren

Eine akute Paroxetingabe reduziert die Immobilität von Mäusen im FST (Redrobe, Bourin *et al.* 1998). Eine fünftägige Behandlung mit Paroxetin bewirkt ebenfalls eine Zunahme von aktivem *Stress-Coping* in diesem Test (Akagawa, Masuda *et al.* 1999). Im *Tail Suspension Test* (TST) führt Paroxetin sowohl bei DBA/2- als auch bei C57BL/6-Mäusen zu einer Verminderung der Immobilität (Ripoll, David *et al.* 2003).

In manchen Studien hat Paroxetin keinen Einfluss auf die lokomotorische Aktivität bei DBA/2- und C57BL/6-Mäusen (Yamamoto, Shibata *et al.* 1989; Hirano, Kimura *et al.* 2005), in anderen wird die Lokomotion bei beiden Stämmen gesteigert (Brocco, Dekeyne *et al.* 2002; David, Renard *et al.* 2003).

Paroxetingabe eliminiert Ultraschalllaute, die junge Ratten bei sozialer Isolation äußern (Winslow & Insel 1990). Im Modell für depressionsähnliches Verhalten der HAB- und LAB-Ratten normalisiert eine chronische Paroxetinbehandlung bei ängstlichen HAB-Ratten das passive *Stress-Coping*-Verhalten im FST, die serotonerge Neurotransmission im Hippocampus sowie die dysregulierte HPA-Achse im kombinierten Dexamethason-/CRH-Test, wohingegen die in diesem Paradigma als normal angesehenen LAB-Tiere unbeeinflusst bleiben (Keck, Sartori *et al.* 2005).

1.5 Fragestellungen

Unser erstes Experiment diente dazu, durch eine akute Gabe von CCK8, welchem eine große Rolle bei der Entstehung von Angst und Panik zugesprochen wird (Harro, Vasar *et al.* 1993), ein Tiermodell der Panik zu etablieren. Entsprechende Effekte wurden bei Ratten durch eine akute CCK8-Gabe erzielt (Zanoveli, Netto *et al.* 2004). Bei Menschen wirkt das CCK₂-Rezeptor-selektive CCK4 panikogen (Bradwejn, Koszycki *et al.* 1990; Bradwejn, Koszycki *et al.* 1991; de Montigny 1989). Außerdem sind Assoziationen zwischen den CCK-Rezeptorpolymorphismen und der Panikstörung bekannt (de Montigny 1989; Kennedy, Bradwejn *et al.* 1999; Miyasaka, Yoshida *et al.* 2004). Uns interessierte auch der Einfluss von CCK auf das Gedächtnis, wozu es kaum Voruntersuchungen gibt.

Desweiteren wollten wir den Einfluss von Vitamin D auf Angst und depressionsähnliches Verhalten sowie Motorik im Tiermodell untersuchen. Da es nur wenige Publikationen zum Einfluss von Vitamin D auf das Gedächtnis gibt (Becker, Eyles *et al.* 2005; Burne, McGrath *et al.* 2005), überprüften wir die Hypothese der Gedächtnisverbesserung durch chronische Gabe von Vitamin D in einem kognitiv orientierten Test bei zwei Mausstämmen, die sich durch ein unterschiedliches Lernverhalten (Ammassari-Teule & Caprioli 1985; Ammassari-Teule, Hoffmann *et al.* 1993) auszeichnen.

Zusätzlich wurden die Effekte von Vitamin D auf das Verhalten mit denen von Paroxetin oder von Kombinationsbehandlung in zwei emotional unterschiedlichen Mausstämmen DBA/2 und C57BL/6 verglichen (Mathis, Paul *et al.* 1994; Rogers, Jones *et al.* 1999).

Im letzten Experiment untersuchten wir die Expression von CRH im PVN und in der Amygdala und von AVP im PVN und SON nach den Verhaltenstests und nach der Behandlung mit Paroxetin und / oder Vitamin D bei den C57BL/6- und DBA/2-Tieren. PVN wurde als der Hauptort der CRH-Synthese und der AVP-Coexpression (Antoni 1993) und als eine wichtige Umschaltstelle der angstvermittelnden Bahnen ausgewählt (Scott & Dinan 1998). Amygdala war für uns wegen ihrer Rolle sowohl bei Angst- und Panikzuständen als auch bei Depression (Gorman, Kent *et al.* 2000) interessant, SON als ein wichtiger Teil der Hypothalamus-Neurohypophysen-Achse (Abb.2).

2 MATERIALIEN UND METHODEN

2.1 Tiere und Tierhaltung

Die gesamten Tierversuche wurden von der Regierung Oberbayern nach §9 Abs.1. Satz 4 des Tierschutzgesetzes genehmigt. Es wurden männliche C57BL/6J01aHsd (C57BL/6)- und DBA/201aHsd(DBA/2)-Inzuchtmäuse verwendet (Harlan Winkelmann GmbH, Borcheln, Deutschland). Nach der Ankunft wurden die Tiere einzeln in Plexiglaskäfigen (30x20x14cm) im Experimentalraum des Tierstalls des Max Planck Instituts für Psychiatrie gehalten. Die Temperatur betrug $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, die Luftfeuchtigkeit $60\pm 5\%$. Bei einem 12 Stunden Licht-Dunkel-Rhythmus war das Licht zwischen 6 Uhr und 18 Uhr eingeschaltet. Futterpellets (Altromin 1314, Lage, Deutschland) sowie das Wasser aus den Trinkflaschen waren frei zugänglich. Der Käfigwechsel sowie die Gewichtsmessungen fanden einmal pro Woche durch dieselbe Person, die auch die Versuche durchgeführt hat, statt. Das Alter der naiven Tiere betrug 7 Wochen bei der Ankunft und 8-11 Wochen beim ersten Verhaltenstest, da die Tiere sich an die neue Umgebung gewöhnen und eventuell zusätzlich einer chronischen pharmakologischen Behandlung unterzogen werden mussten. Die Adaptationszeit sollte auch einen möglichen Einfluss des Transports auf das spätere Verhalten ausgleichen (Crabbe, Wahlsten *et al.* 1999).

2.2 Medikamente

2.2.1 Herkunft und Verabreichungsmodus

Alle Medikamentenlösungen wurden vor der Verabreichung frisch zubereitet. CCK8 (Asp-Tyr(SO₃H)-Met-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH₂) wurde bei der Firma Sigma-Aldrich (Munich, Germany), Vitamin D (Vigantol Öl, Wirkstoff Colecalciferol) bei der Firma Merck, Deutschland, bezogen. Paroxetin wurde freundlicherweise von GlaxoSmithKline (Middlesex, United Kingdom) zur Verfügung gestellt. CCK wurde i.p. in 0,3 ml Injektionsvolumen 30 Minuten vor dem jeweiligen Versuch gegeben. Sowohl Paroxetin als auch Vitamin D wurden nach der dreitägigen Gewöhnung der Tiere an die neue Darreichungsart um dieselbe Uhrzeit frisch zubereitet und oral verabreicht: Paroxetin in einer gewichtsadaptierten Trinkmenge Wasser (ca. 5 ml pro Tag) in einer lichtgeschützten Flasche und Vitamin D in Erdnussöl (ca. 1,3 µl) auf zerkleinerten Knäckebrötchen.

2.2.2 Dosisfindung

Für Cholecystokinin wurde die Dosis etwas niedriger als in den vorhandenen Publikationen gewählt (Fink, Rex *et al.* 1998; Wang, Wong *et al.* 2005), da in den Pilotversuchen eine Dosierung von 20 µg/kg zu einer starken Hyperlokomotion der Mäuse führte, so dass das Verhalten nicht näher auswertbar war (nicht veröffentlichte Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe).

Die Dosis von Paroxetin lag im oberen Bereich der Publikationen anderer Autoren (Redrobe, Bourin *et al.* 1998; Lucki, Dalvi *et al.* 2001).

Bei der Dosisfindung von Vitamin D mussten wir berücksichtigen, dass die aktive Form des Vitamins bei einer Überdosierung aufgrund der Hyperkalzämie toxisch wirkt. Die Hyperkalzämie kommt durch eine Erhöhung der intestinalen Calciumresorption, der renalen Calciumrückresorption und der osteoklastischen Freisetzung aus dem Knochen zustande und führt zur Entstehung der Calciumphosphate, die sich in den Organen ablagern. Die Dosis des aktiven 1,25-Dihydroxycholecalciferols, die für 50% der behandelten Mäuse tödlich ist, beträgt bei oraler Gabe ca. 20,1 µg/kg/Tag nach 5 Tagen (Wietrzyk, Pelczynska *et al.* 2004).

Die Dosis von 0,0625 µg Vitamin D ist bei Nacktmäusen die maximale kumulative Dosis, die keine Hyperkalzämie verursacht (Vegeasna, O'Kelly *et al.* 2002).

Da wir in unserer Studie das noch inaktive Colecalciferol verabreichten, war eine Überdosierung weniger wahrscheinlich. Zur Sicherheit bestimmten wir den Calciumspiegel bei allen Mäusen und betrachteten makroskopisch Niere und Leber, um eventuelle Verkalkungen festzustellen. Die höchste kumulative Dosis, die wir verabreichten, betrug ca. 4 µg Colecalciferol pro Maus und führte zu keiner Hyperkalzämie.

2.3 Verhaltensexperimente

2.3.1 *Elevated Plus Maze* (EPM)

Aufbau: EPM wurde 1985 von File und Mitarbeitern eingeführt (Pellow, Chopin *et al.* 1985). Es besteht aus zwei sich kreuzenden Platten (60x10x0,5 cm) aus grauem Plexiglas. Die Arme sind durch eine Plattform (10x10 cm) verbunden. Zwei sich gegenüberliegende Arme sind durch 25 cm hohe durchsichtige Plexiglaswände seitlich und am Ende geschlossen (Anseloni, Motta *et al.* 1995). Die beiden anderen ragen ohne jegliche Begrenzung in den Raum. Dadurch gibt es 3 verschiedene Bereiche, in denen sich eine Maus aufhalten kann: zwei offene, zwei geschlossene

Arme und eine Plattform in der Mitte, auf die das Tier am Anfang des Tests gesetzt wird (Abb.5). Das Kreuz des EPM ist auf einem Ständer 70 cm über dem Boden montiert. Diese Höhe hält die Maus vom Hinabspringen ab, führt aber bei einem Sturz zu keiner Verletzung. Die natürliche Aversion der Maus gegenüber den offenen, exponierten Armen steht im Konflikt zu ihrem Explorationstrieb (Carola, D'Olimpio *et al.* 2002). Je ängstlicher eine Maus ist, desto mehr Zeit verbringt sie in den geschlossenen Armen des EPM und verzichtet auf die Exploration der offenen Arme (Lister 1987). Das Verhalten auf dem EPM wird sowohl durch die Zustandsangst (Andreatini & Bacellar 2000) als auch durch die Charakterangst einer Maus bestimmt (Crawley, Belknap *et al.* 1997).

Versuchsdurchführung: Die Versuche werden zwischen 8:00 und 13:00 Uhr durchgeführt, wobei der Ablauf auf ein Videoband aufgezeichnet und gleichzeitige Phänotypisierung mit dem Programm Observer 5.0 (Noldus, Wageningen, Holland) erfolgt. Nach 5 Minuten wird der Test beendet.



[A]



[B]

Abbildung 5: [A] *Elevated Plus Maze* mit einer DBA/2-Maus auf dem offenen Arm; [B] mit einer C57BL/6-Maus auf der Plattform.

Verhaltensparameter: Man registriert die Dauer des Aufenthaltes in den verschiedenen Bereichen (*open arm*, *closed arm*, *open end* = Ende des offenen Arms, *platform*) sowie die Latenz bis zum Betreten derselben. Die *stretched attends*, oder das Strecken, wobei die Maus, statt sich fortzubewegen, ihren Körper streckt, um ihre Umgebung vorsichtig zu erkunden, und das Putzverhalten, *grooming*, stellen ebenfalls Ängstlichkeitsparameter dar (Blanchard, Yudko *et al.* 1993; Kalueff & Tuohimaa 2004). Die Lokomotion wird durch die Zahl der Eintritte in die verschiedenen Arme erfasst. Die Ratio von Eintritten in die offenen Arme zu allen Eintritten ist ein empfindlicher Indikator für die Ängstlichkeit, denn sie korrigiert den

möglichen Einfluss der Lokomotion auf die Eintritte in die offenen Arme. Das Ausmaß an Exploration wird durch die Zahl der *rearings*, bei denen sich die Maus auf die Hinterpfoten stellt, um ihre Umgebung zu erkunden, und der *head dips*, wobei das Tier seinen Kopf unter die Ebene der EPM-Arme absenkt, bestimmt.

2.3.2 Das modifizierte *Holeboard* (mHb)

2.3.2.1 Der Objekterkennungstest

Aufbau: Das *Holeboard* wurde ursprünglich entwickelt, um das Explorationsverhalten der Nagetiere zu untersuchen (File & Wardill 1975). Das modifizierte *Holeboard* (mHb) verbindet die Eigenschaften von *open field* und *holeboard* und erlaubt die gleichzeitige Messung von Ängstlichkeit, Lokomotion, Motivation und Kognition (Ohl, Holsboer *et al.* 2001). Der Aufbau des *Holeboards* ist an die lokomotorischen und feinmotorischen Fähigkeiten der Nagetiere angepasst, so dass man das natürliche Verhalten der Tiere beurteilen kann, ohne ihre Motivation, z. B. durch einen Nahrungsentzug, steigern zu müssen.

Das mHb befindet sich in einem PVC-Behälter (100x50x50cm), dessen Boden mit einem hellgrauen Klebeband (0,5cm breit) in zwölf Rechtecke (25x17cm) unterteilt ist. Im zentralen Bereich befindet sich *board* aus dem identischen PVC (60x20x1cm) mit 23 gebohrten Löchern (\varnothing 1,5cm; 0,5cm Tiefe), die jeweils versetzt zueinander in 3 Reihen angeordnet sind. Alle Löcher sind mit einem PVC-Deckel bedeckt, welcher auf dem *board* befestigt ist. Die Deckel lassen sich von einer Maus leicht zur Seite drehen und erlauben dem Tier einen freien Zugang zu dem darunter liegenden Loch. Dieses *Holeboard* wurde nur im Cholecystokinin-Experiment verwendet.

Versuchsdurchführung: Der mHb-Test wird vormittags in der Ruhephase der Mäuse bei einer Lichtstärke von 300 Lux durchgeführt. Die Verhaltensparameter werden während des laufenden Versuches direkt über die Tastatur in das Programm Observer 5.0 (Noldus, Wageningen, Holland) eingegeben. Zusätzlich werden die Versuche mit einer Kamera auf ein Videoband aufgezeichnet. Drei Tage vor dem mHb-Test wird in jeden Käfig ein rotes Dreieck aus Gummi (1,5x1,5x1,5cm) gelegt, welches später im Test als bekanntes Objekt gilt und einen Tag vor dem Verhaltenstest wieder entfernt wird. Zu Beginn des Versuchs wird die Maus in eine Ecke des mHb gesetzt. Nach jedem Versuchsdurchlauf von 5 Minuten wird das mHb und die *box* gereinigt, um für alle Tiere dieselben Testvoraussetzungen zu schaffen und eine Ablenkung durch den Geruch fremder Mäuse auszuschließen.

Verhaltensparameter werden entsprechend den früheren Arbeiten (Ohl, Holsboer *et al.* 2001) bestimmt. Da die Mäuse offene Flächen bei der Exploration der neuen Umgebung meiden und bevorzugt an den Wänden entlanglaufen (dieses Phänomen nennt man Thigmotaxis), werden die Latenz bis zum Betreten des *boards*, die dort verbrachte Zeit und die Anzahl der Eintritte als Angstparameter gewertet. *Stretched attends* (Strecken) sowie *grooming* (Putzen) stellen weitere Ängstlichkeitsparameter dar. Die generelle, ungerichtete Exploration wird durch die Anzahl von *rearings* (ein Aufrichten des Körpers), die gerichtete Exploration durch die Anzahl der besuchten Löcher und die Latenz bis zu deren Exploration erfasst. Die lokomotorische Aktivität wird anhand der Anzahl der Linienübertritte (*line crossings*) und der Häufigkeit der *box-* bzw. *board-* Eintritte erfasst.

Die Maus interessiert sich aufgrund ihres Explorationstriebes mehr für ein unbekanntes als für ein bekanntes Objekt. Eine höhere Frequenz und eine längere Dauer der Exploration des unbekanntes Objekts gelten als Indizien dafür, dass die Maus sich an das bekannte Objekt erinnert. Diese Parameter dienen somit der Erfassung des deklarativen Gedächtnisses, welches dem Abspeichern und dem Abrufen von Informationen über die Umwelt dient (Squire & Zola 1996).

2.3.2.1 Der Lernkurventest

Aufbau: Für den Lernkurventest wird das oben beschriebene *Holeboard* herausgenommen und durch ein kleineres Brett aus PVC (35x17,5x0,5cm) ersetzt, auf welchem 10 offene Zylinder aus grauem PVC (Ø3,2cm, 3cm hoch) in 2 Reihen parallel angeordnet sind (Abb.6).

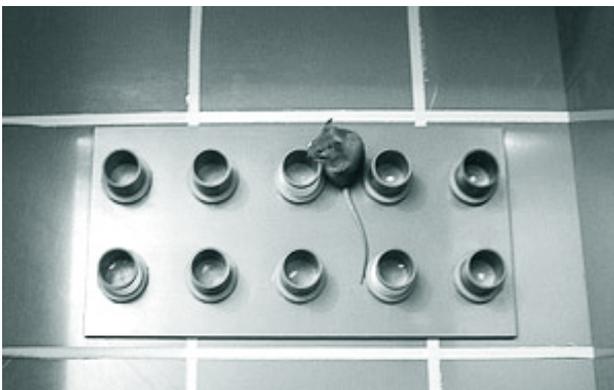


Abbildung 6: MHb für die Lernkurve mit einer C57BL/6-Maus (übernommen von F.Ohl).

Versuchsdurchführung: Die Lernkurve wird ab 18 Uhr in der Aktivitätsphase der Mäuse bei 30 Lux Lichtstärke durchgeführt. Zur Steigerung der Motivation werden

die Löcher mit einer Vanillelösung bestrichen. An drei Tagen vor dem Lernkurventest wird der Maus einmal täglich ein Stück Mandel verabreicht, damit sie sich an das neue Futter gewöhnt. Alle Löcher des mHb werden mit Mandelstückchen versehen, und mit einem feinmaschigem Plastiknetz bedeckt, drei auf dem Netz liegende Mandelstücke bleiben für die Maus als Futterbelohnung frei zugänglich. Dadurch soll verhindert werden, dass die Tiere allein mit Hilfe ihres Geruchssinnes die Futterbelohnung finden können. Die Nummern der besuchten Löcher werden über die Tastatur eingegeben.

Pro Tag werden 4 Versuche mit jeder Maus durchgeführt (Tab.1). Am ersten Tag sind bei allen 4 Versuchen die mit Mandeln versehenen Löcher durch einen weißen Pflasterstreifen markiert, die Tiere sollen die Verknüpfung zwischen der Markierung und der Mandel herstellen. Am zweiten Tag werden die Markierungen der Löcher entfernt, die Mäuse müssen sich nun an die vormals markierten Löcher erinnern und die Mandeln finden. Am dritten und vierten Tag wird die Reihenfolge der mit den Mandelstückchen belegten Löcher geändert, so dass die Mäuse erneut die Verknüpfung zwischen der neuen Markierung und der Mandel herstellen sollen. Am fünften Tag bleibt die Reihenfolge der Markierungen vorerst unverändert, in den letzten zwei Versuchsdurchläufen dieses Tages wird die Futterbelohnung entfernt und das Tageslicht angemacht, dabei wird die Stressreaktion der Tiere überprüft (Tab.1).

Tag	1	2	3	4	5	
Versuche	1,2,3,4	5,6,7,8	9,10,11,12	13,14,15,16	17,18 19,20	
Löchersequenz	1,4,8		3,7,10	2,5,9		
Bedingung	mit	ohne	mit Markierungen			Licht, ohne Mandeln
	Markierungen					

Tabelle 1: Versuchsplanung für die kognitive Testung (Lernkurve). Die gleichen Farben stellen die gleichen Versuchsbedingungen dar.

Verhaltensparameter: Beim Lernkurventest sollen die Tiere durch die visuell-räumliche Assoziation lernen, visuell markierte Löcher mit Futterbelohnung zu verbinden und bevorzugt solche Löcher zu besuchen.

Das deklarative, explizite Gedächtnis speichert Informationen über die Umgebung und wird über das limbische System, v.a. den Hippocampus, vermittelt (Squire & Zola 1996). Der Besuch eines nicht markierten Loches (*wrong choice*) wird als ein Fehler des deklarativen Gedächtnisses gewertet. Die nicht besuchten markierten Löcher

gelten als Auslassungsfehler (*omissions*) und stellen ebenfalls Fehler des deklarativen Gedächtnisses dar, zeigen aber auch die Motivation der Tiere, die Futterbelohnung zu suchen, an.

Die Veränderung der Sequenz der Löcher am 3. und am 4. Tag dient dazu, den automatisierten, nicht deklarativen Gedächtnisprozess auszuschließen. Dieses, auch implizit genanntes Gedächtnis umfasst unbewusst erlernte Sachverhalte wie z. B. motorische Fertigkeiten und ist nicht an kognitive Vorgänge gebunden. Es bildet sich langsam heraus, führt zu einer verbesserten Lösung einer Aufgabe nach vielen Wiederholungen und wird vor allem durch die Basalganglien vermittelt (Squire & Zola 1996).

Die Wiederholungen (*repeated choice*), die in einem Besuch eines bereits geleerten Loches bestanden, werden als Arbeitsgedächtnisfehler, d.h. als eine mangelnde Fähigkeit zur zeitlich begrenzten Speicherung oder Abrufung von Informationen, gewertet (Goldman-Rakic 1996).

Zusätzlich werden im Lernkurventest die Parameter entsprechend dem mHb mit Objekterkennung gemessen: die Zeit in Prozent auf dem *board*, die Latenz des *board*-Eintritts und des *grooming*, die Anzahl der Linienübertritte, der *stretchings* und aller Eintritte. Nach dem Auffinden der letzten Futterbelohnung oder nach der maximalen Versuchsdauer von 5 Minuten wird der Test beendet. Somit dient die Versuchsdauer als ein Indikator für die Motivation und die Lernleistung der Tiere, die umso ausgeprägter sind, je schneller die Maus alle 3 futterbesetzten Löcher findet.

2.3.3 Das Rotarod

Mit dem Rotarodtest, welcher 1957 eingeführt wurde (DUNHAM & MIYA 1957), werden die motorische Geschicklichkeit und der Gleichgewichtssinn einer Maus gemessen (Crawley 1999). Diese wird auf einen unbeweglichen Zylinder mit ca. 3 cm Durchmesser aufgesetzt. Zuerst werden 2 Probedurchläufe mit einer niedrigen Drehzahl (5 Umdrehungen pro Minute) durchgeführt (Abb.7). Anschließend wird die Drehzahl für den eigentlichen Versuch eingestellt (5, 10 und 20 Umdrehungen pro Minute). Um nicht hinunterzufallen, muss die Maus ständig auf der Stelle treten. Wenn sie auf den ca. 15 cm weiter unten befindlichen Boden fällt, wird dies von einer automatischen Zeituhr registriert. Nach maximal 120 Sekunden wird der Zylinder gestoppt und die nächsthöhere Frequenz eingestellt. Wir haben die Latenz bis zum Fall bei jeder der oben genannten Frequenzen gemessen.

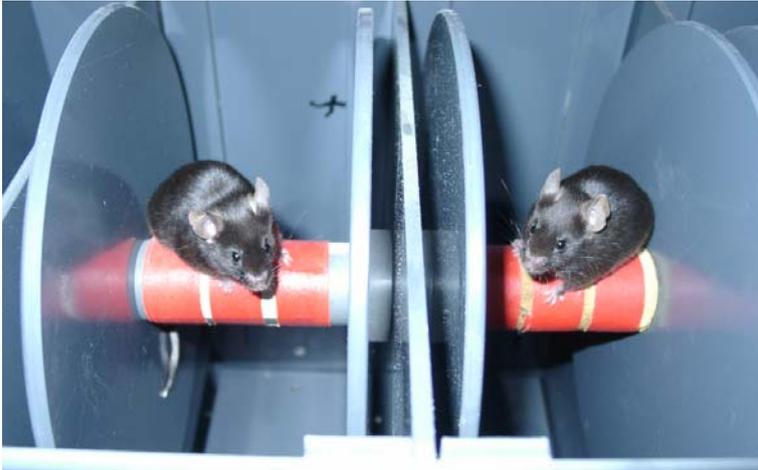


Abbildung 7: Der Rotarod-Test mit zwei C57BL/6-Mäusen.

2.3.4 Temperaturmessung

30 Minuten nach der i.p. Injektion von Cholecystokinin wird unmittelbar vor dem *Dark Light Test* die Temperatur der C57BL/6-Tiere gemessen, indem ein Infrarotthermometer von Linear Laboratories (Modell TherMonitor C-1600) im gleichen Abstand von 30 cm zum Bauch jeder auf den Tisch angelegten Maus gehalten wird.

2.3.5 Dark-Light Test (DLT)

Aufbau: *Dark-Light-Box* besteht aus einem Kasten aus schwarzem PVC, in welches die Maus am Beginn des fünfminütigen Versuchs gesetzt wird, und aus einem hellen, doppelt so großen Bereich aus weißem PVC, welches zusätzlich mit einer 700 Lux Lampe ausgeleuchtet wird (Abb.8). Beide Bereiche sind durch zwei Wände getrennt, in deren unterem Bereich ein verbindender Tunnel ausgespart ist. DLT wurde als eine Methode zur Untersuchung der anxiolytischen Effekte der Benzodiazepine eingeführt (Crawley & Goodwin 1980; Kilfoil, Michel *et al.* 1989). Er beruht auf einem Konflikt zwischen der angeborenen Abneigung der Nagetiere, sich in hell erleuchteten Arealen aufzuhalten und dem Drang, eine neue Umgebung zu explorieren (Hascoet, Bourin *et al.* 2001).



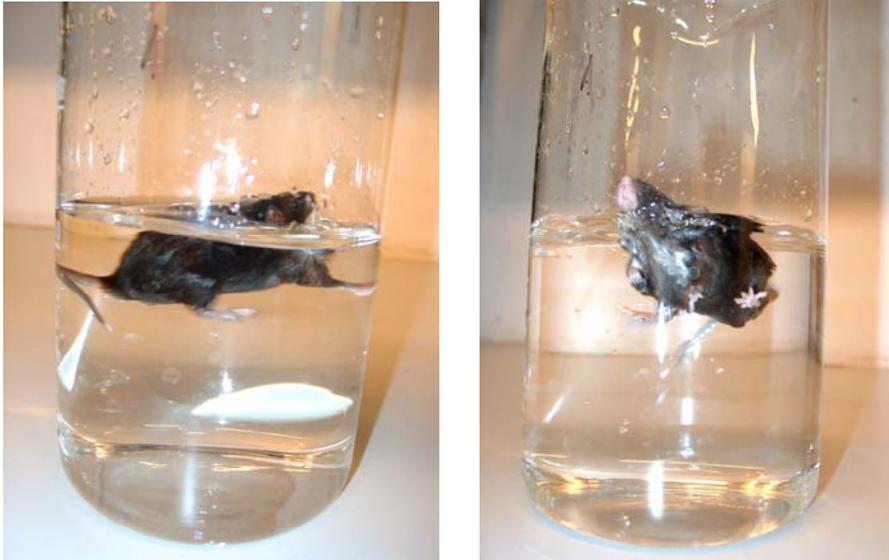
Abbildung 8: Dark-Light Box mit einer C57BL/6 Maus.

Verhaltensparameter: Die Ängstlichkeit der Tiere wird anhand der Aufenthaltsdauer in der hellen, in der dunklen Box oder im Tunnel sowie anhand der Anzahl der *stretched attends* und der Dauer des *grooming*-Verhaltens gemessen. Die Exploration wird durch die Zahl der *rearings* und die Häufigkeit des Wechsels zwischen den Boxen erfasst, sie wird durch die Ängstlichkeit und die lokomotorische Grundaktivität des Mausstamms beeinflusst (Bourin & Hascoet 2003).

2.3.6 Forced swimming Test (FST)

Aufbau: Dieser Test, der einen physischen mit einem psychischen Stressor kombiniert, gilt als klassischer Test zum *Screening* von Antidepressiva (Porsolt, Bertin *et al.* 1977). Die Maus wird in ein Becherglas gesetzt ($\varnothing 12,5\text{cm}$), welches bis zur Höhe von 12 cm mit 23°C warmem Leitungswasser gefüllt ist. Die Maus kann dabei nicht den Boden des Glases berühren oder aus dem Glas klettern (Abb.9).

Versuchsdurchführung: Der Versuch wird vormittags zwischen 6:30 und 9:00 Uhr durchgeführt. Das Verhalten der Maus wird auf einem Videoband festgehalten und gleichzeitig mit dem Programm Observer 5.0 (Noldus, Wageningen, Holland) auf einem Computer registriert.



A

B

Abbildung 9: Forced Swimming Test: (A) mit einer schwimmenden, (B) mit einer passiv treibender (*floating*) C57BL/6-Maus.

Im FST wird die Zeit in Prozent bei 3 möglichen Verhaltensparametern gemessen. Die aktivste *Stress-Coping*-Strategie stellt das Klettern (*struggling*) dar, wobei die Maus stoßweise alle 4 Pfoten bewegt; die Vorderpfoten erheben sich über die Wasseroberfläche, der Körper ist senkrecht im Wasser: die Maus versucht aktiv, zu entkommen. Beim Schwimmen (*swimming*) bewegt die Maus gleichmäßig die Hinterpfoten bei waagrechter Körperhaltung im Wasser, die Vorderpfoten werden dabei meist vor die Brust gelegt (Abb.9 A). *Floating* oder Immobilität gilt als passive Stressbewältigungsstrategie (Cryan, Markou *et al.* 2002), dabei lässt sich die Maus passiv im Wasser treiben, nur leichte Bewegungen einzelner Pfoten dienen der Aufrechterhaltung des Gleichgewichts (Abb.9B). Die Abnahme der *floating*-Zeit korreliert mit der klinischen Wirkung der Antidepressiva (Porsolt, Bertin *et al.* 1977). Wir führten den FST nach dem EPM-Test durch, da FST als ein Versuch mit hoher Stresskomponente das Ergebnis eines nachfolgenden EPM negativ beeinflussen könnte (Andreatini & Bacellar 1999).

2.4 Blut-, Hirn- und Organentnahme

Im Experiment mit chronischer Vitamin D-Gabe werden die Mäuse 3 Stunden nach dem FST zur Untersuchung der HPA-Achsenparameter nach einer Stresserfahrung oder 5 Tage nach dem Lernkurventest zur Bestimmung der Basalwerte der HPA-Achse, im Experiment mit der Kombinationsbehandlung 3 Stunden nach dem FST

getötet. Die Tiere werden in einem separaten Raum mit Isofluran (Curamed Pharma, Karlsruhe, Deutschland) kurz anästhesiert und rasch dekapitiert. Das Thorakalblut, das später der ACTH-, Corticosteron- und eventueller Calcium- und Paroxetinbestimmung dient, wird in einem gekühlten heparinisierten Röhrchen aufgefangen und auf Eis gelagert. Dieser Prozess muss vor dem täglichen physiologischen Anstieg des ACTH- und Corticosteronspiegels gegen 11 Uhr abgeschlossen sein (Atkinson & Waddell 1997). Das gewonnene Blut wird bei 4°C 15 Minuten lang bei 3000 U/Min zentrifugiert und das Plasma abpipettiert. Für die Corticosteronbestimmung werden 10 µl mit 1,4 ml PBS (Phosphat Buffer Saline) vermischt; für die ACTH-Messung werden 50 µl Plasma in eine Eppendorf-Tube entnommen, der Rest wird für die sofortige Calciumbestimmung herangezogen. Die anderen Proben werden bis zur weiteren Analyse bei -20°C gelagert. Alle Gruppen eines Experimentes werden im selben Ansatz gemessen.

Das Gehirn wird herauspräpariert, im -30°C kaltem Methylbutan (RothGmbH, Karlsruhe, Deutschland) fixiert und auf Trockeneis bei -80°C schockgefroren und gelagert. Zusätzlich werden den Mäusen nach einem queren Bauchschnitt ein Stück der Leber sowie eine Niere zur Beurteilung der eventuellen pathologischen Verkalkungen durch die Vitamin D-Behandlung entnommen.

2.5 Radioimmunoassay (RIA)

Zur quantitativen Bestimmung von ACTH und Corticosteron im Blutplasma der Mäuse wurde das Radioimmunoassay (RIA) verwendet. Bei diesem Verfahren wird das zu messende Antigen zusammen mit einer bekannten Menge des radioaktiv markierten Antigens mit einem spezifischen Antikörper zusammengebracht. Die beiden Antigene konkurrieren dabei um dieselbe Bindungsstelle am Antikörper. Nach der Zentrifugation und dem Dekantieren der ungebundenen Antigene wird durch die Zugabe eines zweiten Antikörpers (sog. Doppelantikörpermethode) die radioaktive Strahlung mit Hilfe eines Gammazählers gemessen.

Für den quantitativen Test muss zunächst eine geeignete Konzentration von Antikörpern bestimmt werden. Dazu wird für das entsprechende Serum eine Verdünnungsreihe angelegt. Mit Hilfe einer Reihe von Inkubationen mit bekannten Konzentrationen des Antikörpers wird die Standardkurve zur Bestimmung der Konzentration einer Substanz in Proben erstellt.

Plasma-Corticosteron und Plasma-ACTH werden mit einem kommerziell erhältlichen Radioimmunoassay Kit (ImmuChem Double Antibody Corticosteron bzw. humanes Adrenocorticotropes Hormon (hACTH), Biomedicals Germany GmbH, Eschwege) gemessen. Die ermittelten Bindungswerte in Prozent werden in einem halblogarithmischen Diagramm gegen die ACTH- oder Corticosteronkonzentration aufgetragen. Je höher die Konzentration des Antigens im Serum war, desto weniger radioaktiv markiertes Antigen kann gebunden werden. Aus der Standardkurve kann man die Konzentration der Substanz im Serum ableiten. Das Intra-Assay-Variationskoeffizient beträgt ca. 7% für Corticosteron und 5% für ACTH, die Inter-Assay-Präzision ca. 7% für Corticosteron und 7% für ACTH.

2.6 In-situ Hybridisierung

Die Hirne werden am Kryostat (Reichert-Jung, 2800 Frigocut E) bei -16°C in $18\ \mu\text{m}$ dicke Schichten geschnitten, die folgende Strukturen einschliessen: PVN, SON, Amygdala und Hippocampus. Die Schnitte werden auf Superfrost Plus Objektträger aufgezogen (Super Frost Plus, Menzel Gläser, Merck, Ismaning, Deutschland). Zum Schutz vor Kondenswasserbildung werden sie dann auf einer Wärmeplatte (30°C) entdampft und für die weitere Verwendung bei -80°C aufbewahrt.

Die In-situ-Hybridisierung beruht auf der Bindung einer radioaktiv markierten cDNA- oder cRNA-Probe an eine komplementäre Nukleinsäuresequenz, die dann radiographisch sichtbar gemacht und mittels eines computergestützten Bildanalyseverfahrens quantitativ ausgewertet wird. Somit kann bei Kenntnis der Nukleinsäuresequenz die mRNA-Expression eines beliebigen Gens bestimmt werden.

Die von uns verwendeten ^{35}S -UTP (CRH)- oder ^{35}S -ATP (AVP)-markierte cRNA-Proben binden an die entsprechende komplementäre CRH- und AVP-Sequenz. Für AVP wird z. B. die folgende cDNA Probe verwendet: 5'-GCA GAA GGC CCC GGC CGG GTC CAG CTG CGT GGC GTT GCT CCG GTC-3', die am 3' Ende radioaktiv markiert, dann mit tRNA, Wasser, Ammoniumacetat und Ethanol gereinigt und über Nacht bei -20°C eingefroren wird. Am nächsten Tag wird der Hybridisierungsmix auf die Objektträger mit Hirnschnitten aufgetragen, wobei je 2 Objektträger im Sandwich zueinander gelagert werden. Nach einer Inkubationszeit von 20 Stunden bei 42°C werden die Objektträger je 4 Mal 15 Minuten lang in *standard saline citrat* und ddH₂O gewaschen, in vergälltem Ethanol dehydriert und an der Luft getrocknet. Die

entstehende Bindung der cRNA-Probe an die Hirnschnitte wird radioaktiv nachgewiesen und auf Kodak Biomax Filmen (Eastman Kodak Co, Rochester, NY) sichtbar gemacht. Die quantitative Analyse erfolgt unter der Verwendung eines Bildanalyseprogramms NIH Image (<http://rsb.info.nih.gov>) durch die automatische Messung der optischer Dichte, die der Anzahl der Silberkörner proportional ist. Das ausführliche Vorgehen ist bei (Schmidt, Oitzl *et al.* 2003) beschrieben.

2.7 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) diente in unseren Versuchen der Paroxetinbestimmung (Eisensamer, Uhr *et al.* 2005). Bei dieser Methode wird das Analysat mit Hilfe eines Lösungsmittels in seine Einzelsubstanzen aufgetrennt. Die Probe wird über einen Injektor in die Probenschleife eingespritzt und bei konstanter Flussgeschwindigkeit durch die Säule transportiert. Die Trennung der Komponenten erfolgt durch die unterschiedliche Affinität der Substanzen an die stationäre Phase. Je stärker sie ist, desto später tritt die Substanz aus der chromatographischen Säule aus. Die Substanzen werden konzentrationsabhängig detektiert und mit Hilfe eines Schreibers sichtbar gemacht.

Nach dem Auftauen der Plasmaproben werden 0,1 ml einer Standardlösung und 1 ml des 2 M NaOH Puffer zu 0,4 ml Plasma addiert und durchmischt. Danach werden 5 ml n-Hexan mit 1,5% Isoamylalkohol zugegeben und die Proben 20 Minuten lang bei Raumtemperatur durchmischt. Nach 15-minütigen Zentrifugation bei 4000 rpm wird der Aufsatz in ein Röhrchen mit 0,25 ml der 0,18 M Phosphorsäure zugegeben, 20 Minuten lang durchmischt und bei 4000 U/min 10 Minuten lang zentrifugiert. Die organische Schicht wird verworfen und gleicher Anteil der wässrigen Phase wird in die chromatographische Säule injiziert. Die Extraktionsrate beträgt über 80%. Die mobile Phasen A (0,22% Orthophosphorsäure, mit 6 M NaOH auf pH 3,5 gebracht) und B (Acetonitril) werden 15 Minuten lang in einem Ultraschallbad dekantiert. Die Säulentemperatur beträgt 60°C und der Fluss der mobilen Phase 1,0 ml/min. Der Mobilphasengradient wird für die chromatographische Analyse von Paroxetin verwendet, welches durch Fluoreszenz bei 220/305nm Wellenlänge bestimmt wird.

Für HPLC-Analyse wurden ein Merck L-7480 Fluoreszenzdetektor (Darmstadt, Germany) und eine Beckman Gradientenpumpe 126 mit einem Autoinjektor 508 verwendet. Die Trennungen wurden an der Säule von Phenomenex, Torrance, USA, durchgeführt.

2.8 Statistik

Die statistischen Auswertungen wurden mit Hilfe der Software „SPSS 12.0“ durchgeführt. Alle ermittelten Daten werden mit einer 1-Faktoren- (Behandlung), 2-Faktoren- (Stamm und Behandlung) oder Mehrfaktorenvarianzanalyse (Stamm, Behandlung und Versuch) analysiert. Die post-hoc ANOVA bzw. der Bonferroni-Test wurden im Falle einer Signifikanz durchgeführt. Die Lernkurvendaten wurden als multivariate Varianzanalyse mit Messwiederholung für jede einzelne Versuchsbedingung ausgewertet, um den Einfluss von drei Faktoren Stamm, Behandlung und Wiederholung auf das Lernverhalten aufzudecken. Als signifikant wurde ein Unterschied gewertet, wenn $p < 0.05$ war.

2.9 Experimentenprotokolle

2.9.1 Experiment 1: Auswirkung einer akuten systemischen CCK8-Gabe auf das Verhalten der C57BL/6-Mäuse

Wir untersuchten, ob eine systemische Gabe von CCK8, der im Säugerhirn am häufigsten vorkommenden und im Laufe der Evolution am stärksten konservierten und langlebigsten Form von Cholecystokinin, eine Paniksymptomatik bei Mäusen auslöst. Nach einer akuten i.p. Gabe von 2, 5 und 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Körpergewicht CCK8 oder Vehikel an je 10 C57BL/6-Mäuse wurden jeweils 30 Minuten nach der Injektion folgende Tests an randomisierten Tieren durchgeführt:

- Modifiziertes *Holeboard*
- 5 Tage später EPM
- 9 Tage später Temperaturmessung und DLT.

2.9.2 Experiment 2: Auswirkung einer chronischen oralen Vitamin D-Gabe auf das Verhalten der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse

In unseren Experimenten untersuchten wir mit Hilfe verschiedener Verhaltensparadigmen den Einfluss einer chronischen Vitamin D-Gabe auf das Verhalten von zwei unterschiedlich ängstlichen Mausstämmen. Nach Futtergewöhnung bekamen 20 Tiere jedes Stamms 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$ Vitamin D und 20 weitere Tiere jedes Stamms Vehikel. Von jeder dieser Gruppen wurden 10 Tiere folgender Versuchsreihe zugeführt:

- EPM-Test am 19.Tag der Behandlung,
- Rotarod am 21.Tag der Behandlung,

- FST, Blut-, Organ- und Hirnentnahme am 22.Tag.

Mit den 10 restlichen C57BL/6-Tieren jeder Gruppe wurde zwischen dem 18. und 22. Behandlungstag der Lernkurventest durchgeführt. Bei dem DBA/2-Stamm gab es 11 Vitamin D- und 9 Vehikeltiere im Lernkurventest. Die Blut-, Hirn- und Organentnahme erfolgte am 27.Tag nach der fortgesetzten Behandlung.

2.9.3 Experiment 3: Auswirkung einer chronischen oralen Vitamin D- und / oder Paroxetin- Gabe auf das Verhalten der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse

Wir untersuchten den Einfluss eines SSRI auf das Angstverhalten und *Stress-coping* sowie auf die HPA-Achsen-Regulation bei zwei emotional unterschiedlichen Mausstämmen und prüften, ob die alleinige oder additive Gabe von Vitamin D das Verhalten bei diesen Tieren beeinflusst. Es gab folgende Behandlungsgruppen in jedem Stamm:

- 10 Tiere erhielten Vehikel,
- 10 Tiere erhielten 5 µg/kg/d Vitamin D oral mit dem Futter,
- 10 Tiere erhielten 20 mg/kg/d Paroxetin oral via Trinkwasser,
- 10 Tiere erhielten sowohl 5 µg/kg/d Vitamin D als auch 20mg/kg/d Paroxetin.

Alle diese Gruppen wurden folgender Versuchsreihe zugeführt:

- EPM-Test am 19.Tag der Behandlung
- Rotarod am 21.Tag der Behandlung
- FST und Blut-, Organ- und Hirnentnahme am 22.Tag.

2.9.4.1 Experiment 4.1: Auswirkung einer chronischen oralen Vitamin D-Gabe auf basale und stressinduzierte HPA- und HNS-Achsen-Regulation der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse

In diesem Experiment untersuchten wir, ob die Verhaltensunterschiede beider Stämme sowie die Verhaltenseffekte von Vitamin D sich in Veränderungen der Parameter der HPA-Achse widerspiegeln. Für dieses Experiment wurden das Blut und die Gehirne der Mäuse aus dem Experiment 2 verwendet. Der ACTH- und der Corticosteron-Spiegel im Blut wurden basal (Lernkurventiere) und 3 Stunden nach dem FST-Stress gemessen. An den Hirnschnitten wurden sowie die CRH-Expression im PVN und in der Amygdala und die AVP-Expression im SON und im PVN bestimmt.

2.9.4.2 Experiment 4.2: Beeinflussung der HPA- und der HNS-Achse durch eine chronische Vitamin D- und / oder Paroxetin-Gabe bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen

Analog dem vorhergehenden Experiment untersuchten wir die Parameter der HPA-Achse bei den beiden Stämmen und allen Behandlungsgruppen. Wir untersuchten die Auswirkung chronischer Vitamin D- und / oder Paroxetinbehandlung auf die HPA-Achse. Dafür wurden das Blut und die Gehirne der Mäuse aus dem Experiment 3 verwendet. Der ACTH- und der Corticosteronspiegel im Blut wurden nach dem FST-Stress gemessen. An den Hirnschnitten wurden die CRH-Expression im PVN und in der Amygdala sowie die AVP-Expression im SON und im PVN bestimmt.

3 ERGEBNISSE

3.1 Experiment 1: Auswirkung einer akuten systemischen CCK8-Gabe auf das Verhalten des C57BL/6-Stamms

3.1.1 Modifiziertes *Holeboard*

Die MANOVA zeigte keinen signifikanten Behandlungseffekt (Wilks'Lambda: $F_{39,69}=0,939$, $p=0,868$). Die ANOVA zeigte keinen signifikanten Behandlungseffekt für die Latenz des *board*-Eintritts, die Zeit in Prozent auf *board*, die Anzahl der *board*- und aller Eintritte, die Anzahl der *rearings* und der Löcherexploration, der Linienübertritte, die Zeit in Prozent und die Latenz vor der Exploration und die Ratio der mit bekanntem zu unbekanntem Objekt verbrachten Zeit, die Anzahl von *stretchings* und die Zeit in Prozent *grooming* (Tab.2).

Verhaltensparameter	Vehikel (n=10)	2µg/kg CCK8 (n=10)	5 µg/kg CCK8 (n=10)	10 µg/kg CCK8 (n=9)
Latenz <i>board</i> [s]	58,04±9,67	43,74±10,97	37,51±5,13	40,48±12,48
Eintritte <i>board</i>	12,70±2,26	11,50±1,32	14,50±2,34	12,00±1,96
<i>board</i> [%]	17,28±4,65	13,62±1,87	14,94±2,05	13,15±3,03
Anzahl <i>rearings</i>	20,30±3,21	24,30±1,89	27,00±2,68	25,70±2,82
Linienübertritte	86,70±8,38	105,20±4,37	102,80±5,51	100,00±6,96
Eintritte <i>board/box</i>	33,20±4,34	30,80±2,72	36,60±4,50	31,20±3,73
Löcherexploration	29,20±3,27	24,10±3,34	26,00±3,36	22,60±3,37
unbek. Objekt [%]	1,36±0,24	1,16±0,20	1,21±0,20	0,73±0,12
Latenz unbek. Obj [s]	74,80±15,75	50,52±10,39	83,50±17,24	69,55±20,38
bekanntes Objekt [%]	0,56±0,11	0,68±0,13	0,75±0,25	0,58±0,14
Latenz bek. Obj [s]	78,46±19,76	96,33±20,85	118,26±28,44	75,52±25,99
Ratio bekanntes/ unbekanntes Objekt	0,65±0,18	0,66±0,09	0,60±0,16	0,91±0,20
Anzahl <i>stretchings</i>	0,70±0,33	0,50±0,27	0,20±0,13	0,10±0,10
<i>grooming</i> [%]	0,66±0,18	0,96±0,27	0,44±0,16	0,99±0,21

Tabelle 2: Verhaltensparameter von C57BL/6-Mäusen im modifizierten *Holeboard* in Abhängigkeit von der Behandlung mit CCK8. Die Daten sind als Mittelwerte ± Standardabweichung dargestellt.

3.1.2 Elevated Plus Maze

Die MANOVA zeigte keinen signifikanten Behandlungseffekt (Wilks'Lambda: $F_{33,77}=0,828$, $p=0,723$). Die ANOVA zeigte keine signifikanten Effekte für die Anzahl und die Latenz der Eintritte in die offenen und die geschlossenen Arme und auf die Plattform, die Zeit in Prozent auf den offenen Armen, die Zeit in Prozent auf den geschlossenen Armen, auf der Plattform und die mit dem Putzen (*grooming*) verbrachte Zeit, die Anzahl von *rearings*, *stretchings* und *head dips* (Tab.3).

Verhaltensparameter	Vehikel (n=10)	2µg/kg CCK8 (n=10)	5 µg/kg CCK8 (n=10)	10 µg/kg CCK (n=9)
Eintritte in offene Arme	15,00±0,82	17,30±1,65	14,20±1,48	16,80±1,10
Zeit offene Arme [%]	24,34±3,39	27,66±5,22	32,06±6,32	31,74±5,36
Eintritte geschl. Arme	14,90±0,95	12,80±1,47	11,50±1,46	13,40±1,93
Zeit geschl. Arme[%]	44,91±3,18	36,57±4,91	33,70±5,24	37,35±5,34
Eintritte Plattform	26,20±1,15	25,80±1,36	20,70±2,03	25,00±1,84
Zeit Plattform [%]	24,82±0,99	25,85±2,81	23,08±3,74	19,81±2,22
Latenz offene Arme [s]	13,51±7,49	10,08±3,37	8,48±3,32	4,70±1,58
Anzahl von <i>rearings</i>	9,60±1,41	8,10±1,15	6,00±1,20	9,90±1,50
Anzahl von <i>head dips</i>	11,90±1,40	14,50±2,59	12,70±1,67	14,10±2,32
<i>grooming</i> [%]	2,18±0,63	1,42±0,41	2,53±1,74	2,01±0,26
Anzahl von <i>stretchings</i>	2,10±0,62	1,30±0,54	0,90±0,46	1,70±0,50

Tabelle 3: Verhaltensparameter von C57BL/6-Mäusen auf dem EPM in Abhängigkeit von der akuten i.p. Behandlung mit CCK8. Die Daten sind als Mittelwerte ± Standardabweichung dargestellt.

3.1.3 Temperatur und Dark Light Test

Die MANOVA zeigte keinen signifikanten Behandlungseffekt im DLT (Wilks'Lambda: $F_{24,79}=0,727$, $p=0,809$). Die ANOVA zeigte keinen signifikanten Behandlungseffekt für die Zeit in Prozent im dunklen Raum, die Zeit in Prozent im hellen Raum, die mit *grooming* verbrachte Zeit, die Anzahl der Eintritte in den dunklen oder in den hellen Raum, die Anzahl von *rearings* oder die Temperatur (Tab.4).

Parameter	Vehikel (n=10)	2 µg/kg CCK8 (n=10)	5 µg/kg CCK8 (n=10)	10 µg/kg CCK (n=9)
Temperatur [°C]	27,50±0,23	27,48±0,15	27,71±0,12	27,50±0,13
Eintritte dunkler Raum	19,90±1,17	19,33±1,49	17,60±0,90	19,10±1,79
Zeit dunkler Raum [%]	53,63±3,43	46,97±4,84	52,85±5,60	57,48±5,29
Eintritte heller Raum	15,10±1,58	15,44±1,80	13,00±1,45	12,00±2.19
Zeit heller Raum [%]	33,25±3,76	38,58±5,05	30,98±4,86	29,16±5,48
Anzahl von <i>rearings</i>	34,40±4,35	34,78±4,30	28,50±4,82	27,00±3,89

Tabelle 4: Verhaltensparameter von C57BL/6-Mäusen im DLT sowie die Temperatur in Abhängigkeit von der akuten i.p. Behandlung mit CCK8. Die Daten sind als Mittelwerte ± Standardabweichung dargestellt.

3.2 Experiment 2: Auswirkung einer chronischen oralen Vitamin D-Gabe auf das Verhalten der C57BL/6- und der DBA/2-Mäuse

3.2.1 Calciumspiegel

Alle Tiere wurden in die Analyse eingeschlossen. Der Calciumspiegel war bei allen C57BL/6-Tieren signifikant höher als bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,66}=4,159$, $p=0,045$), er wurde aber bei beiden Stämmen nicht von der Behandlung beeinflusst (Tab.5).

Calciumspiegel (mmol/l)	C57BL/6-Tiere	DBA/2-Tiere
Vehikel	2,52±0,03 ^a (n=20)	2,41±0,04 (n=14)
1 µg/kg Vitamin D	2,49±0,04 ^a (n=20)	2,45±0,03 (n=16)

Tabelle 5: Der Einfluss der chronischen Vitamin D-Behandlung auf den Calciumspiegel bei dem C57BL/6- und dem DBA/2-Stamm. ^asignifikanter Stammefekt (ANOVA, $p<0,05$).

3.2.2 Elevated Plus Maze am 19. Tag

Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammefekt (Wilks'Lambda: $F_{16,21}=23,683$, $p<0,0001$), aber keinen signifikanten Behandlungseffekt. Bei der univariaten Varianzanalyse zeigte sich, dass die DBA/2-Tiere sich signifikant länger in den geschlossenen ($F_{1,36}=141,253$, $p<0,0001$) und signifikant weniger in den offenen Armen ($F_{1,36}=36,753$, $p<0,0001$) (Abb.10), auf dem offenen Ende ($F_{1,36}=11,653$, $p=0,002$) und auf der Plattform ($F_{1,36}=11,833$, $p=0,001$) (Abb.11) als die C57BL/6-Mäuse aufhielten, was auf ihre größere Ängstlichkeit hinweist. Die DBA/2-Mäuse

betraten früher die geschlossenen Arme ($F_{1,36}=4,758$, $p=0,036$) und später das offene Ende (Abb.12) als die C57BL/6-Mäuse ($F_{1,36}=4,996$, $p=0,032$). Die Anzahl der *head dips* war bei den C57BL/6-Tieren größer als bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}=48,793$, $p<0,0001$) (Abb.13). Die DBA/2-Mäuse machten früher ($F_{1,36}=45,325$, $p<0,0001$) und häufiger ($F_{1,36}=58,996$, $p<0,0001$) *rearings* als die C57BL/6-Mäuse (Abb.13). Die Ratio der Eintritte in die offenen Arme zu allen Eintritten war bei den DBA/2-Tieren kleiner als bei den C57BL/6-Mäusen ($F_{1,36}=25,038$, $p<0,0001$) (Abb.14). Die C57BL/6-Mäuse machten insgesamt mehr Armeintritte als die DBA/2-Tiere ($F_{1,36}=8,034$, $p=0,007$) (Abb.14). Die DBA/2-Mäuse putzten sich signifikant länger ($F_{1,36}=32,723$, $p<0,0001$) und signifikant früher ($F_{1,36}=39,035$, $p<0,0001$) als die C57BL/6-Mäuse (Abb.15). Die DBA/2-Mäuse machten signifikant später *stretchings* ($F_{1,36}=8,737$, $p=0,005$) als die C57BL/6-Mäuse (Abb.16).

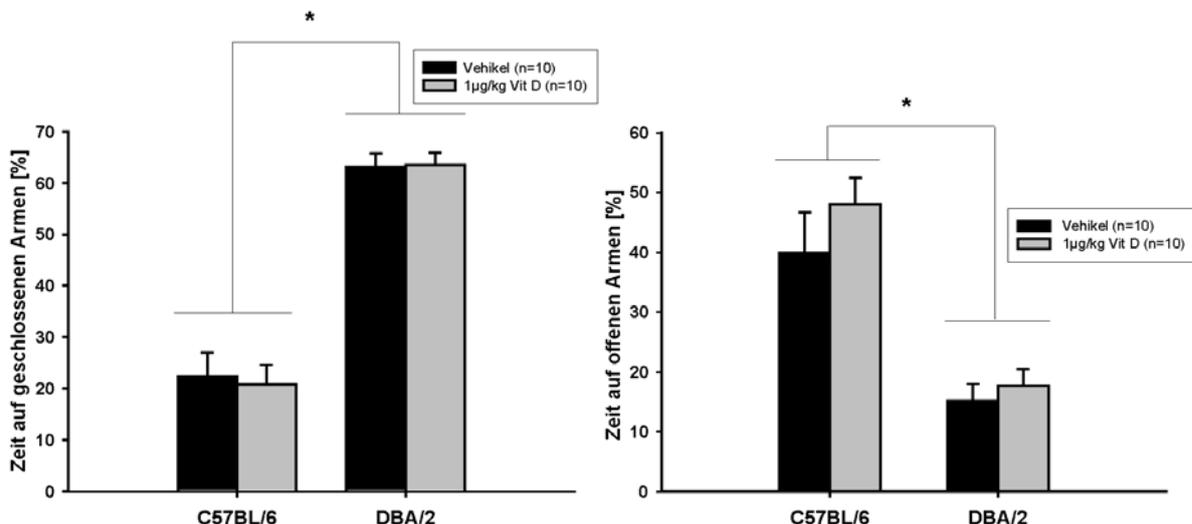


Abbildung 10: Zeit auf den geschlossenen und offenen Armen der C57BL/6- und DBA/2-Tiere in Abhängigkeit von der Behandlung mit 1 µg/kg Vitamin D. *signifikanter Stammeffekt ($p<0,05$).

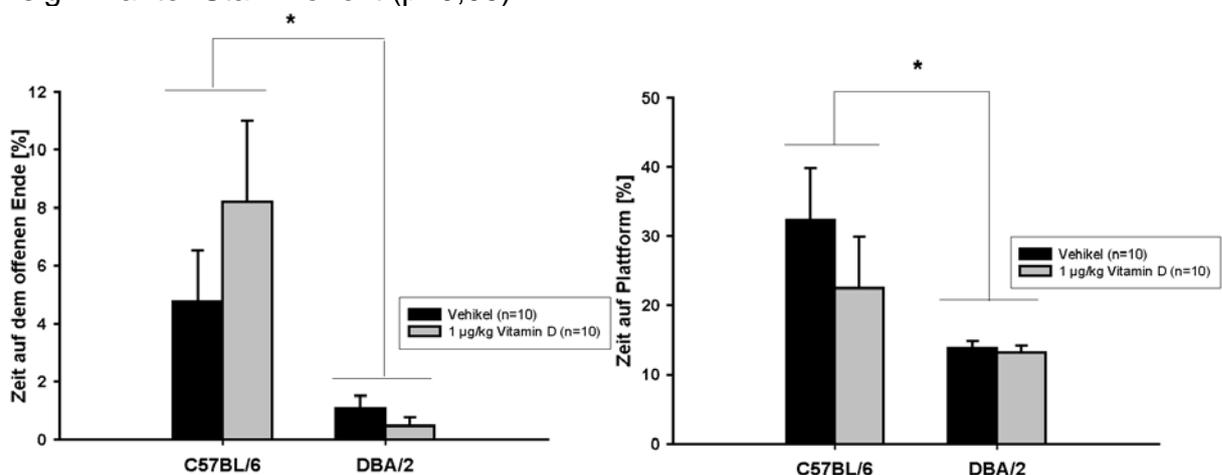


Abbildung 11: Zeit auf dem offenen Ende und auf der Plattform des EPM der C57BL/6- und DBA/2-Tiere in Abhängigkeit von der Behandlung mit 1 µg/kg Vitamin D. *signifikanter Stammeffekt ($p<0,05$).

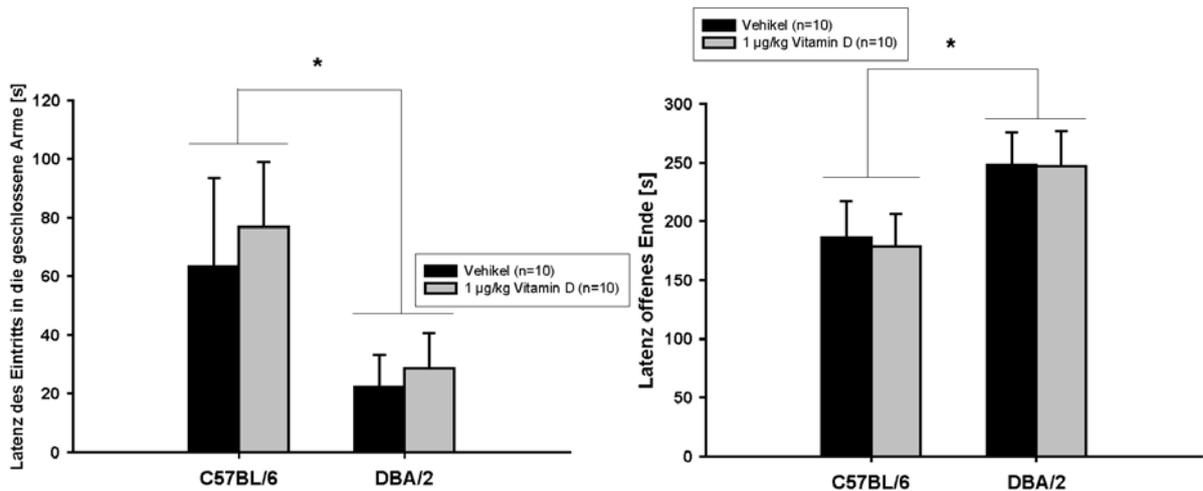


Abbildung 12: Latenz des Eintritts in die geschlossenen Arme und in das offene Ende des EPM durch C57BL/6- und DBA/2-Tiere in Abhängigkeit von der Behandlung mit 1 µg/kg Vitamin D. *signifikanter Stammeseffekt ($p < 0,05$).

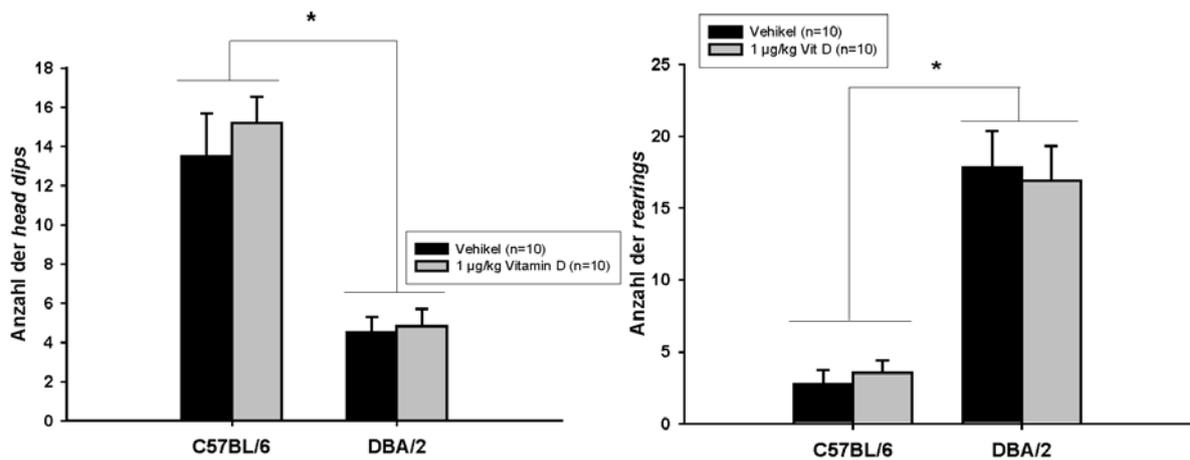


Abbildung 13: Anzahl der *head dips* und der *rearings* der C57BL/6- und DBA/2-Tiere in Abhängigkeit von der Behandlung mit 1 µg/kg Vitamin D. *signifikanter Stammeseffekt ($p < 0,05$).

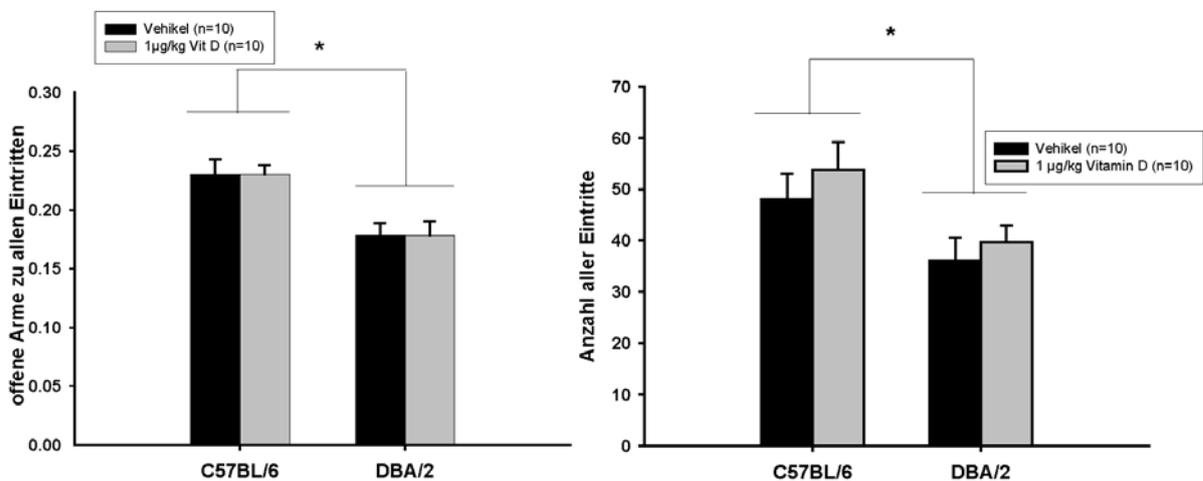


Abbildung 14: Ratio der Eintritte in die offene Arme zu allen Eintritten und die Anzahl aller Eintritte der C57BL/6- und DBA/2-Tiere in Abhängigkeit von der Behandlung mit 1 µg/kg Vitamin D. *signifikanter Stammeseffekt ($p < 0,05$).

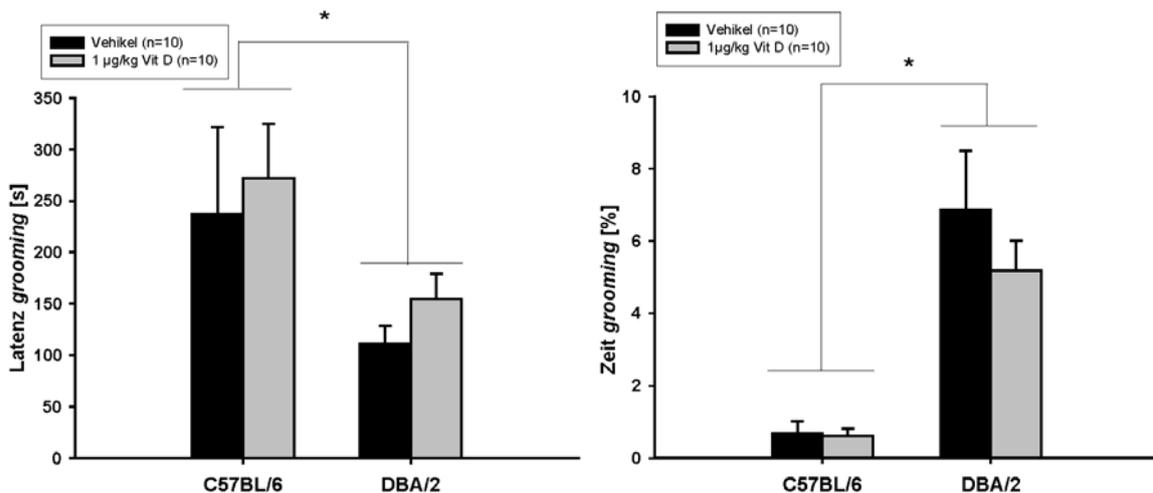


Abbildung 15: Latenz und Dauer des *groomings* der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von Behandlung mit 1 µg/kg Vitamin D. *signifikanter Stammeffekt ($p < 0,05$).

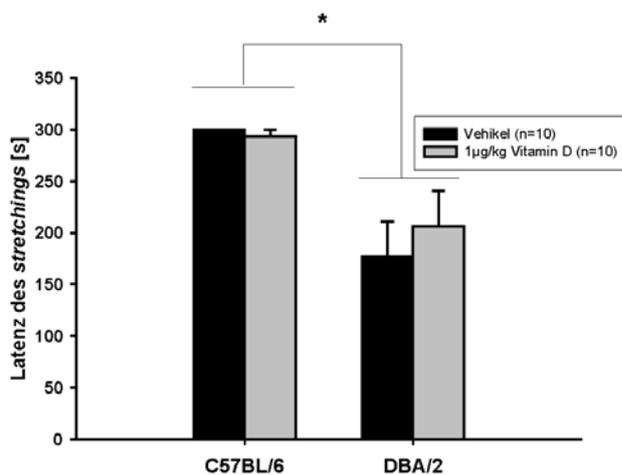


Abbildung 16: Latenz des *stretchings* der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von Behandlung mit 1 µg/kg Vitamin D. *signifikanter Stammeffekt ($p < 0,05$).

3.2.3 Rotarod am 21. Tag

Die dreifaktorielle ANOVA (Stamm x Behandlung x Umdrehungszahl) zeigte, dass die C57BL/6-Mäuse signifikant länger auf dem Rotarod bleiben konnten als die DBA/2-Tiere ($F_{1,108} = 33,500$, $p < 0,0001$). Die zunehmende Anzahl der Umdrehungen des Rotarods verringerte signifikant die Latenz des Falls bei den beiden Stämmen ($F_{2,108} = 40,107$, $p < 0,0001$) (Abb.17). Im post-hoc Bonferroni war der Unterschied zwischen den Latenzen bei einzelnen Umdrehungszahlen immer signifikant mit $p < 0,0001$ zwischen 5 und 20 U/Min und zwischen 10 U/min und 20 U/min oder $p = 0,001$ zwischen 5 und 10 U/min. Es zeigte sich eine signifikante Interaktion zwischen dem Stamm und der Behandlung ($F_{1,108} = 7,380$, $p = 0,008$): nur bei den C57BL/6-Mäusen zeigte Vitamin D einen Effekt bei 10 U/min ($F_{1,18} = 13,155$, $p = 0,002$).

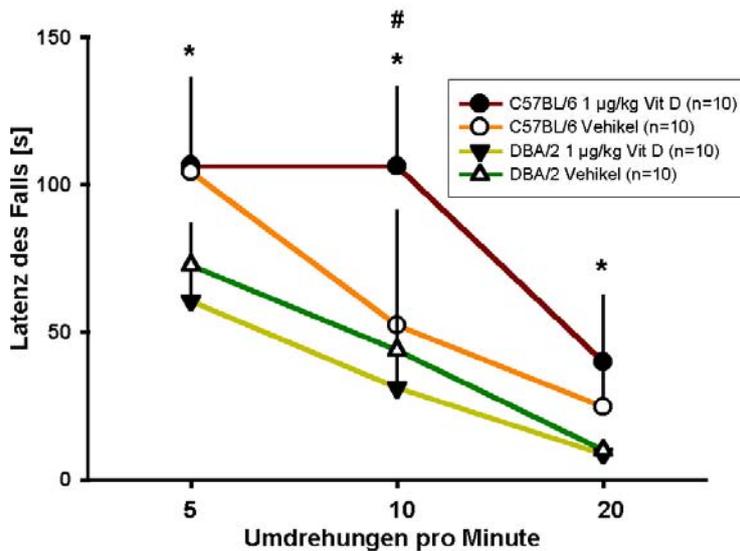


Abbildung 17: Latenz bis zum Fall der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von der Umdrehungszahl des Rotarod und der chronischen Vitamin D-Behandlung mit 1 µg/kg Vitamin D. *signifikanter Stammeffekt, #signifikanter Behandlungseffekt bei den C57BL/6-Mäusen (ANOVA, $p < 0,05$).

3.2.4 Forced Swimming Test am 22. Tag

Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt (Wilks'Lambda: $F_{6,31}=9,886$, $p < 0,0001$) und eine signifikante Interaktion Stamm-Behandlung (Wilks'Lambda: $F_{6,31}=2,673$, $p=0,033$), aber keinen signifikanten Behandlungseffekt.

In der univariaten Varianzanalyse zeigte sich, dass die DBA/2-Tiere signifikant länger immobil waren als die C57BL/6-Mäuse ($F_{1,36}=7,950$, $p=0,008$) (Abb.18). Die C57BL/6-Mäuse kletterten dagegen mehr ($F_{1,36}=32,396$, $p < 0,0001$) (Abb.20). Die DBA/2-Mäuse schwammen früher als die C57BL/6-Tiere ($F_{1,36}=15,383$, $p < 0,0001$) (Abb.19).

Die ANOVA zeigte eine signifikante Interaktion Stamm x Behandlung für die Dauer ($F_{1,36}=5,565$, $p=0,024$) und die Latenz des Schwimmens ($F_{1,36}=9,288$, $p=0,004$). Die post-hoc Tests zeigten einen signifikanten Behandlungseffekt bei den C57BL/6-Mäusen (Wilks'Lambda: $F_{6,13}=4,533$, $p=0,011$), speziell für die Zeit in Prozent des Schwimmens ($F_{1,18}=5,305$, $p=0,033$) und die Latenz des Schwimmens ($F_{1,18}=6,218$, $p=0,023$) (Abb.19).

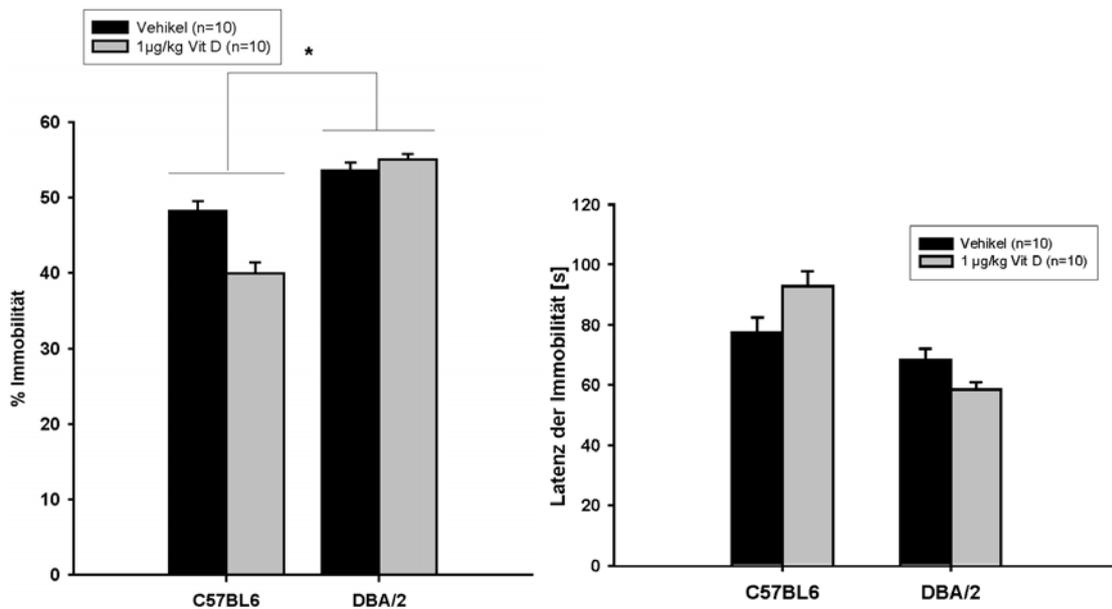


Abbildung 18: Dauer und Latenz der Immobilität der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von der Behandlung mit Vitamin D. *signifikanter Stammeffekt ($p < 0,05$).

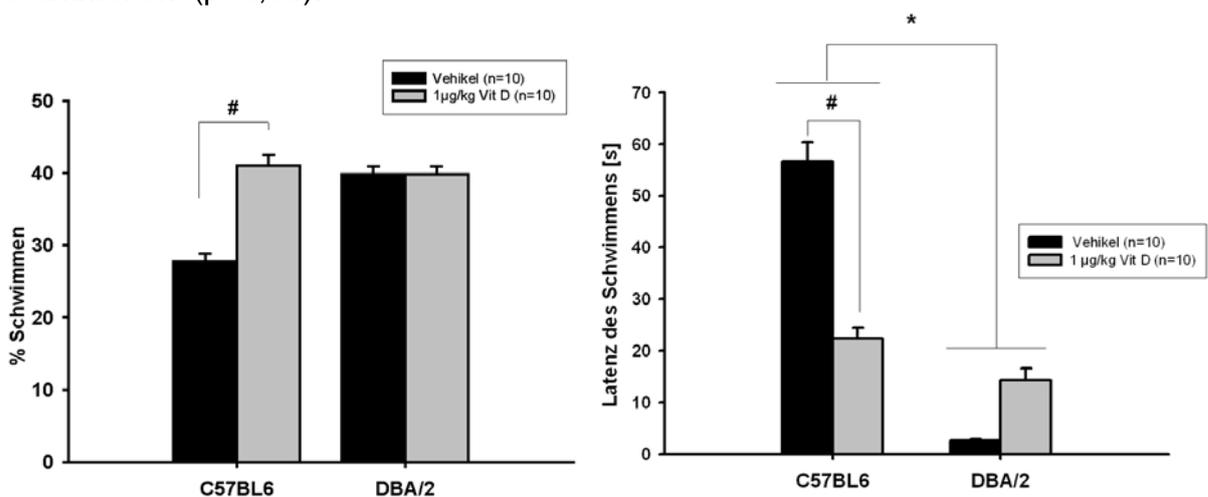


Abbildung 19: Dauer und Latenz des Schwimmens der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von der Behandlung mit Vitamin D. #signifikanter Behandlungseffekt ($p < 0,05$), *signifikanter Stammeffekt ($p < 0,05$).

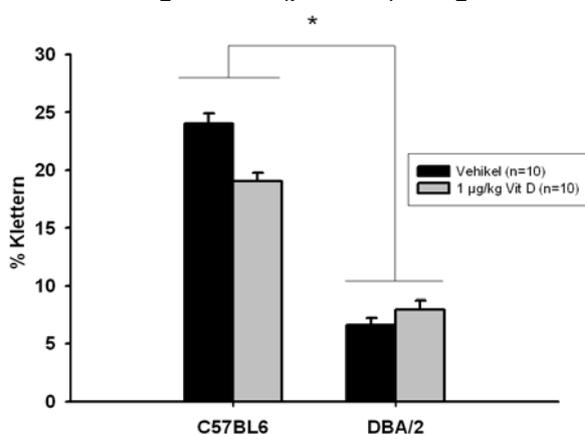


Abbildung 20: Dauer des Kletterns der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von der Behandlung mit Vitamin D. *signifikanter Stammeffekt ($p < 0,05$).

3.2.5 Die Lernkurve

Unter einer Bedingung verstehen wir im Folgenden eine Versuchsbedingung, die in Tab.1 farblich markiert ist. Die ersten 3 Bedingungen umfassen jeweils die 4 Lernkurvenversuche eines Tages, die jedes Tier durchlaufen musste. Die 4. Bedingung beinhaltet alle 4 Versuche des 4. Tages und die ersten 2 Versuche des 5. Tages. Die 5. Bedingung beinhaltet die letzten 2 Versuche des 5. Tages mit eingeschaltetem Licht ohne Mandeln (Tab.1).

Die Pfeile in den Graphen zeigen die Veränderungen der Versuchsbedingungen an. Erster Pfeil bedeutet die Entfernung der Markierungen; zweiter und dritter eine neue Reihenfolge der Markierungen, der vierte das Einschalten von Licht mit Mandelentfernung (Tab.1).

3.2.5.1 Anzahl der Fehler (wrong choice) (Abb.21)

Bedingung 1: Die MANOVA zeigte, dass die C57BL/6-Mäuse signifikant häufiger Fehler machten als die DBA/2-Mäuse ($F_{1,36}=27,89$, $p<0,0001$), sie ergab aber keinen signifikanten Behandlungs- oder Versuchseffekt.

Bedingung 2: Die MANOVA zeigte, dass die C57BL/6-Mäuse signifikant häufiger Fehler machten als die DBA/2-Tiere ($F_{1,36}=5,38$, $p=0,026$), sie zeigte auch einen signifikanten Versuchseffekt ($F_{3,108}=63,66$, $p<0,0001$).

Bedingung 3: Die MANOVA zeigte, dass die C57BL/6-Mäuse signifikant häufiger Fehler machten als die DBA/2-Tiere ($F_{1,36}=14,00$, $p=0,001$), sie zeigte auch einen signifikanten Versuchseffekt ($F_{3,108}=3,16$, $p=0,028$) mit Abnahme der Fehler im Laufe der Versuche.

Bedingung 4: Die MANOVA zeigte keinen signifikanten Stamm-, Behandlungs- oder Versuchseffekt, aber eine signifikante Stamm x Versuch-Interaktion ($F_{5,180}=4,39$, $p=0,001$). Nur bei den DBA/2-Mäusen zeigte sich ein Versuchseffekt (Wilks' Lambda: $F_{5,15}=1,841$, $p=0,012$).

Bedingung 5: Die MANOVA zeigte keine signifikanten Stamm-, Versuchs- oder Behandlungseffekte.

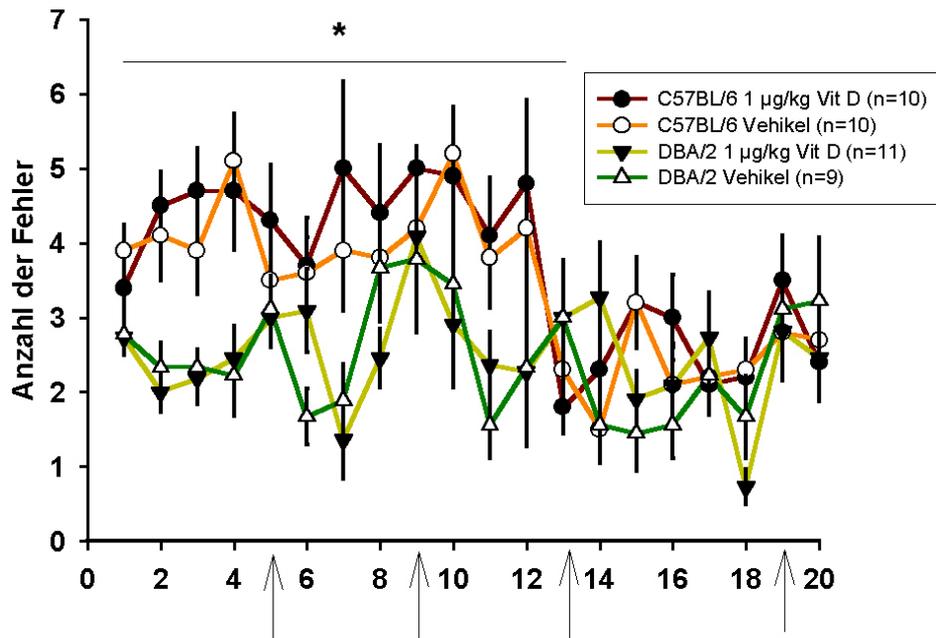


Abbildung 21: Anzahl der Fehler im kognitiven Test bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen. *signifikanter Stammeffekt (ANOVA, $p < 0,05$). Die Pfeile zeigen Veränderungen der Versuchsbedingungen an (Tab.1).

3.2.5.2 Auslassung eines belegten Lochs (omission) (Abb.22)

Bedingung 1: Die C57BL/6-Mäuse ließen signifikant mehr Löcher aus als die DBA/2-Mäuse ($F_{1,36}=18,06$, $p < 0,0001$). Mit Versuchswiederholungen nahmen die Auslassungen bei den beiden Stämmen signifikant ab ($F_{3,108}=15,19$, $p < 0,0001$).

Bedingung 2: Die MANOVA zeigte, dass die C57BL/6-Mäuse immer noch signifikant mehr belegte Löcher ignorierten als die DBA/2-Mäuse ($F_{1,36}=26,31$, $p < 0,0001$). Es zeigte sich auch ein signifikanter Versuchseffekt ($F_{3,108}=3,20$, $p = 0,026$) ohne eine signifikante Interaktion. Der Behandlungseffekt war in der MANOVA nicht signifikant.

Bedingung 3: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr Auslassungen bei den C57BL/6-Mäusen ($F_{1,36}= 36,61$, $p < 0,0001$). Weder der Behandlungs- noch der Versuchseffekt waren signifikant.

Bedingung 4: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr Auslassungen bei den C57BL/6-Mäusen ($F_{1,36}= 11,01$, $p = 0,002$) mit signifikanter Stamm x Versuch x Behandlungs-Interaktion ($F_{5,180}= 2,33$, $p = 0,045$). Die Behandlung hatte nur beim ersten ($p = 0,038$) und beim fünften Versuch ($p = 0,032$) einen signifikanten Effekt mit Abnahme der Auslassungen durch die chronische Vitamin D-Einnahme. Diese Versuche entsprachen jeweils einem Tagesbeginn.

Bedingung 5: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr Auslassungen bei den C57BL/6-Mäusen ($F_{1,36}=20,50$, $p<0,0001$). Die Behandlungs- und Versuchseffekte waren nicht signifikant.

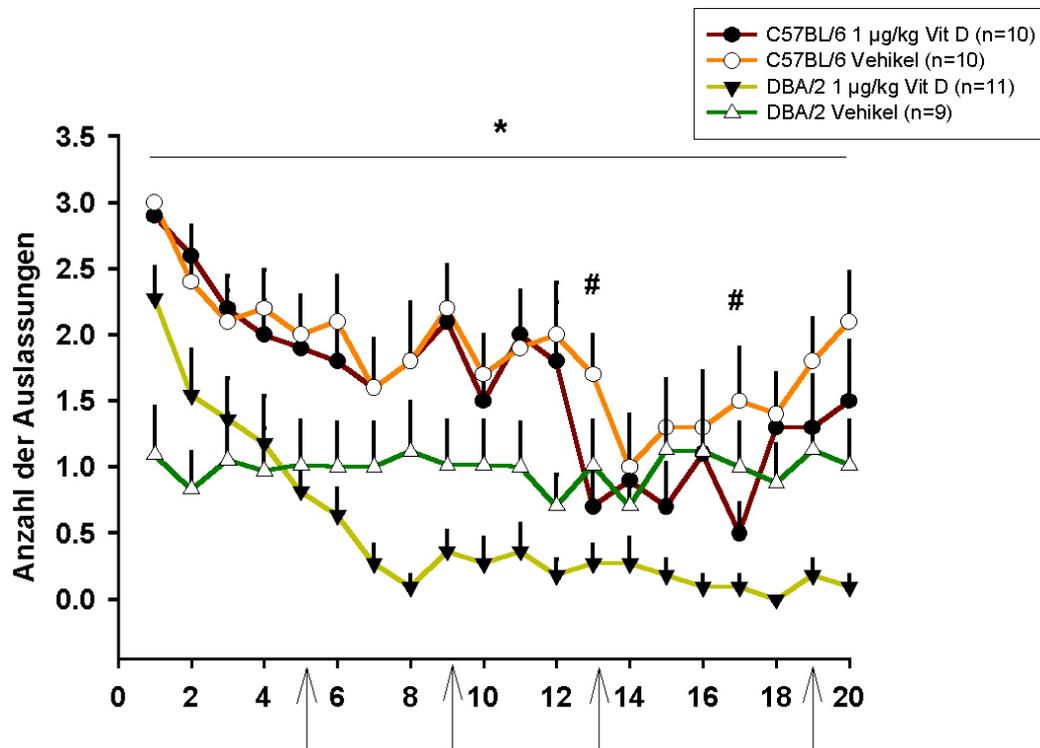


Abbildung 22: Anzahl der Auslassungen bei den C57BL/6- und den DBA/2-Mäusen. *signifikanter Stammeffekt; #signifikanter Behandlungseffekt (ANOVA, $p<0,05$). Die Pfeile zeigen Veränderungen der Versuchsbedingungen an (Tab.1).

3.2.5.3 Anzahl der Lochbesuche (hole number) (Abb.23)

Bedingung 1: Die MANOVA zeigte einen Versuchseffekt mit einer stetigen Zunahme der Lochbesuche ($F_{3,108}=17,56$, $p<0,0001$). Die Stamm- und Behandlungseffekte waren nicht signifikant.

Bedingung 2: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt: die DBA/2-Mäuse besuchten signifikant mehr Löcher als die C57BL/6-Tiere ($F_{1,36}=4,63$, $p=0,038$). Es zeigte sich auch eine signifikante Stamm x Versuch-Interaktion ($F_{3,108}=3,08$, $p=0,030$). Weder Behandlungs- noch Versuchseffekte waren signifikant.

Bedingung 3: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr Lochbesuchen bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}=8,27$, $p=0,007$) sowie einen signifikanten Versuchseffekt ($F_{3,108}=3,49$, $p=0,018$) und eine signifikante Interaktion Stamm x Behandlung ($F_{1,36}=5,27$, $p=0,028$). Der Behandlungseffekt war nicht signifikant. Beim ersten ($F_{1,36}=6,25$, $p=0,017$) und beim dritten Versuch ($F_{1,36}=6,18$, $p=0,018$) zeigte sich eine signifikante Interaktion Stamm x Behandlung.

Bedingung 4: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr Lochbesuchen bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}= 10,14$, $p=0,003$) und signifikante Stamm x Versuch-Interaktion ($F_{5,180}=5,09$, $p<0,0001$). Der Behandlungseffekt war bei dem 4. Versuch der 4. Bedingung signifikant ($F_{1,36}= 4,54$, $p=0,04$) mit einer Zunahme der Lochbesuche durch das Vitamin D.

Bedingung 5: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr Lochbesuchen bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}= 22,92$, $p<0,0001$) und eine signifikante Interaktion Stamm x Behandlung ($F_{1,36}= 4,18$, $p=0,048$), aber keinen signifikanten Behandlungs- oder Versuchseffekt.

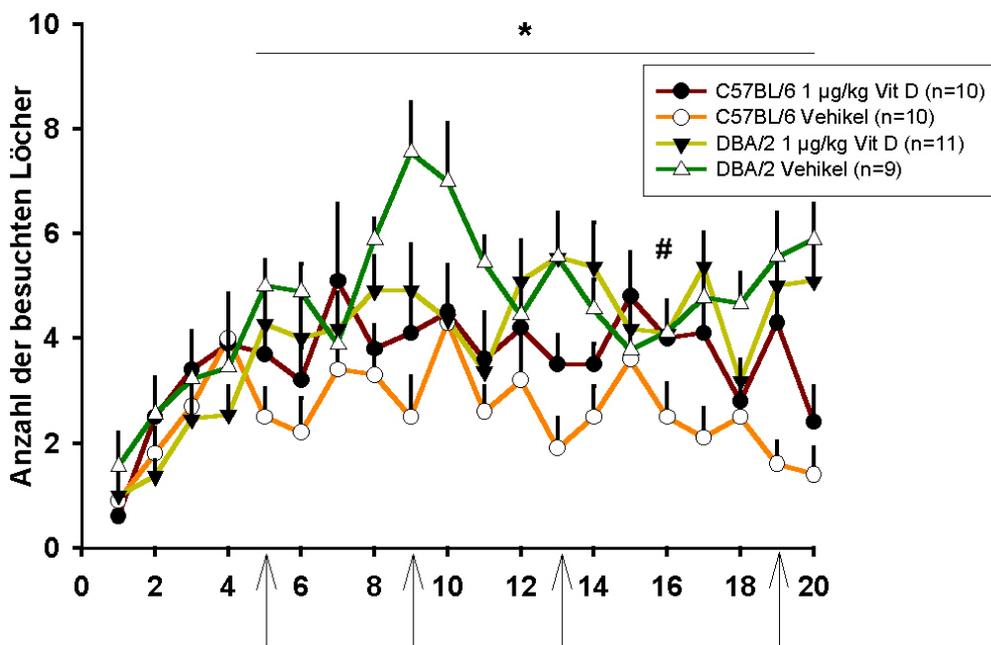


Abbildung 23: Anzahl der Lochbesuche bei den C57BL/6- und den DBA/2-Mäusen. *signifikanter Stammeffekt; #signifikanter Behandlungseffekt (ANOVA, $p<0,05$). Die Pfeile zeigen Veränderungen der Versuchsbedingungen an (Tab.1).

3.2.5.4 Anzahl der Wiederholungen (repeated choice)(Abb.24)

Bedingung 1: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Versuchseffekt ($F_{3,108}=4,26$, $p=0,007$), aber keinen signifikanten Stamm- oder Behandlungseffekt.

Bedingung 2: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr Wiederholungen beim DBA/2-Stamm ($F_{1,36}=16,59$, $p<0,0001$), jedoch keine signifikanten Versuchs- oder Behandlungseffekte.

Bedingung 3: Die MANOVA zeigte keine signifikanten Stamm-, Versuchs- oder Behandlungseffekte.

Bedingung 4: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr Wiederholungen beim DBA/2-Stamm ($F_{1,36}=4,39$, $p=0,021$). Die Versuchs- und Behandlungseffekte waren in der MANOVA nicht signifikant.

Bedingung 5: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr Wiederholungen beim DBA/2-Stamm ($F_{1,36}=17,30$, $p<0,0001$), jedoch keine signifikanten Behandlungs- oder Versuchseffekte.

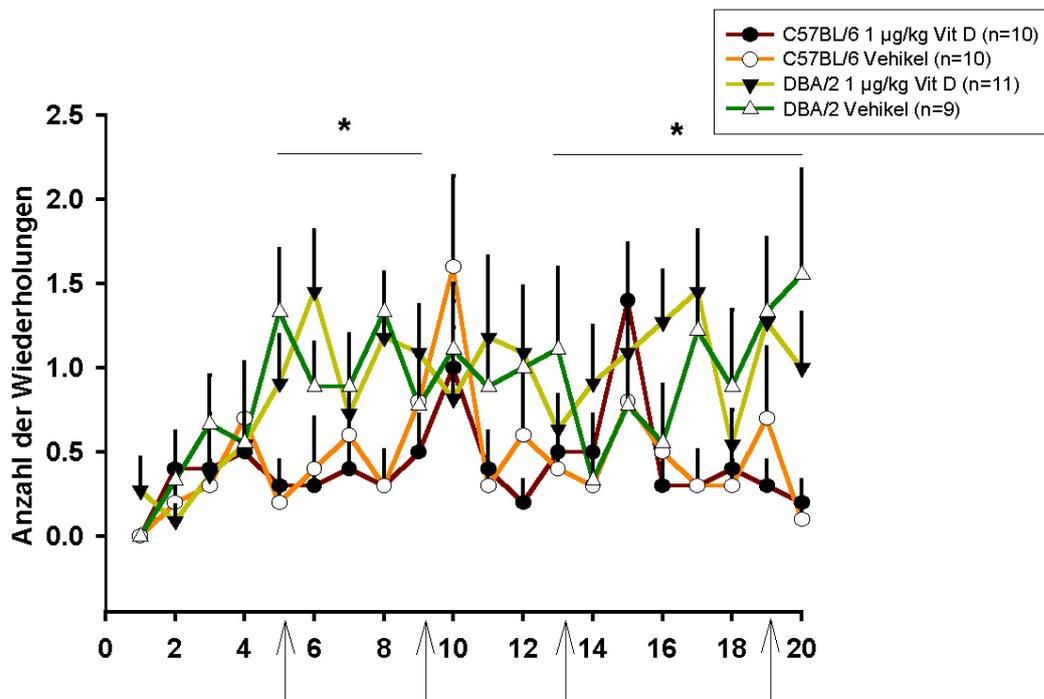


Abbildung 24: Anzahl der Wiederholungen bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen. *signifikanter Stammeffekt (ANOVA, $p<0,05$). Die Pfeile zeigen Veränderungen der Versuchsbedingungen an (Tab.1).

3.2.5.5 Aufenthaltszeit auf board (Abb.25)

Bedingung 1: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Versuchseffekt ($F_{3,108}=9,95$, $p<0,0001$) mit Zunahme von Aufenthaltszeit auf *board* bei den beiden Stämmen und eine signifikante Stamm x Behandlungs-Interaktion ($F_{1,36}=4,26$, $p=0,046$). Die Stamm- und Behandlungseffekte waren nicht signifikant. Beim ersten Versuch zeigte sich ein signifikanter Behandlungseffekt ($F_{1,36}=4,30$, $p=0,045$), beim vierten Versuch eine signifikante Interaktion Stamm x Behandlung ($F_{1,36}=6,31$, $p=0,017$).

Bedingung 2: Die DBA/2-Mäuse verbrachten signifikant mehr Zeit auf *board* als die C57BL/6-Tiere ($F_{1,36}=8,87$, $p=0,005$); in der MANOVA zeigte sich kein signifikanter Behandlungseffekt, aber eine signifikante Stamm x Behandlungs-Interaktion ($F_{1,36}=4,16$, $p=0,049$) und ein signifikanter Versuchseffekt ($F_{3,108}=12,09$, $p<0,0001$): die Zeit auf *board* nahm bei den beiden Stämmen im Verlauf zu.

Bedingung 3: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt ($F_{1,36}=22,92$, $p<0,0001$) und eine signifikante Stamm x Behandlungs-Interaktion ($F_{1,36}=8,25$, $p=0,007$). Die Behandlungs- und Versuchseffekte waren nicht signifikant.

Bedingung 4: Die MANOVA zeigte, dass die DBA/2-Mäuse signifikant mehr Zeit auf *board* verbrachten als die C57BL/6-Tiere ($F_{1,36}=3,83$, $p=0,003$); es zeigte sich eine signifikante Stamm x Behandlungs-Interaktion ($F_{5,180}=2,45$, $p=0,036$), speziell beim vierten ($F_{1,36}=4,45$, $p=0,042$), fünften ($F_{1,36}=4,76$, $p=0,036$) und sechsten Versuch ($F_{1,36}=5,79$, $p=0,021$). Die MANOVA zeigte auch eine signifikante Stamm x Versuch-Interaktion ($F_{5,180}=0,98$, $p=0,003$). Die Behandlung oder die Versuchswiederholung zeigten keinen signifikanten Effekt.

Bedingung 5: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt ($F_{1,36}=29,96$, $p<0,0001$) und eine signifikante Stamm x Behandlungs-Interaktion ($F_{1,36}=10,68$, $p=0,002$). Die Behandlungs- und Versuchseffekte waren nicht signifikant.

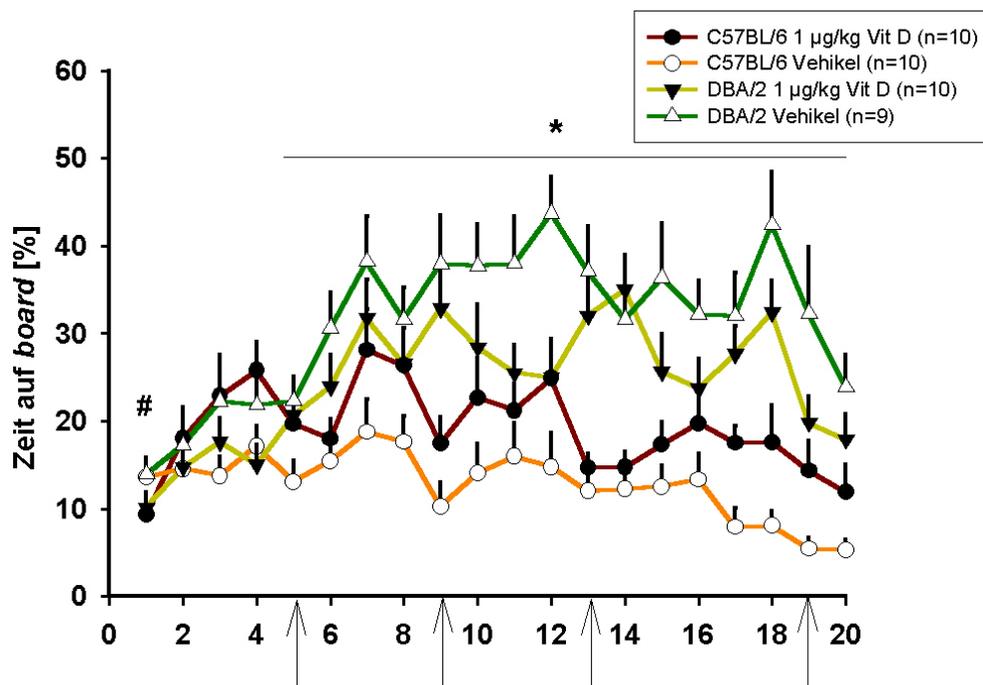


Abbildung 25: Aufenthaltszeit auf *board* bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen. *signifikanter Stammeffekt; #signifikanter Behandlungseffekt (ANOVA, $p<0,05$). Die Pfeile zeigen Veränderungen der Versuchsbedingungen an (Tab.1).

3.2.5.6 Anzahl der Linienübertritte pro Minute (Abb.26)

Bedingung 1: Die ANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr Linienübertritten pro Minute bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}=44,48$, $p<0,0001$), einen signifikanten Versuchseffekt mit einer stetigen Abnahme der Linienübertritte bei den beiden Stämmen ($F_{3,108}=14,46$, $p<0,0001$) und eine signifikante Interaktion Stamm x Versuch ($F_{3,108}=3,86$, $p=0,011$). Ein signifikanter Versuchseffekt zeigte sich sowohl

bei den C57BL/6-Mäusen (Wilks'Lambda: $F_{3,17}=8,093$, $p=0,001$) als auch bei den DBA/2-Tieren ($F_{3,17}=7,242$, $p=0,002$). Die Behandlung hatte in der MANOVA keinen signifikanten Effekt.

Bedingung 2: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr Linienübertritten bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}=149,98$, $p<0,0001$), einen signifikanten Behandlungseffekt ($F_{1,36}=5,70$, $p=0,002$) mit einer signifikanten Stamm x Behandlungs-Interaktion ($F_{3,108}=15,27$, $p<0,0001$). Vitamin D senkte nur bei den DBA/2-Mäusen die Zahl der Linienübertritte (Wilks'Lambda: $F_{3,17}=3,488$, $p=0,001$). Die Anzahl der Linienübertritte sank signifikant mit jedem Versuch ($F_{3,108}=8,51$, $p<0,0001$) bei signifikanter Interaktion Stamm x Versuch ($F_{3,108}=8,85$, $p<0,0001$).

Bedingung 3: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr Linienübertritten bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}=91,13$, $p<0,0001$) und einen signifikanten Versuchseffekt ($F_{3,108}=4,24$, $p=0,007$) mit einer signifikanter Interaktion Stamm x Versuch ($F_{3,108}=4,63$, $p=0,004$) und Behandlung x Versuch ($F_{3,108}=2,96$, $p=0,036$). Die Behandlung zeigte in der MANOVA keinen signifikanten Effekt.

Bedingung 4: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr Linienübertritten bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}=77,35$, $p=0,010$), einen signifikanten Versuchseffekt mit Abnahme der Linienübertritte ($F_{5,180}=13,91$, $p<0,0001$) und eine signifikante Stamm x Wiederholungs-Interaktion ($F_{5,180}=6,97$, $p<0,0001$).

Bedingung 5: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr Linienübertritten pro Minute bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}=42,31$, $p=0,010$).

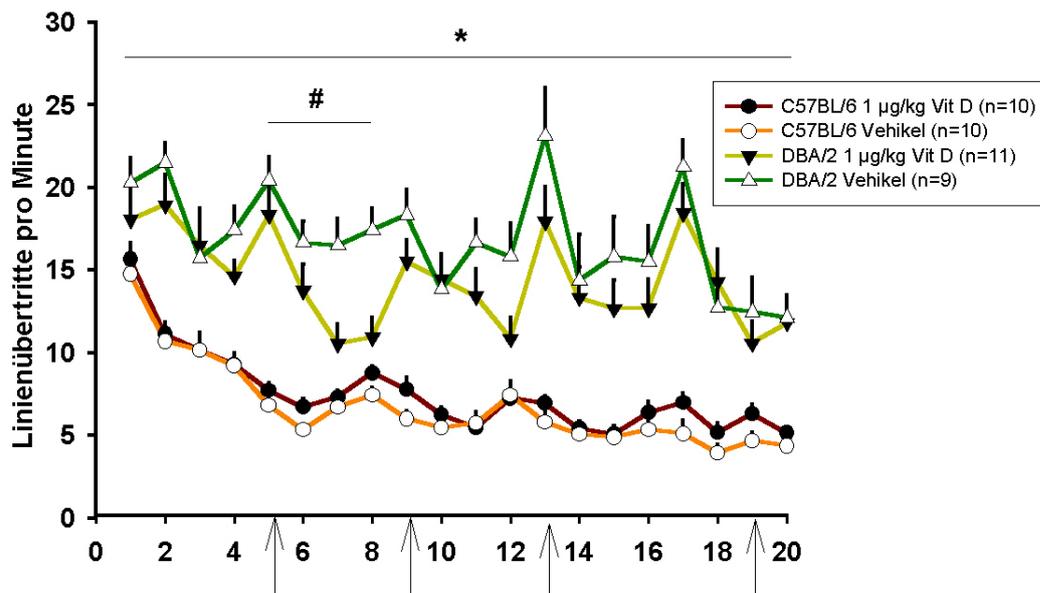


Abbildung 26: Anzahl der Linienübertritte pro Minute bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen. *signifikanter Stammeffekt, #signifikanter Behandlungseffekt beim DBA/2-Stamm (ANOVA, $p<0,05$). Die Pfeile zeigen Veränderungen der Versuchsbedingungen an (Tab.1).

3.2.5.7 Versuchsdauer (Abb.27)

Bedingung 1: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Versuchseffekt mit einer stetigen Abnahme der Versuchsdauer ($F_{3,108}=3,98$, $p=0,010$). Die Behandlungs- oder Stammefekte waren nicht signifikant.

Bedingung 2: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Versuchseffekt mit einer weiteren Abnahme der Versuchsdauer ($F_{3,108}=11,33$, $p<0,0001$), einen signifikanten Stammefekt mit kürzerer Versuchsdauer bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}=20,05$, $p<0,0001$) und eine signifikante Interaktion Stamm x Versuch ($F_{3,108}=3,74$, $p=0,013$). Der Behandlungseffekt war in der MANOVA nicht signifikant.

Bedingung 3: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammefekt mit kürzerer Versuchsdauer bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}=22,21$, $p<0,0001$). Die Versuchs- und Behandlungseffekte waren nicht signifikant.

Bedingung 4: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammefekt mit kürzerer Versuchsdauer bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}=48,09$, $p<0,0001$) und einen signifikanten Versuchseffekt mit stetiger Abnahme der Versuchsdauer bei den beiden Stämmen ($F_{5,180}=3,68$, $p=0,003$). Der Behandlungseffekt war nicht signifikant.

Bedingung 5: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammefekt mit kürzerer Versuchsdauer bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}=60,74$, $p<0,0001$), aber keinen signifikanten Versuchs- oder Behandlungseffekt.

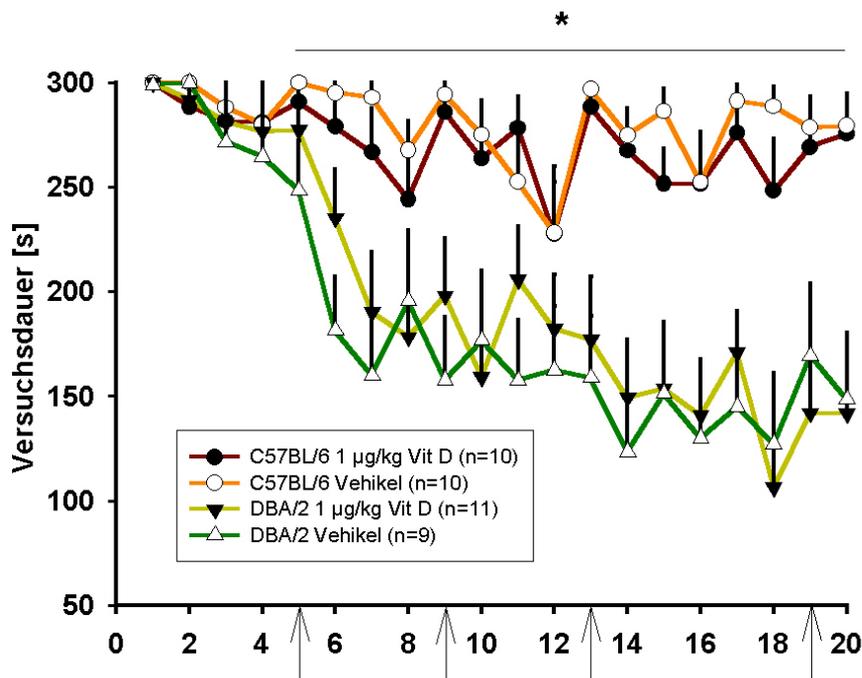


Abbildung 27: Versuchsdauer bei dem C57BL/6- und dem DBA/2-Stamm. *signifikanter Stammefekt (ANOVA, $p<0,05$). Die Pfeile zeigen Veränderungen der Versuchsbedingungen an (Tab.1).

3.2.5.8 Latenz bis zum dem Betreten des boards (Abb.28)

Bedingung 1: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit größerer Latenz bis zum Betreten des *boards* bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}=6,83$, $p=0,013$). Die Behandlungs- und Versuchseffekte waren nicht signifikant.

Bedingung 2: Die MANOVA zeigte keine signifikanten Stamm-, Versuchs- oder Behandlungseffekte, aber eine signifikante Interaktion Stamm x Versuch ($F_{3,105}=2,90$, $p=0,038$).

Bedingung 3: Die MANOVA zeigte keine signifikanten Stamm-, Versuchs- oder Behandlungseffekte.

Bedingung 4: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt ($F_{1,35}=8,22$, $p=0,007$) und einen signifikanten Behandlungseffekt: die längere Latenz des Betretens des *boards* des C57BL/6-Stamms wurde durch die Vitamin D-Behandlung signifikant verkürzt ($F_{1,35}=5,20$, $p=0,029$). Die MANOVA zeigte signifikante Interaktionen Stamm x Versuch ($F_{5,175}=2,59$, $p=0,027$), Behandlung x Versuch ($F_{5,175}=2,80$, $p=0,019$) und Stamm x Behandlung x Versuch ($F_{5,175}=2,86$, $p=0,017$).

Bedingung 5: Die MANOVA zeigte keine signifikanten Stamm- oder Behandlungseffekte, aber einen signifikanten Versuchseffekt ($F_{1,35}=8,80$, $p=0,005$) und eine signifikante Interaktion Stamm x Wiederholung ($F_{1,35}=19,20$, $p<0,0001$). Innerhalb der einzelnen Stämme zeigten sich keine signifikanten Wiederholungseffekte.

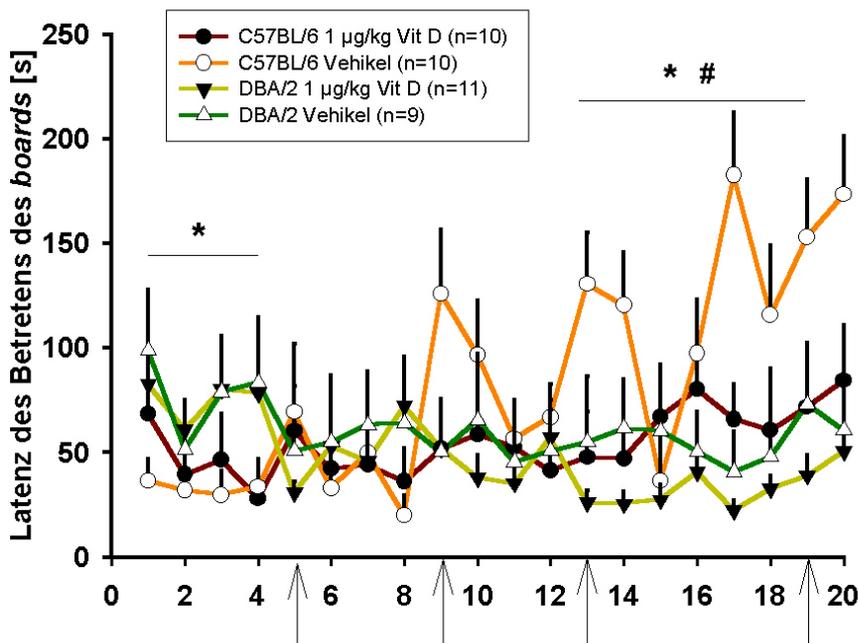


Abbildung 28: Latenz bis zum Betreten des *boards*. *signifikanter Stammeffekt, #signifikanter Behandlungseffekt innerhalb des C57BL/6-Stamms (ANOVA, $p<0,05$). Die Pfeile zeigen Veränderungen der Versuchsbedingungen an (Tab.1).

3.2.5.9 Anzahl der rearings pro Minute (Abb.29)

Bedingung 1: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr *rearings* bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}=5,47$, $p=0,025$), einen signifikanten Versuchseffekt ($F_{3,108}=10,21$, $p<0,0001$) sowie eine signifikante Stamm x Versuch- ($F_{3,108}=8,34$, $p<0,0001$), Behandlung x Versuch- ($F_{3,108}=4,45$, $p=0,005$) und Stamm x Behandlung x Versuch-Interaktionen ($F_{3,108}=6,74$, $p<0,0001$). Der Versuchseffekt war nur bei den Vitamin D-behandelten C57BL/6- ($F_{3,7}=63,788$, $p<0,0001$) und bei den Vehikel-DBA/2-Mäusen nachweisbar ($F_{3,8}=9,756$, $p=0,005$).

Bedingung 2: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr *rearings* bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}=25,91$, $p<0,0001$), einen signifikanten Versuchseffekt ($F_{3,108}=4,10$, $p=0,009$) sowie eine signifikante Stamm x Behandlung- ($F_{1,36}=4,43$, $p=0,043$), Stamm x Versuch- ($F_{3,108}=5,20$, $p=0,002$), Behandlung x Versuch ($F_{3,108}=4,22$, $p=0,007$) und Stamm x Behandlung x Versuch ($F_{3,108}=14,08$, $p<0,0001$)-Interaktionen.

Bedingung 3: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr *rearings* bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,36}=16,64$, $p<0,0001$), einen signifikanten Versuchseffekt mit einer Abnahme der *rearings* ($F_{3,108}=8,08$, $p<0,0001$) und eine signifikante Interaktion Stamm x Versuch ($F_{3,108}=17,27$, $p<0,0001$).

Bedingung 4: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr *rearings* bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,35}=77,94$, $p<0,0001$) und einen signifikanten Versuchseffekt mit einer Abnahme der *rearings* ($F_{5,180}=3,68$, $p=0,003$) bei den beiden Stämmen.

Bedingung 5: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit mehr *rearings* bei den DBA/2-Mäusen ($F_{1,35}=32,97$, $p<0,0001$) ohne signifikante Versuchs- oder Behandlungseffekte.

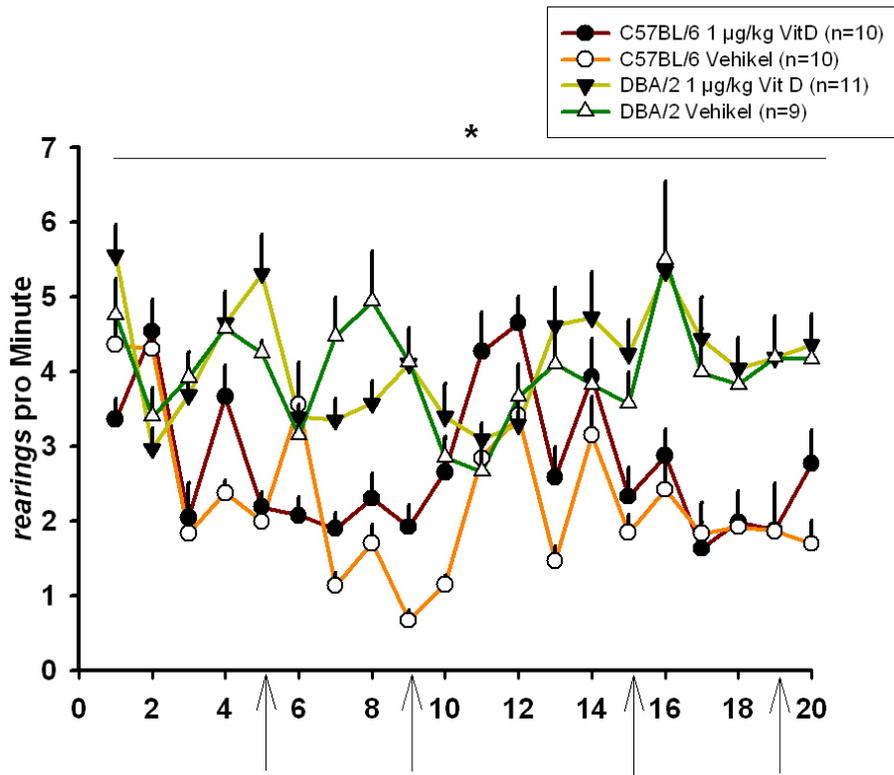


Abbildung 29: Anzahl der rearings pro Minute. *signifikanter Stammeffekt (ANOVA, $p < 0,05$). Die Pfeile zeigen Veränderungen der Versuchsbedingungen an (Tab.1).

3.2.5.10 Die grooming-Dauer (Abb.30)

Bedingung 1: Die MANOVA zeigte, dass die C57BL/6-Mäuse sich signifikant länger putzten als die DBA/2-Mäuse ($F_{1,36}=61,18$, $p < 0,0001$). Außerdem zeigte sich ein signifikanter Versuchseffekt ($F_{3,108}=15,07$, $p < 0,0001$) und eine signifikante Stamm x Wiederholung-Interaktion ($F_{3,108}=18,97$, $p < 0,0001$).

Bedingung 2: Die MANOVA zeigte eine signifikant längere grooming-Dauer bei den C57BL/6-Mäusen ($F_{1,36}=51,94$, $p < 0,0001$).

Bedingung 3: Die MANOVA zeigte einen signifikant längere grooming-Dauer bei den C57BL/6-Mäusen ($F_{1,36}=12,53$, $p=0,001$) und eine signifikante Abnahme von grooming durch die Vitamin D-Behandlung ($F_{1,36}=4,85$, $p=0,034$).

Bedingung 4: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit längerer grooming-Dauer bei den C57BL/6-Mäusen ($F_{1,36}=8,58$, $p=0,006$), einen signifikanten Behandlungseffekt mit Abnahme von grooming durch das Vitamin D ($F_{1,36}=7,10$, $p=0,011$), einen signifikanten Versuchseffekt ($F_{5,180}=4,10$, $p=0,001$) und eine signifikante Interaktion Stamm x Versuch ($F_{5,180}=5,54$, $p < 0,0001$). Die Versuchswiederholung bewirkte bei der C57BL/6-Vehikel-Gruppe eine Zunahme des groomings ($F_{5,5}=8,474$, $p=0,017$).

Bedingung 5: Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit längerem *grooming* bei den C57BL/6-Mäusen ($F_{1,36}=4,34$, $p=0,044$), aber keinen signifikanten Behandlungs- oder Versuchseffekt.

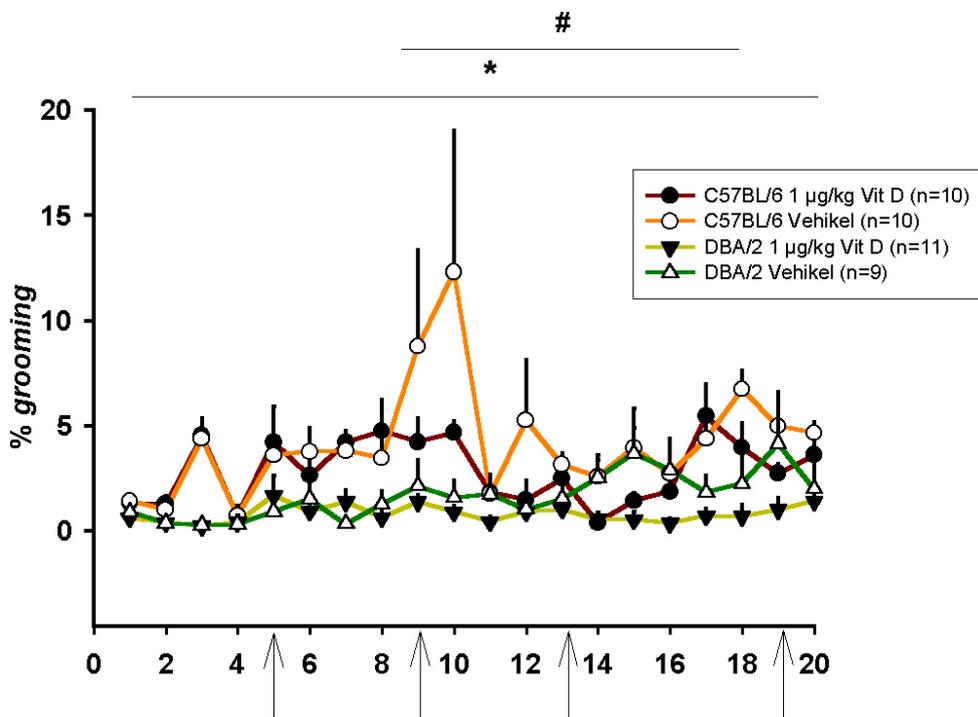


Abbildung 30: Die *grooming*-Dauer. *signifikanter Stammefekt, #signifikanter Behandlungseffekt (ANOVA, $p<0,05$). Die Pfeile zeigen Veränderungen der Versuchsbedingungen an (Tab.1).

3.3 Experiment 3: Einfluss von Vitamin D und Paroxetin auf das Verhalten der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse

3.3.1 Paroxetin- und Calciumspiegel, Gewichtsveränderungen

Bei keinem Tier fanden sich pathologische Veränderungen bei der visuellen Prüfung von Niere und Leber. Die ANOVA zeigte keinen signifikanten Stamm- oder Vitamin D-Einfluss auf den Paroxetinspiegel (Abb.31A) oder auf das Gewicht der Mäuse (Abb.31B).

Der Calciumspiegel unterschied sich nach der Zusammenfassung der Daten aus den beiden Experimenten nicht signifikant zwischen den beiden Stämmen, zeigte aber eine signifikante Interaktion Stamm x Behandlung ($F_{3,102}=4,577$, $p=0,005$) (Tab. 6).

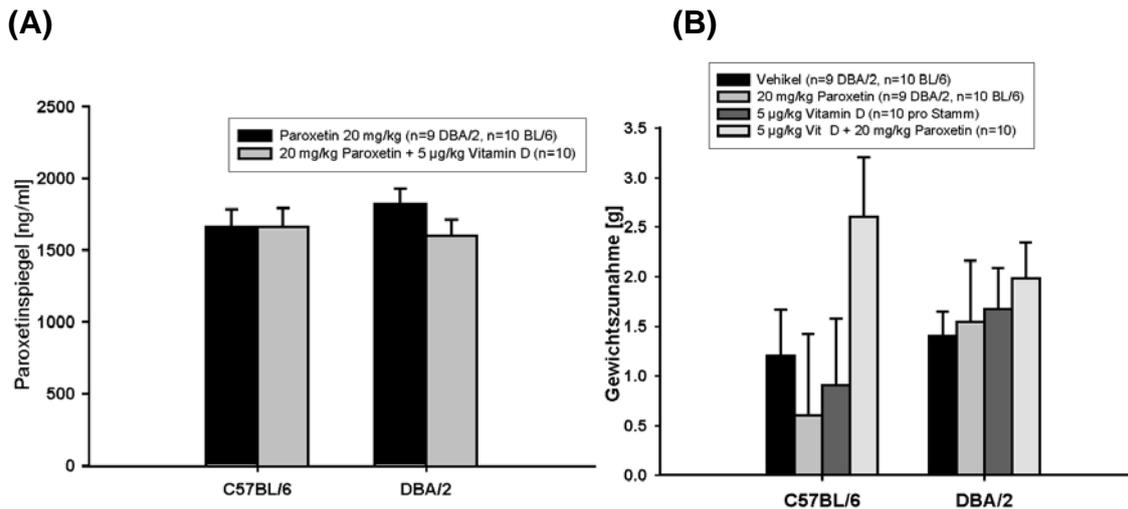


Abbildung 31: (A) Kein Einfluss der Vitamin D-Behandlung auf den Paroxetinspiegel der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse. (B) Kein Einfluss der Paroxetin- und Vitamin D-Behandlung auf das Gewicht der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse.

Stamm	Vehikel	1 µg/kg Vit D	5 µg/kg Vit D	Vit D + Parox
C57BL/6	2,52 ± 0,03 (n=20)	2,49 ± 0,04 (n=20)	2,30 ± 0,08 (n=10)	2,30 ± 0,08 (n=10)
DBA/2	2,41 ± 0,04 (n=14)	2,45 ± 0,03 (n=16)	2,52 ± 0,03 (n=10)	2,40 ± 0,04 (n=10)

Tabelle 6: Calciumspiegel (mmol/l) bei den C57BL/6- und den DBA/2-Mäusen in Abhängigkeit von der Behandlung. Keine signifikanten Behandlungs- oder Stammeffekte (ANOVA, $p < 0,05$).

3.3.2 Elevated Plus Maze am 19. Tag

In der MANOVA zeigte sich ein signifikanter Stammeffekt (Wilks' Lambda: $F_{18,52}=20,401$, $p < 0,0001$) und ein signifikanter Behandlungseffekt (Wilks' Lambda: $F_{54,156}=1,729$, $p = 0,005$) mit einer signifikanten Interaktion zwischen den beiden Parametern (Wilks' Lambda: $F_{54,156}=1,451$, $p = 0,040$).

In der ANOVA zeigte sich ein **signifikanter Stamm-Effekt** für folgende Parameter:

Die DBA/2-Mäuse verbrachten signifikant weniger Zeit auf den offenen Armen ($F_{1,69}=37,398$, $p < 0,0001$) (Abb.32) und auf der Plattform ($F_{1,69}=29,695$, $p < 0,0001$) (Abb.33) und signifikant mehr Zeit auf den geschlossenen Armen ($F_{1,69}=78,595$, $p < 0,0001$) (Abb.32). Sie betraten signifikant später die offenen Arme ($F_{1,69}=5,533$, $p = 0,022$) und signifikant früher die geschlossenen Arme ($F_{1,69}=28,411$, $p < 0,0001$) (Abb.34). Die Ratio der Eintritte in die offenen Arme zu allen Eintritten war bei den DBA/2-Mäusen signifikant kleiner als bei den C57BL/6-Tieren ($F_{1,69}= 64,562$, $p < 0,0001$) (Abb.35).

Die Latenz des *rearings* war bei den DBA/2-Mäusen signifikant kürzer als bei den C57BL/6-Mäusen ($F_{1,69}=57,300$, $p<0,0001$) (Abb.36). Die Anzahl der *rearings* ($F_{1,69}=13,672$, $p<0,0001$) (Abb.36) und die Anzahl aller Eintritte ($F_{1,69}=51,289$, $p<0,0001$) (Abb.35) war bei den DBA/2-Mäusen signifikant höher als bei den C57BL/6-Tieren. Für die Anzahl und die Latenz der *head dips* zeigten sich keine signifikanten Stammeffekte (Abb.37). Die DBA/2-Mäuse putzten sich signifikant früher ($F_{1,69}=149,558$, $p<0,0001$) und länger ($F_{1,69}=153,878$, $p<0,0001$) als die C57BL/6-Tiere (Abb.38).

Die ANOVA zeigte einen **signifikanten Behandlungseffekt** für folgende Parameter: Die Zeit in Prozent des *grooming* wurde bei den DBA/2-Tieren durch Paroxetin+Vitamin D und Paroxetin signifikant verkürzt ($F_{3,69}=8,579$, $p<0,0001$). Die Anzahl aller Eintritte ($F_{3,69}=5,239$, $p=0,003$) (Abb.35), die Latenz ($F_{3,69}=4,798$, $p=0,004$) und die Anzahl der *rearings* ($F_{3,69}=3,091$, $p=0,033$) (Abb.36) sowie die Anzahl der *head dips* ($F_{3,69}=2,903$, $p=0,041$) (Abb.37) wurden durch die Behandlung signifikant beeinflusst. Die Latenz des *groomings* wurde durch Paroxetin+Vitamin D sowie Paroxetin gesteigert ($F_{3,69}=7,325$, $p<0,0001$) (Abb.38).

Für folgende Parameter zeigte sich eine **signifikante Interaktion Stamm x Behandlung**: die Zeit in Prozent in den offenen ($F_{3,69}=3,201$, $p=0,029$) und in den geschlossenen Armen ($F_{3,69}=2,952$, $p=0,039$) (Abb.32), die Anzahl der *head dips* ($F_{3,69}=2,934$, $p=0,039$) (Abb.37), die mit *grooming* verbrachte Zeit ($F_{3,69}=7,787$, $p<0,0001$) und die Latenz des *groomings* ($F_{3,69}=4,211$, $p=0,009$) (Abb.38).

In der post-hoc-Analyse der Stämme zeigten sich folgende signifikanten Unterschiede: beim C57BL/6-Stamm unterschieden sich die Aufenthaltsdauer auf den geschlossenen Armen ($p=0,009$) (Abb.32), die Latenz ($p=0,004$) und die Anzahl der *rearings* ($p=0,021$) (Abb.36) sowie die Anzahl aller Eintritte zwischen der Paroxetin+Vitamin D- und der Vitamin D-Gruppe ($p=0,012$) (Abb.35).

Beim DBA/2-Stamm gab es einen signifikanten Unterschied in Prozent des *groomings* zwischen den Paroxetin+Vitamin D- und Vehikel- ($p=0,002$) und zwischen Paroxetin- und Vehikel-Gruppen ($p=0,001$), außerdem in der Latenz des *groomings* zwischen den Gruppen Paroxetin+Vitamin D und Vitamin D ($p=0,016$), Paroxetin+Vitamin D und Vehikel ($p=0,023$) sowie Paroxetin und Vitamin D ($p=0,044$) (Abb.38).

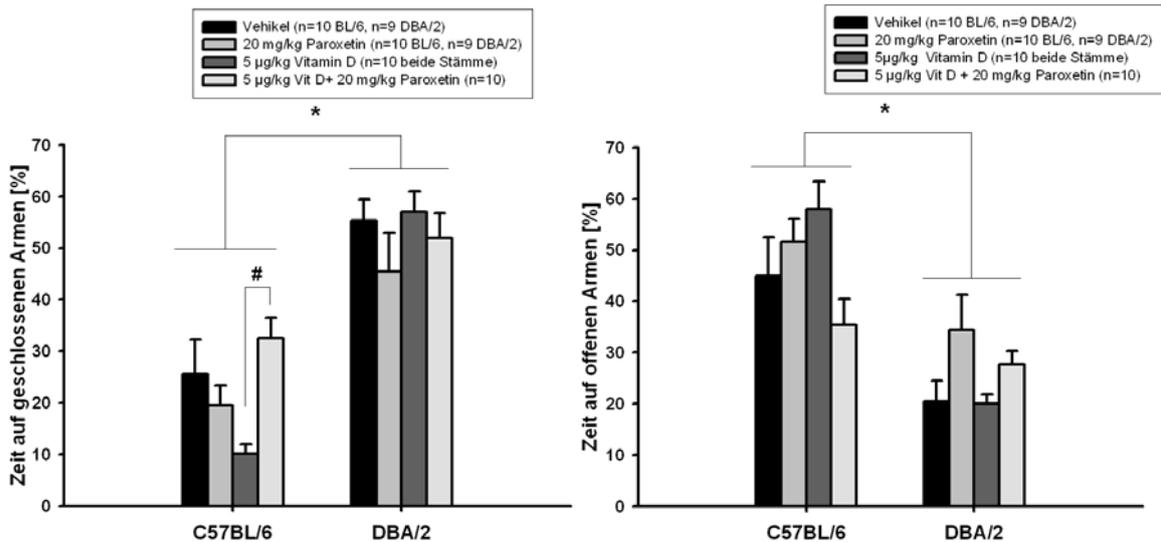


Abbildung 32: Zeit auf geschlossenen und offenen Armen des EPM der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von der Behandlung. *signifikanter Stammeffekt, #signifikanter Behandlungseffekt ($p < 0,05$).

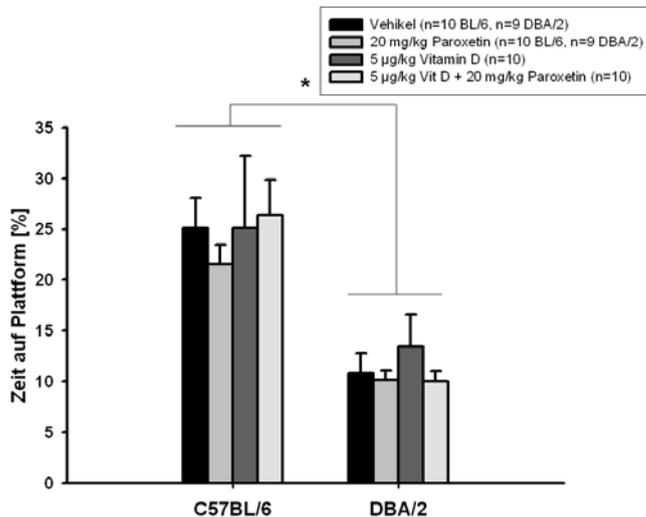


Abbildung 33: Zeit auf der Plattform in Abhängigkeit von der Behandlung bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen. *signifikanter Stammeffekt ($p < 0,05$).

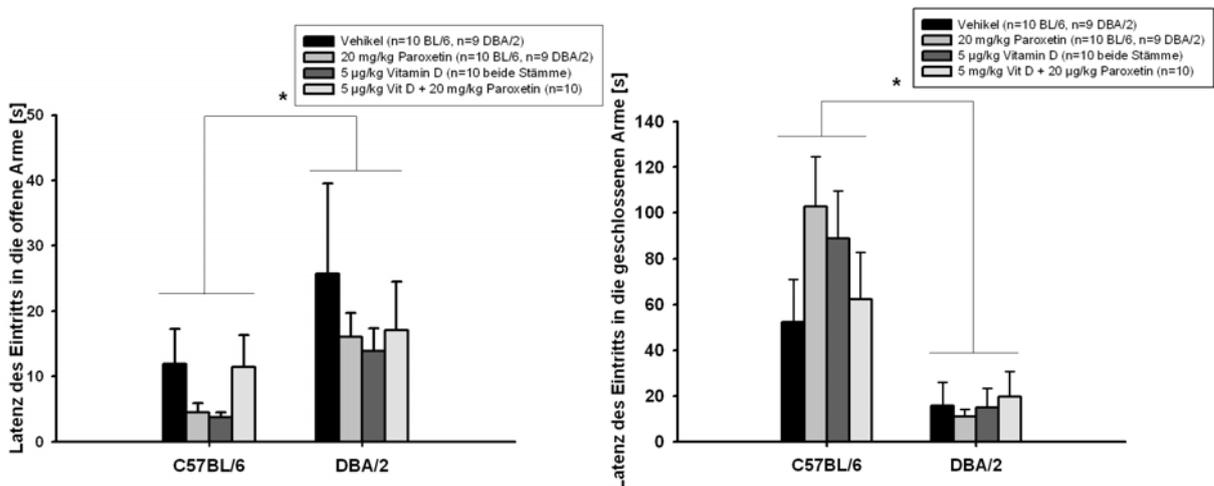


Abbildung 34: Latenz des Eintritts in die offenen und in die geschlossenen Arme des EPM in Abhängigkeit von der Behandlung bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen. *signifikanter Stammeffekt ($p < 0,05$).

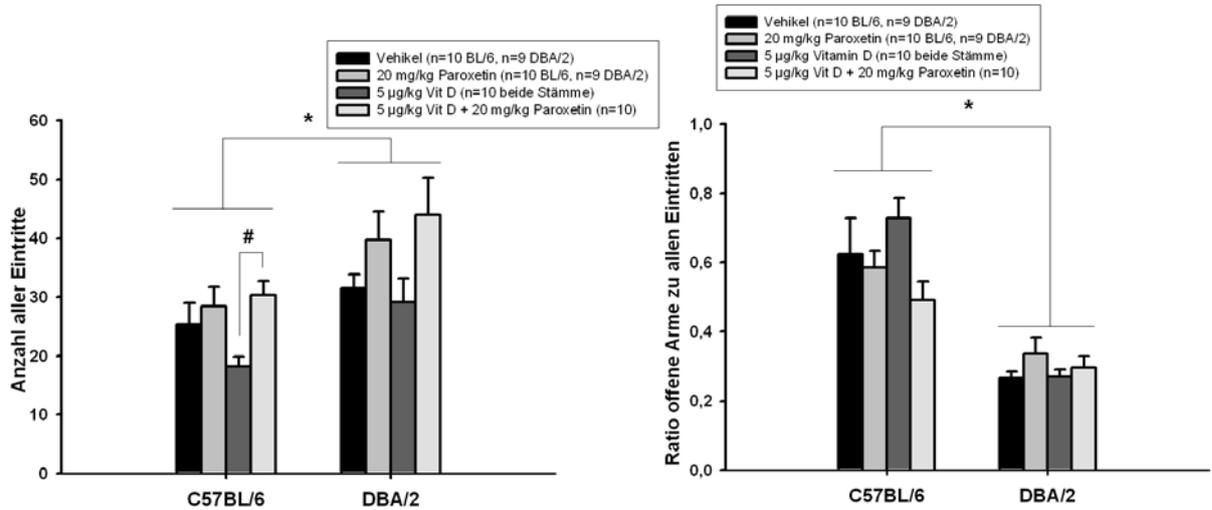


Abbildung 35: Anzahl aller Eintritte in die Arme des EPM und die Ratio der Eintritte in die offenen Arme zu allen Eintritten bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen in Abhängigkeit von der Behandlung. *signifikanter Stammeffekt, #signifikanter Behandlungseffekt ($p < 0,05$).

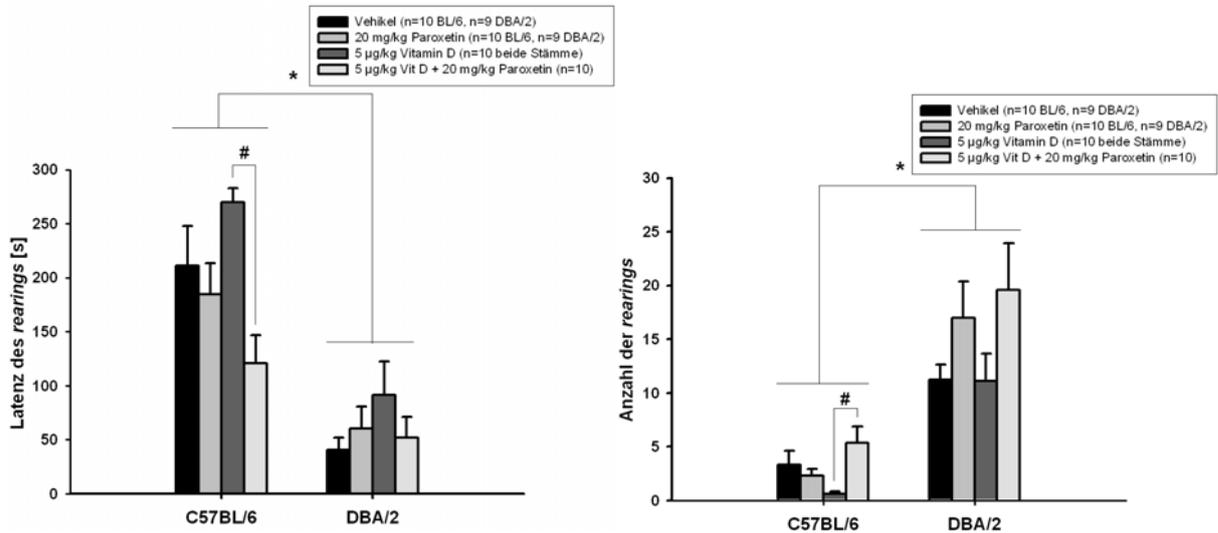


Abbildung 36: Latenz und Anzahl der rearings der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von der Behandlung. *signifikanter Stammeffekt, #signifikanter Behandlungseffekt ($p < 0,05$).

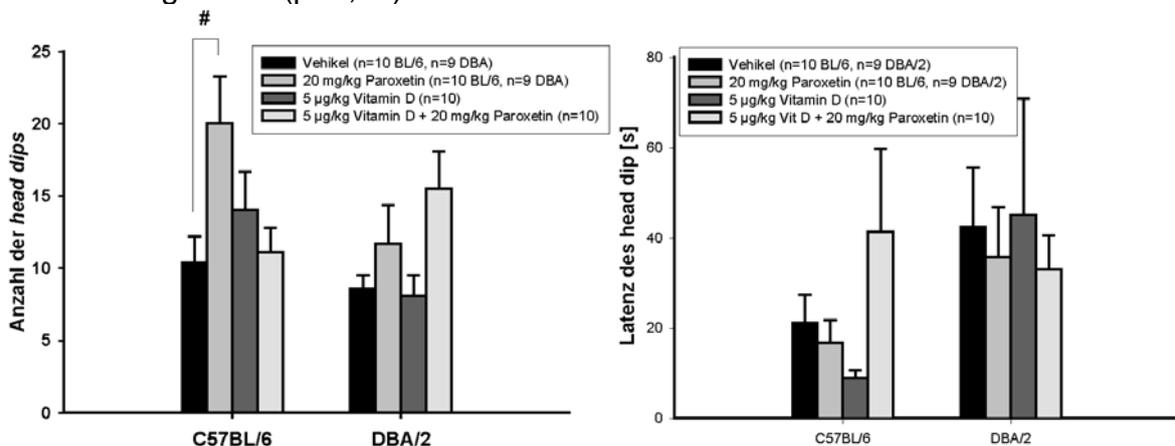


Abbildung 37: Anzahl und Latenz der head dips bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen in Abhängigkeit von der Behandlung. #signifikanter Behandlungseffekt innerhalb des C57BL/6-Stamms ($p < 0,05$).

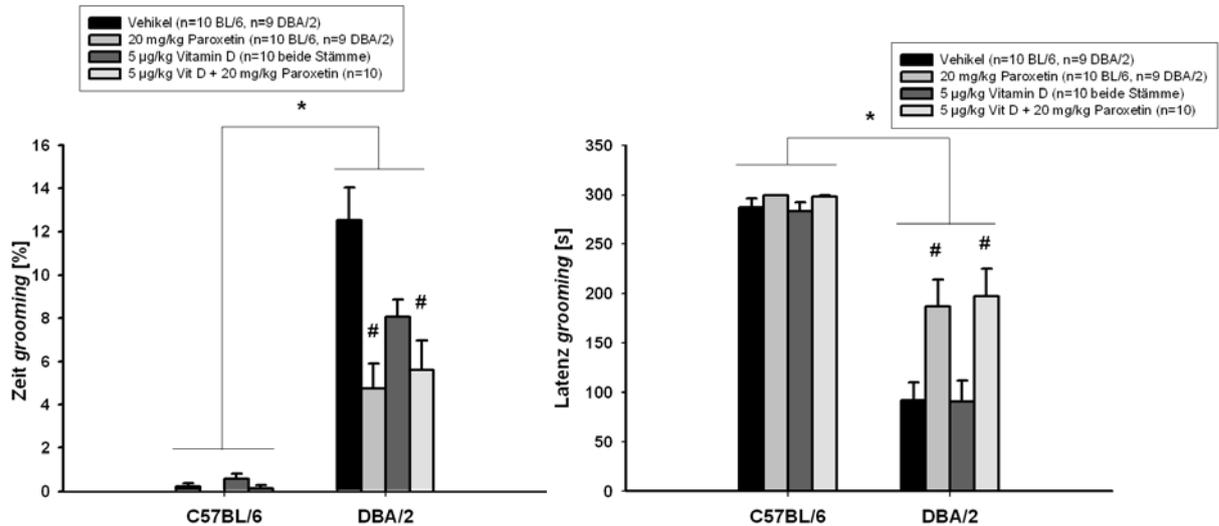


Abbildung 38: Grooming-Dauer und grooming-Latenz der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von der Behandlung. *signifikanter Stammeffekt. grooming-Zeit: #signifikanter Behandlungseffekt gegenüber DBA/2-Vehikeltieren; grooming-Latenz: #signifikanter Behandlungseffekt gegenüber den DBA/2-Vehikel- und den Vitamin D-behandelten DBA/2-Tieren ($p < 0,05$).

3.3.3 Rotarod am 21.Tag

Die Latenz des Falls vom Rotarod war in der dreifaktoriellen ANOVA bei den C57BL/6-Mäusen signifikant größer als beim DBA/2-Stamm ($F_{1,210}=70,160$, $p < 0,0001$) und nahm mit der Anzahl der Umdrehungen ab ($F_{2,210}=90,374$, $p < 0,0001$) (Abb. 39, 40). Es zeigte sich eine signifikante Interaktion zwischen dem Stamm und der Behandlung ($F_{3,210}=3,239$, $p=0,023$) und zwischen dem Stamm und der Umdrehungszahl ($F_{2,210}=12,808$, $p < 0,0001$): die Behandlung verlängerte nur bei den DBA/2-Tieren signifikant die Latenz des Falls ($F_{3,102}=4,215$, $p=0,007$). Im post-hoc Bonferroni zeigte ein signifikanter Behandlungseffekt bei den DBA/2-Tieren von Paroxetin+Vitamin D gegenüber Vehikel ($p=0,006$) (Abb.40).

Außerdem zeigte post-hoc Bonferroni signifikante Latenzunterschiede bei allen Umdrehungszahlen zwischen den beiden Stämmen, außer bei 10 U/min gegenüber 20 U/min beim DBA/2-Stamm ($p < 0,0001$).

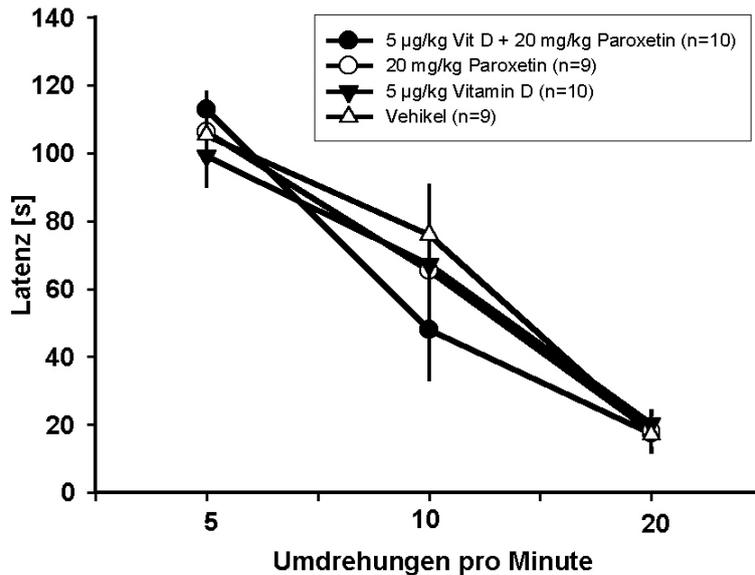


Abbildung 39: Latenz bis zum Fall vom Rotarod bei den C57BL/6-Mäusen in Abhängigkeit von der Behandlung sowie von der Drehzahl des Zylinders.

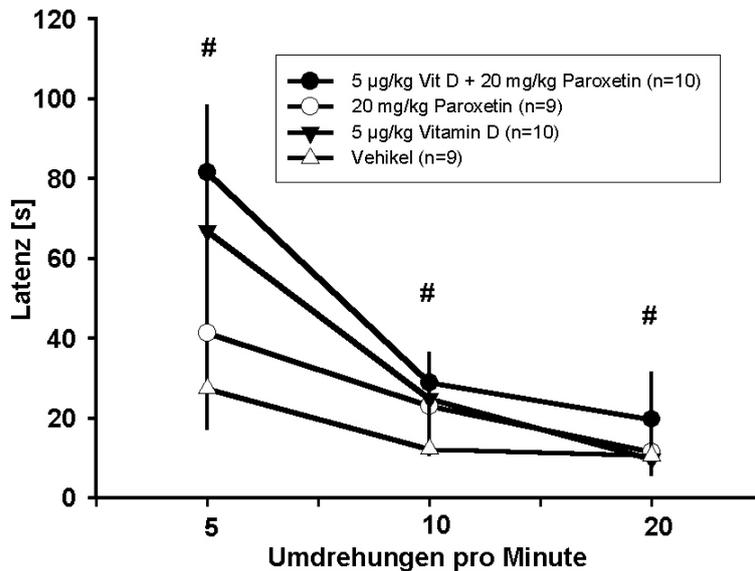


Abbildung 40: Latenz bis zum Fall vom Rotarod bei den DBA/2-Mäusen in Abhängigkeit von der Behandlung sowie von der Drehzahl des Zylinders. #signifikanter Behandlungseffekt von Paroxetin+Vitamin D gegenüber Vehikel ($p < 0,05$).

3.3.4 Forced Swimming Test am 22.Tag

Die MANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt (Wilks'Lambda: $F_{6,63}=13,337$, $p < 0,0001$) und einen signifikanten Behandlungseffekt (Wilks'Lambda: $F_{18,179}=2,937$, $p = 0,001$) mit einer signifikanten Interaktion zwischen den beiden Parametern (Wilks'Lambda: $F_{18,179}=2,068$, $p = 0,009$).

In der ANOVA zeigte sich ein signifikanter Stammeffekt für Prozent Immobilität ($F_{1,68}=43,762$, $p < 0,0001$) mit einer signifikanter Interaktion Stamm x Behandlung ($F_{3,68}=12,069$, $p < 0,0001$) (Abb.41). Außerdem zeigte sich ein signifikanter

Stammeseffekt für Prozent Schwimmen in der Paroxetingruppe ($F_{6,13}=6,263$, $p=0,003$) und in der Gruppe mit der Kombinationsbehandlung ($F_{6,12}=11,370$, $p<0,0001$) mit signifikanter Interaktion Stamm x Behandlung ($F_{3,68}=8,092$, $p<0,0001$) (Abb.42). Die Latenz des Schwimmens war in der ANOVA bei den DBA/2-Tieren signifikant kürzer als bei den C57BL/6-Mäusen ($F_{1,68}=61,039$, $p<0,0001$) (Abb.43). Für Prozent Klettern zeigte sich ein signifikanter Stamm- ($F_{1,68}=4,301$, $p=0,042$) und Behandlungseffekt ($F_{3,68}=6,823$, $p<0,0001$) (Abb.43), wobei Paroxetin nur bei den DBA/2-Mäusen eine signifikante Zunahme des Kletterns bewirkte ($p=0,007$) (Abb.43).

Die post-hoc Tests ergaben, dass die Vitamin D- und die Vehikelbehandelten Tiere keinen Unterschied in der Immobilitätsdauer zeigten, während Paroxetin alleine und in Kombination mit Vitamin D einen signifikanten Behandlungseffekt bei den DBA/2-Mäusen hatte ($F_{3,35}=10,112$, $p<0,0001$), wobei Paroxetin alleine ($p<0,001$ versus Vitamin D oder $p=0,015$ versus Vehikel) oder in Kombination mit Vitamin D ($p=0,01$ versus Vitamin D oder $p=0,035$ versus Vehikel) eine Abnahme der Immobilität bewirkte (Abb.41). Die post-hoc Tests ergaben außerdem, dass die Paroxetin-Behandlung bei den C57BL/6-Tieren eine Abnahme der Schwimmdauer bewirkte ($F_{3,68}=9,292$, $p<0,0001$) (Abb.42).

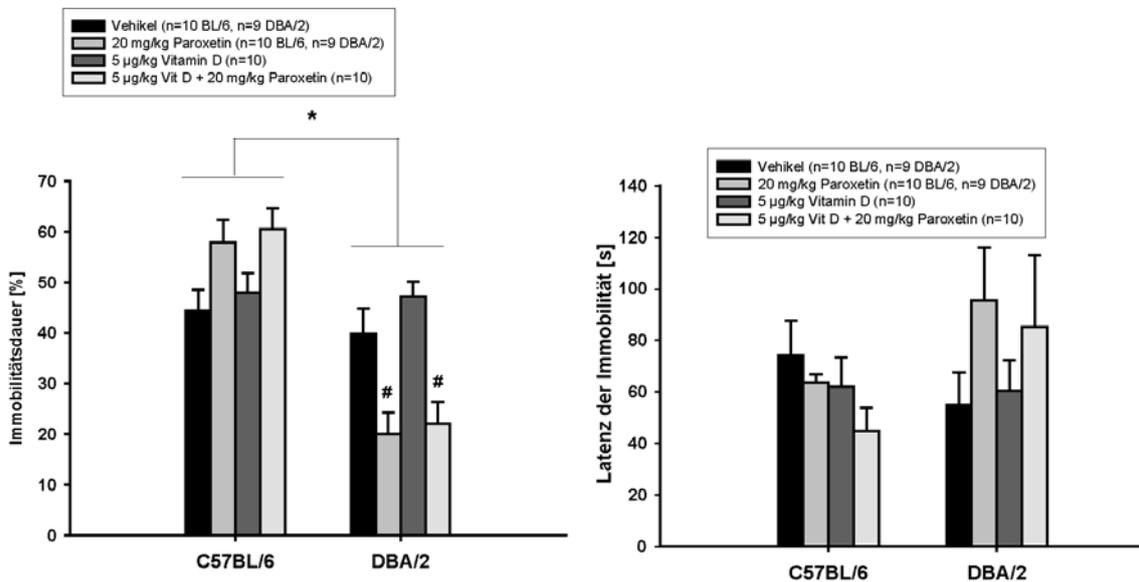


Abbildung 41: Die Dauer und die Latenz der Immobilität bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen in Abhängigkeit von der Behandlung. *signifikanter Stammeseffekt, #signifikanter Behandlungseffekt des Paroxetins (Paroxetin und Kombinationsbehandlung versus Vehikel und Vitamin D) innerhalb des DBA/2-Stammes ($p<0,05$).

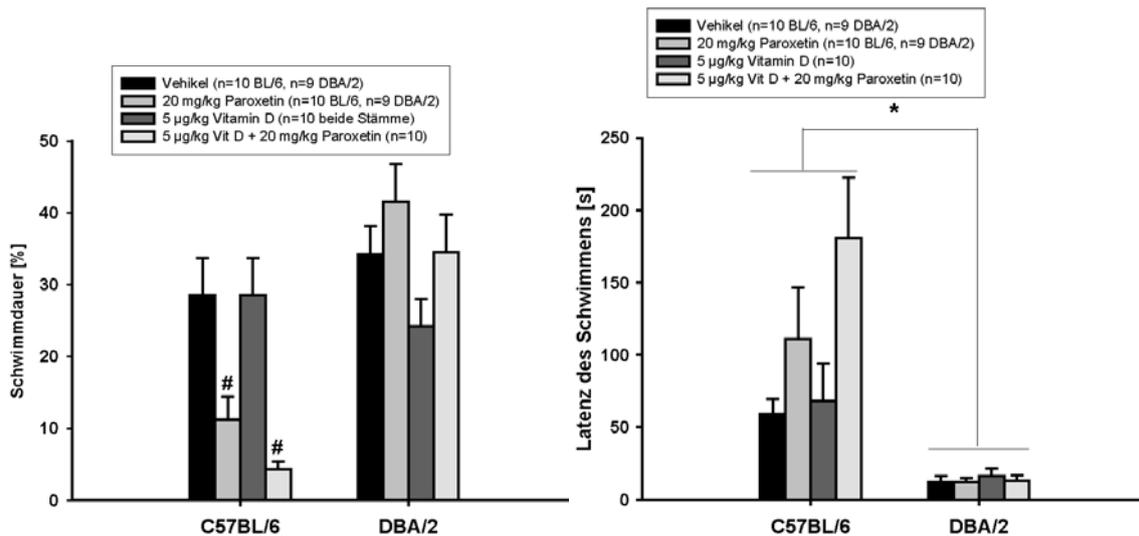


Abbildung 42: Die Dauer und die Latenz des Schwimmens der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von der Behandlung. #signifikanter Behandlungseffekt des Paroxetins versus Vehikel und Vitamin D-Gruppe innerhalb des C57BL/6-Stammes, *signifikanter Stammeffekt ($p < 0,05$).

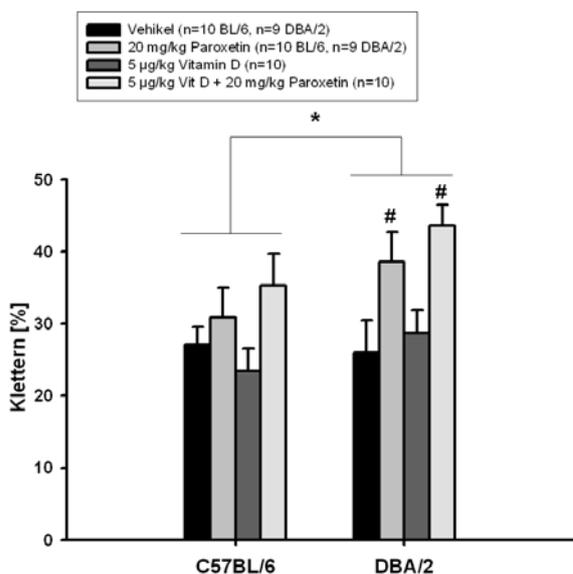


Abbildung 43: Die Dauer des Kletterns der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von der Behandlung mit Vitamin D oder Paroxetin. #signifikanter Behandlungseffekt des Paroxetins und der Kombinationsbehandlung versus Vitamin D und Vehikel bei den DBA/2-Mäusen ($p < 0,05$), *signifikanter Stammeffekt ($p < 0,05$).

3.4.1 Experiment 4.1: Auswirkung einer chronischen oralen Vitamin D-Gabe auf die basale und die stressinduzierte HPA- und HNS-Achsenregulation

3.4.1.1 Einfluss von 1 µg/kg Vitamin D auf die CRH-Expression im PVN

Die ANOVA zeigte einen signifikanten Versuchseffekt ($F_{1,68}=4,208$, $p=0,044$), aber keinen signifikanten Stamm- oder Behandlungseffekt. Die post-hoc Analyse der Daten zeigte, dass der Versuchseffekt nur bei den C57BL/6-Tieren ($F_{1,35}=4,944$,

$p=0,033$) und speziell innerhalb der Gruppe der Vitamin D-behandelten Tiere ($F_{1,17}=5,772$, $p=0,028$) auftrat (Abb.44, 45). Die CRH-Expression war bei diesen Tieren 4 Stunden nach dem FST supprimiert (Abb.44, 45).

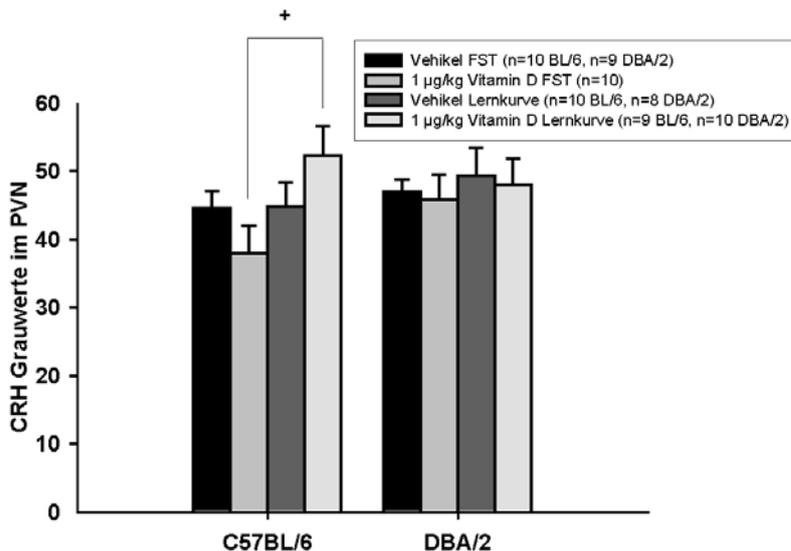


Abbildung 44: CRH-Expression im PVN bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen 5 Tage nach dem Lernkurventest und 4 Stunden nach dem FST in Abhängigkeit von der Behandlung mit Vitamin D. +signifikanter Versuchseffekt bei den Vitamin D-behandelten C57BL/6-Tieren (ANOVA, $p<0,05$).

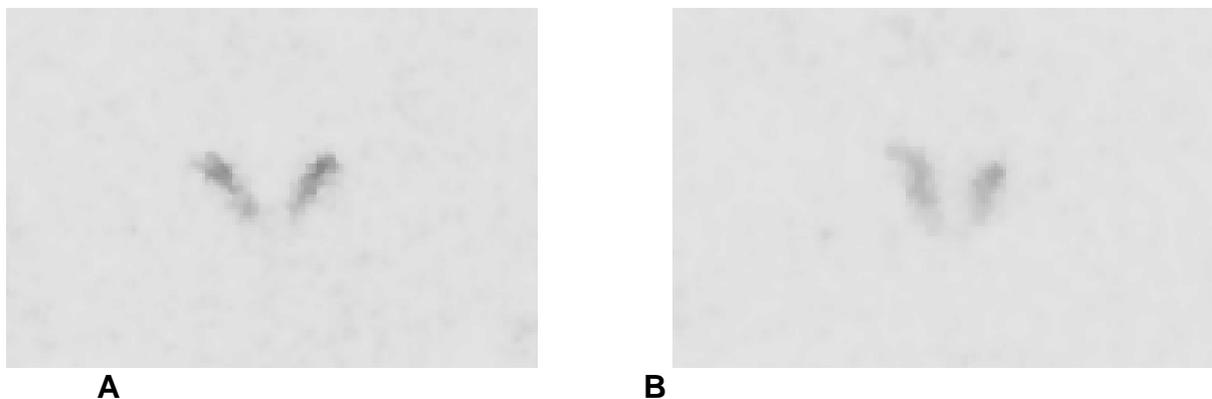


Abbildung 45: Beispiele für die CRH-Expression im PVN bei den C57BL/6-Mäusen (A) 5 Tage nach dem Lernkurventest und (B) 4 Stunden nach dem FST.

3.4.1.2 Einfluss von 1 µg/kg Vitamin D auf die CRH-Expression in der Amygdala

Die ANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit höherer CRH-Expression beim DBA/2-Stamm ($F_{1,64}=6,317$, $p=0,014$), aber keinen signifikanten Versuchs- oder Behandlungseffekt (Abb.46).

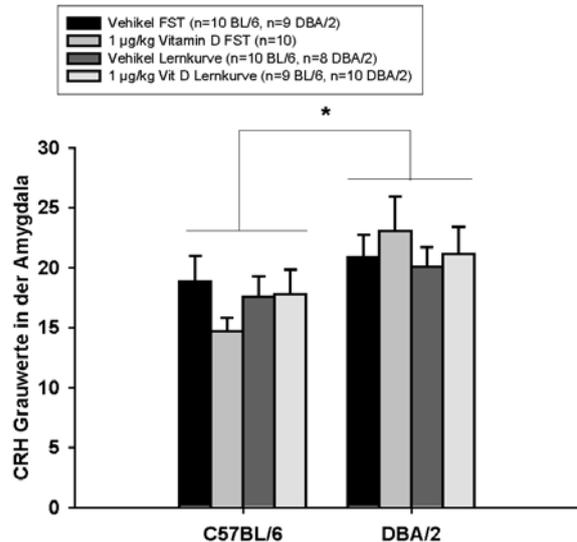


Abbildung 46: CRH-Expression in der Amygdala bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen 5 Tage nach der Lernkurve und 4 Stunden nach dem FST in Abhängigkeit von der Behandlung mit Vitamin D. *signifikanter Stammeffekt (ANOVA, $p<0,05$).

3.4.1.3 Einfluss von 1 µg/kg Vitamin D auf die AVP-Expression im PVN

Die ANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit höherer AVP-Expression beim DBA/2-Stamm ($F_{1,58}=25,491$, $p<0,0001$), aber keinen signifikanten Versuchs- oder Behandlungseffekt (Abb.47).

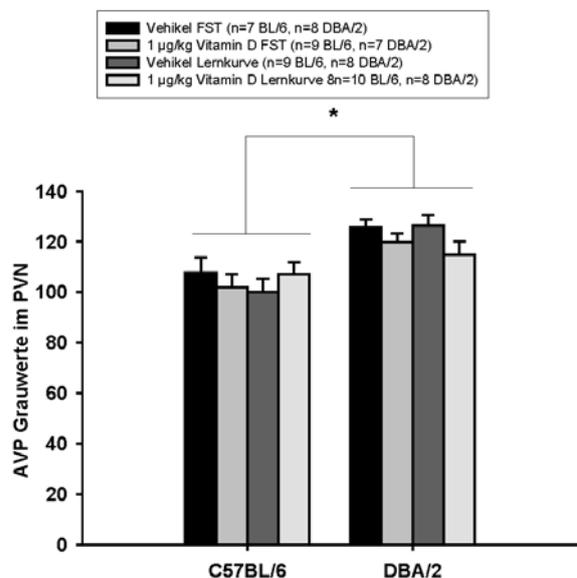


Abbildung 47: AVP-Expression im PVN bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen in Abhängigkeit von der Behandlung mit Vitamin D. *signifikanter Stammeffekt (ANOVA, $p<0,05$).

3.4.1.4 Einfluss von 1 µg/kg Vitamin D auf die AVP-Expression im SON

Die ANOVA zeigte, dass die AVP-Expression im SON des DBA/2-Stammes signifikant höher im Vergleich zum C57BL/6-Stamm war ($F_{1,60}=12,594$, $p=0,001$) (Abb.49) und durch die Behandlung signifikant vermindert wurde ($F_{1,60}=5,611$, $p=0,021$) ohne eine signifikante Interaktion zwischen dem Stamm und der Behandlung und bei fehlendem Versuchseffekt. Die post-hoc-Tests zeigten jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (Abb.48).

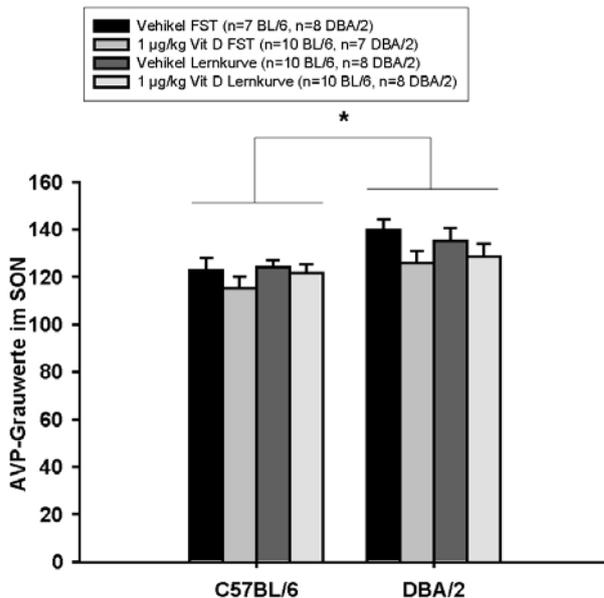


Abbildung 48: AVP-Expression im SON bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen nach der Testbatterie im Vergleich zur Lernkurve in Abhängigkeit von der Behandlung mit Vitamin D. *signifikanter Stammeffekt (ANOVA, $p<0,05$).

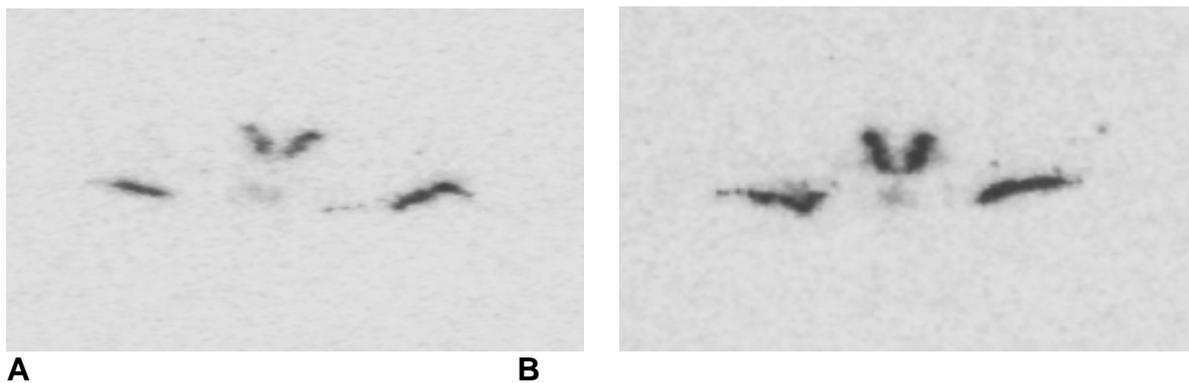


Abbildung 49: Beispiele für AVP-Expression im PVN und SON bei den C57BL/6- (A) und DBA/2- (B) Mäusen 5 Tage nach der Lernkurve.

3.4.1.5 Einfluss von 1 µg/kg Vitamin D auf den ACTH-Spiegel

Die ANOVA zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Stämmen, Versuchs- und Behandlungsgruppen (Abb.50).

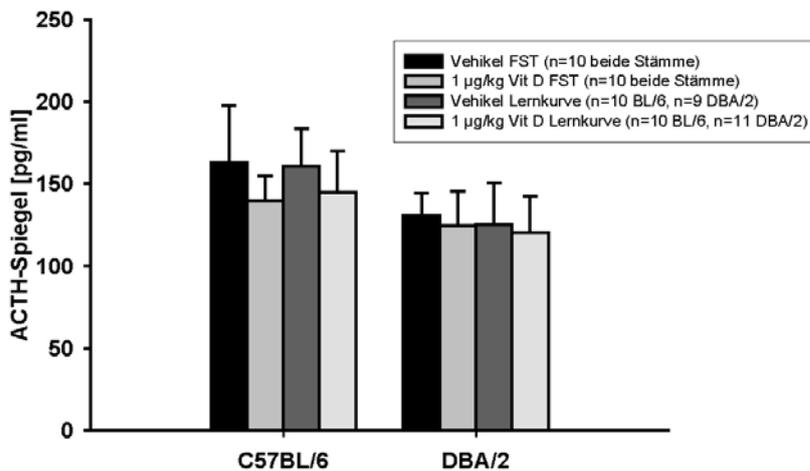


Abbildung 50: ACTH-Spiegel bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen basal und 4 Stunden nach dem FST. Keine signifikanten Unterschiede.

3.4.1.6 Einfluss von 1 µg/kg Vitamin D auf den Corticosteronspiegel

Die ANOVA zeigte, dass der Corticosteronspiegel bei den DBA/2-Mäusen signifikant höher war als bei den C57BL/6-Tieren ($F_{1,58}=5,326$, $p=0,025$). Die ANOVA zeigte keinen signifikanten Versuchs- oder Behandlungseffekt. Da die Interaktion Stamm x Versuch grenzwertig signifikant war ($F_{1,58}=3,980$, $p=0,051$), haben wir post-hoc Tests durchgeführt. Die ANOVA zeigte den signifikanten Stammeffekt nur in der Gruppe der gestressten Tiere ($F_{1,31}=12,888$, $p=0,001$) (Abb.51).

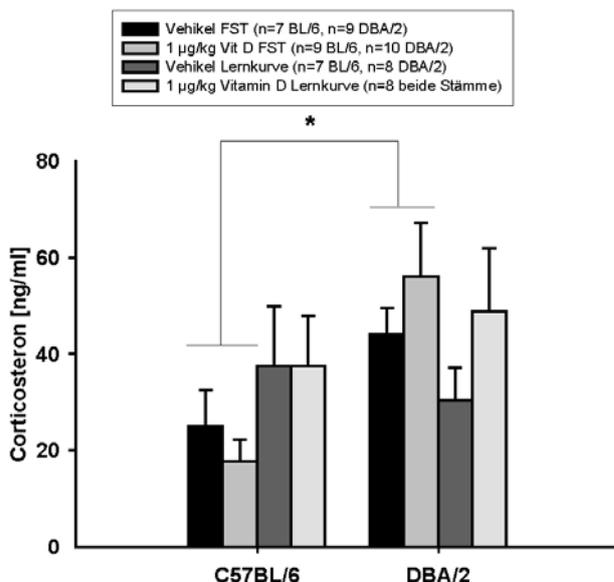


Abbildung 51: Einfluss der chronischen Vitamin D-Behandlung auf den Corticosteronspiegel bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen. *signifikanter Stammeffekt versus C57BL/6-Mäuse der FST-Gruppe (ANOVA, $p<0,05$).

3.4.2 Experiment 4.2: Beeinflussung der HPA- und der HNS-Achse durch eine chronische orale Vitamin D- und / oder Paroxetingabe bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen

3.4.2.1 Einfluss von Paroxetin / Vitamin D auf die CRH-Expression im PVN

Die ANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit einer stärkeren CRH-Expression beim C57BL/6-Stamm ($F_{1,63}=11,831$, $p=0,001$) ohne einen signifikanten Behandlungseffekt (Abb.52).

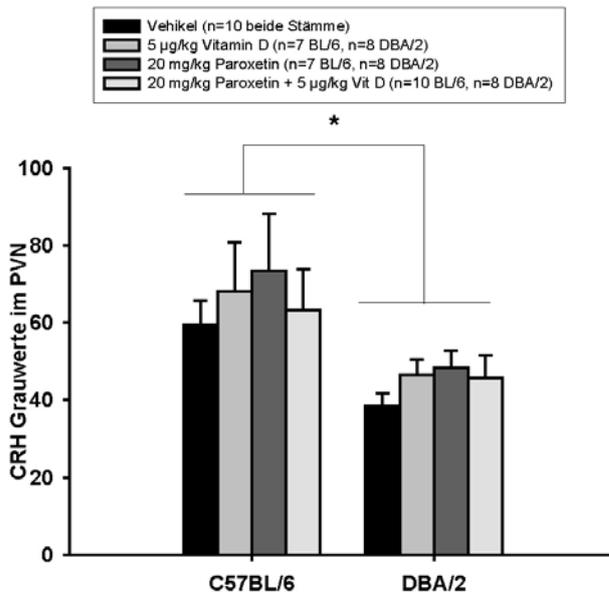


Abbildung 52: CRH-Expression im PVN bei den C57BL/6- und DBA/2-Tieren in Abhängigkeit von der Behandlung. *signifikanter Stammeffekt (ANOVA, $p<0,05$).

3.4.2.2 Einfluss von Paroxetin / Vitamin D auf die CRH-Expression in der Amygdala

Die ANOVA zeigte einen signifikanten Stammeffekt mit einer stärkeren CRH-Expression beim C57BL/6-Stamm ($F_{1,60}=5,927$, $p=0,018$), aber keinen signifikanten Behandlungseffekt (Abb.53).

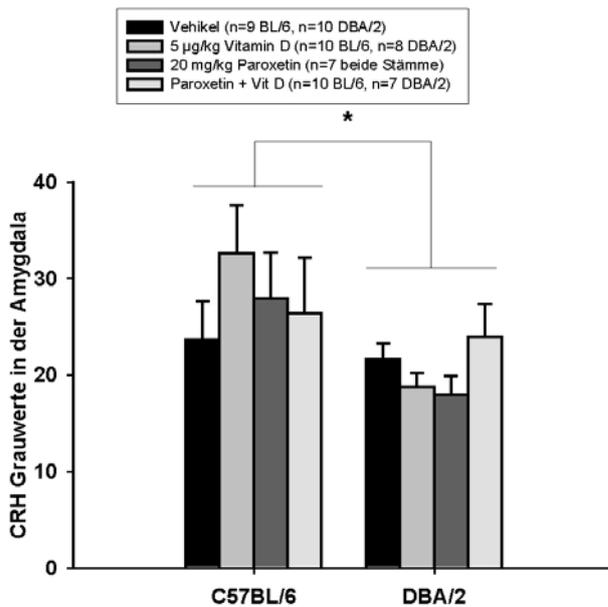


Abbildung 53: CRH-Expression in der Amygdala bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen in Abhängigkeit von der Behandlung. *signifikanter Stammeffekt (ANOVA, $p < 0,05$).

3.4.2.3 Einfluss von Paroxetin / Vitamin D auf die AVP-Expression im PVN

Die ANOVA zeigte eine signifikant stärkere AVP-Expression beim DBA/2-Stamm ($F_{1,65}=61,315$, $p < 0,0001$), aber keinen signifikanten Behandlungseffekt (Abb.54).

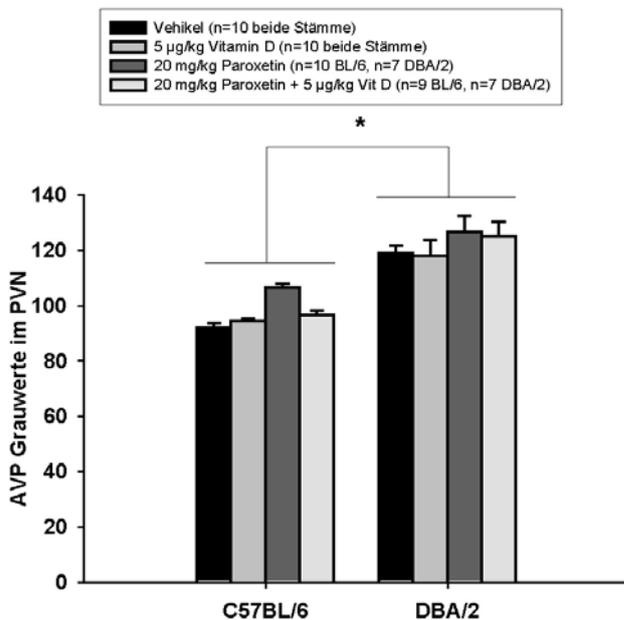


Abbildung 54: AVP-Expression im PVN bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen in Abhängigkeit von Behandlung. *signifikanter Stammeffekt (ANOVA, $p < 0,05$).

3.4.2.4 Einfluss von Paroxetin / Vitamin D auf die AVP-Expression im SON

Die AVP-Expression im SON war bei den DBA/2-Tieren signifikant höher als bei den C57BL/6-Mäusen ($F_{1,66}=38,771$, $p<0,0001$). Die ANOVA zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen (Abb.55).

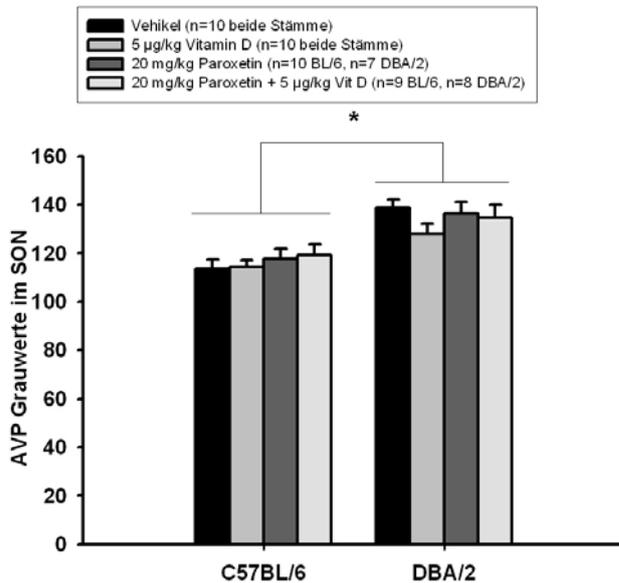


Abbildung 55: AVP-Expression im SON bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen in Abhängigkeit von Behandlung. *signifikanter Stammeffekt (ANOVA, $p<0,05$).

3.4.2.5 Einfluss von Paroxetin / Vitamin D auf den ACTH-Spiegel

Die ANOVA zeigte keine signifikanten Stamm- oder Behandlungseffekte auf den ACTH-Spiegel bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen (Abb.56).

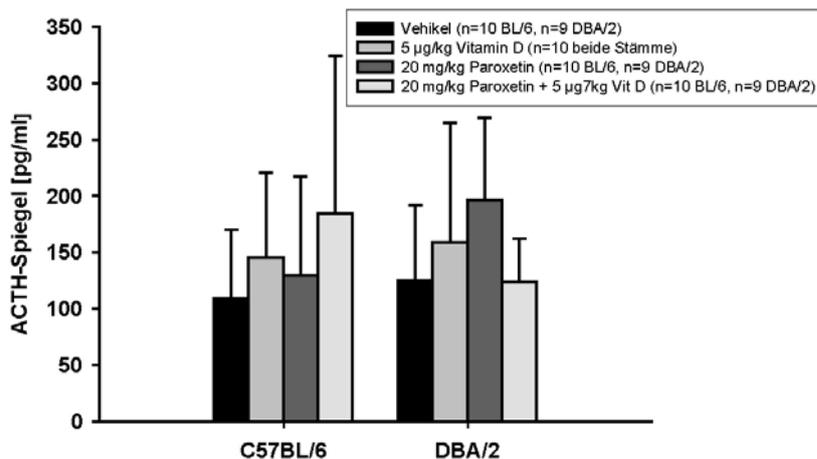


Abbildung 56: ACTH-Spiegel bei C57BL/6- und DBA/2-Mäusen in Abhängigkeit von Vitamin D- und / oder Paroxetin-Behandlung. Keine signifikanten Effekte.

3.4.2.6 Einfluss von Paroxetin / Vitamin D auf den Corticosteronspiegel

Die ANOVA zeigte, dass der Corticosteronspiegel bei den DBA/2-Mäusen signifikant höher war als bei den C57BL/6-Mäusen ($F_{1,61}=12,438$, $p=0,001$). Die post-hoc Tests

zeigten, dass der Stammeffekt in der Paroxetin+Vitamin D- ($F_{1,14}=8,730$, $p=0,010$) und in der Vitamin D-Gruppe ($F_{1,16}=4,620$, $p=0,047$) signifikant war (Abb.57).

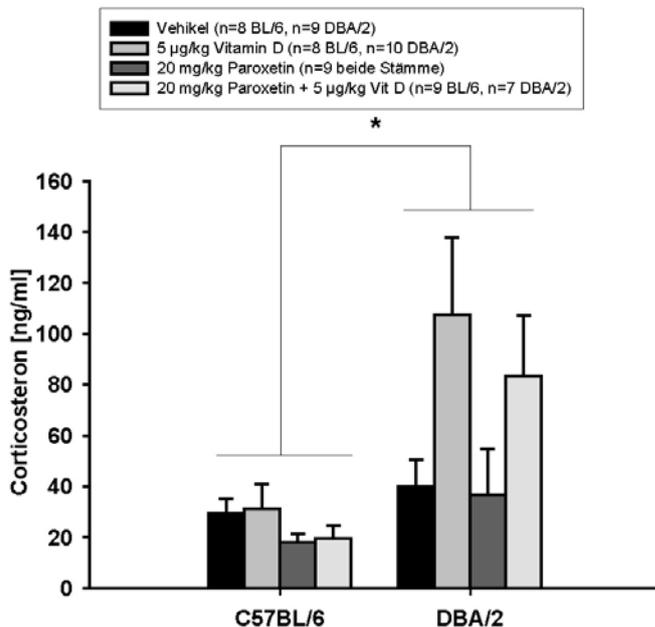


Abbildung 57: Corticosteronspiegel bei den C57BL/6- und DBA/2- Mäusen in Abhängigkeit von der Behandlung. *signifikanter Stammeffekt (ANOVA, $p<0,05$).

4 DISKUSSION

4.1 Mögliche Ursachen für den fehlenden Cholecystokinin-Effekt

4.1.1 CCK als Neuromodulator v.a. des dopaminergen Systems

In unseren Experimenten wirkte die alleinige systemische Gabe von 2, 5 oder 10 µg/kg CCK8s nicht anxiogen.

Cholecystokinin ist im Allgemeinen mit anderen Neurotransmittern kolokalisiert (Hokfelt, Skirboll *et al.* 1985) und wirkt, vor allem im dopaminergen System, als Neuromodulator. Die Zerebrospinalflüssigkeit der Suchtspieler enthält im Vergleich zu den gesunden Probanden mehr CCK8s und CCK4 (Nordin & Sjodin 2007), was eine Rolle von CCK bei dopaminerg vermittelten Belohnungsvorgängen vermuten lässt. Ein Fehlen von CCK₂-Rezeptoren führt zur erhöhten Empfindlichkeit auf dopaminerge Substanzen (Koks, Abramov *et al.* 2003), möglicherweise weil mehr CCK₁-Rezeptoren besetzt werden, die die dopaminerge Wirkung verstärken (Hommer, Stoner *et al.* 1986; Crawley, Stivers *et al.* 1985). CCK hemmt die Dopaminfreisetzung im anterioren und fördert sie im posterioren Teil des Ncl. accumbens (Hokfelt, Skirboll *et al.* 1980; Crawley 1984; White & Wang 1984), welcher eine große Rolle für die Motivation spielt (Taghzouti, Louilot *et al.* 1985).

Durch die Beeinflussung des dopaminergen Systems via CCK₂-Rezeptoren moduliert CCK das Explorationsverhalten bei Ratten (Ballaz, Akil *et al.* 2007). Im Ncl. accumbens, in dem CCK und Dopamin kolokalisiert sind, verstärkt CCK die Dopamin-induzierte Hyperlokomotion; im Ncl. caudatus, in dem CCK und Dopamin sich in verschiedenen Neuronen befinden, zeigt es dagegen keinen Effekt (Crawley, Stivers *et al.* 1985). Das heißt, CCK8 moduliert dopaminerge Wirkungen, hat aber selbst keinen Verhaltenseffekt (Hokfelt, Broberger *et al.* 2000). Eine systemische CCK8-Gabe in unseren Versuchen erlaubte es nicht, bestimmte dopaminerge Neurone selektiv anzusteuern, so dass sich keine eindeutigen Effekte von CCK zeigten. Außerdem beeinflusst CCK nicht nur das dopaminerge System: *in vitro* stimuliert es die 5HT-Neurone des Ncl. raphe (Boden, Woodruff *et al.* 1991).

CCK-Effekte hängen auch vom Ort der Rezeptorstimulation ab: in der Amygdala vermitteln CCK₂-Rezeptoren das Angstverhalten, im Ncl. accumbens das Belohnungsverhalten (Rotzinger & Vaccarino 2003).

Die Komplexität der CCK-Wirkung verdeutlicht auch die Tatsache, dass die CCK4-induzierte Panik zu Veränderungen des Spiegels der Neurosteroiden 3alpha, 5alpha-Tetrahydrodeoxycorticosteron und -progesteron führt, welche selbst als positive allosterische Modulatoren der GABA_A-Rezeptoren fungieren und anxiolytisch wirken und so die CCK4-induzierte Panik beenden könnten (Eser, di Michele *et al.* 2005).

4.1.2 Spezies- und Stammunterschiede der CCK-Empfindlichkeit

CCK induziert Panik bei gesunden Probanden (de Montigny 1989) und wirkt anxiogen bei Ratten (Hernandez-Gomez, Aguilar-Roblero *et al.* 2002) und Mäusen (Crawley, Hays *et al.* 1981; O'Neill, Dourish *et al.* 1991). Jedoch existieren Speziesunterschiede in der Verteilung der CCK-Rezeptoren im Gehirn (Williams, Gryson *et al.* 1986), die die Übertragung von Erfahrungen mit Tiermodellen auf den Menschen und umgekehrt erschweren können. So haben Mäuse im Gegensatz zu anderen Tierarten keine CCK-Rezeptoren in den Basalganglien, die die Feinabstimmung der Motorik vermitteln (Dietl & Palacios 1989) und weniger CCK₁-Rezeptoren im Rückenmark als beim Menschen (Hill, Shaw *et al.* 1988).

Dass der von uns gewählte C57BL/6-Stamm für die Effekte dieses Neuropeptids unempfindlich ist, ist nicht auszuschließen. Manche CCK-Rezeptor-Antagonisten steigern die lokomotorische Aktivität der Balb-Mäuse, haben aber keinen Effekt beim

C57BL/6-Stamm (Kolik, Gudasheva *et al.* 2003). CCK₂-Rezeptor-Antagonisten wirken anxiolytisch nur bei manchen Rattenstämmen (Farook, Zhu *et al.* 2004).

Allerdings haben viel höhere Dosierungen von CCK8s bei noch ängstlicheren DBA/2-Mäusen keinen Verhaltenseffekt 30 Minuten nach Injektion auf dem EPM gezeigt, außer einer Verhaltenshemmung bei 100 µg/kg (Johnson & Rodgers 1996).

4.1.3 Konnte Cholecystinin nach 30 Minuten zentral wirken?

Der endogene CCK-Spiegel steigt nach jeder Nahrungsaufnahme erheblich an, erreicht sein Maximum nach 30 Minuten und ist noch 4 Stunden nach der Nahrungsaufnahme erhöht (Thompson, Fender *et al.* 1975), so dass wir nicht ausschließen können, dass die CCK-Spiegel bei unseren Mäusen unabhängig von der i.p. CCK8s-Injektion je nach Nahrungsaufnahme unterschiedlich waren.

Das exogen zugeführte CCK wird andererseits schnell von Peptidasen im Blut abgebaut und ist beim Menschen nach 15 Minuten nicht mehr nachweisbar (Thompson, Fender *et al.* 1975). Somit können wir nicht mit Sicherheit davon ausgehen, dass CCK8s 30 Minuten nach der Injektion in seiner verabreichten Form und Konzentration noch wirkt. Da CCK8 den langlebigsten CCK-Agonisten darstellt (Deschodt-Lanckman & Bui 1981), wird es langsamer abgebaut, was für seine Verwendung in unseren Experimenten spricht.

Zentral appliziertes CCK erscheint sehr schnell im peripheren Blut, peripher verabreichtes CCK tritt dagegen nicht in die Zerebrospinalflüssigkeit über, was einen unidirektionalen Transport dieses Neuropeptids an der Blut-Hirn-Schranke vermuten lässt (Passaro E Jr, Debas *et al.* 1982). Bei niedrigen Konzentrationen ist nur die Permeation der durchlässigen Kapillaren der Zirkumventrikularorgane, z. B. der Neurohypophyse oder des Plexus choroideus, möglich; erst bei unphysiologisch hohen Blutspiegeln können Peptide aus dem Blut ins Hirngewebe übertreten (Ermisch, Ruhle *et al.* 1985). Möglicherweise verzögerte die Größe von CCK8 seine Penetration der Bluthirnschranke.

CCK-Applikation in den Seitenventrikel, aber nicht periphere Gabe führt bei Katzen zum Anstieg von Blutdruck, Atem- und Herzfrequenz (Pagani, Taveira da Silva *et al.* 1982). Intraventrikuläre Gabe von CCK8 senkt die Körpertemperatur bei Ratten (Katsuura & Itoh 1981). Nach der i.p. Gabe konnten wir dagegen keine Temperaturveränderungen bei unseren C57BL/6-Mäusen messen.

Neuere Studien zeigten allerdings keinen Unterschied in der panikogenen Wirkung von CCK8 zwischen peripherer i.p.-Gabe und zentraler Injektion in die Seitenventrikel bei Ratten (Zanoveli, Netto 2004). Trotzdem konnte CCK8s vermutlich aufgrund der mangelnden Penetration ins ZNS in unserem Protokoll bei Mäusen keinen Effekt zeigen.

Interessanterweise wirkt eine i.p. Gabe von CCK-Antisense-Oligonukleotiden anxiogen und beeinträchtigt das Gedächtnis; eine intrazerebroventrikuläre Gabe derselben Oligonukleotide wirkt dagegen anxiolytisch (Cohen, Kaplan *et al.* 2004), so dass CCK je nach Verabreichungsart unterschiedlich wirken kann.

4.1.4 Unterschiedliche Verhaltenseffekte von CCK

Die Wirkungen von CCK im ZNS sind mannigfaltig, so dass die Verhaltenseffekte teilweise nicht eindeutig sind.

CCK4 löst beim Menschen Paniksymptomatik aus (de Montigny 1989), CCK₂-Antagonisten bewirken bei Panikpatienten jedoch keine Symptomlinderung (Kramer, Cutler *et al.* 1995). CCK4 kann bei einer peripheren Applikation bei Ratten entweder anxiogen wirken (Harro & Vasar 1991) oder die Motivation und die Aufmerksamkeit durch eine verstärkte Dopaminfreisetzung im Ncl. accumbens steigern, je nach Ort der Rezeptorstimulation (Frankland, Josselyn *et al.* 1997).

Das Verhalten der Tiere nach einer CCK-Applikation ist manchmal unterschiedlich interpretierbar: die Explorationsminderung und die Hypolokomotion durch CCK8 bei Mäusen und Ratten kann entweder als eine beschleunigte Habituation (Crawley 1984), als Zeichen einer guten Erinnerung an die Umgebung (Gerhardt, Voits *et al.* 1994) oder als Reduktion des konditionierten Vermeidungsverhaltens (Cohen, Knight *et al.* 1982) gewertet werden.

Auch das Geschlecht beeinflusst die Wirkung von CCK: ein *Knockout* der CCK₂-Rezeptoren beseitigt die Verhaltenseffekte der sozialen Isolation bei weiblichen, aber nicht bei männlichen Mäusen (Abramov, Raud *et al.* 2004). Nur weibliche CCK₂-Rezeptor-*Knockout*-Mäuse sind im DLT weniger ängstlich als ihre Wildtypgenossen (Raud, Innos *et al.* 2005). CCK₂-Rezeptor-*Knockout*-Mäuse reagieren geschlechtsspezifisch auf Ethanol: möglicherweise werden durch den *Knockout* der CCK₂-Rezeptoren geschlechtsabhängig verschiedene Neurotransmitter wie z. B. Dopamin bei männlichen oder GABA bei weiblichen Mäusen bevorzugt beeinflusst (Abramov, Raud *et al.* 2006).

Angesichts der modulatorischen Eigenschaften des CCK hängt seine Wirkung von der Verabreichungsart, -ort und dem verwendeten Tiermodell ab. Speziell die Effekte des unselektiven CCK-Rezeptor-Agonisten CCK8s werden stark durch diese Faktoren beeinflusst (Zanoveli, Netto *et al.* 2004). Eine i.p. Gabe von CCK-Antisense-Oligodesoxynukleotiden wirkt anxiogen bei naiven, dagegen anxiolytisch bei gestressten Ratten (Cohen, Matar *et al.* 2002) oder bei intrazerebroventrikulärer Applikation (Cohen, Kaplan *et al.* 2004), so dass die CCK-Wirkung nicht nur von der Applikationsart, sondern auch von der Vorerfahrung des Tieres abhängt. Ratten, die nach der Geburt von ihrem Muttertier getrennt wurden, reagieren empfindlicher auf CCK4 als die bei der Mutter aufgezogenen Tiere (Greisen, Bolwig *et al.* 2005). Wir können nicht ausschließen, dass die i.p. Injektion an sich oder die vorausgegangenen Tests in unseren Experimenten Stressoren darstellen, die die Wirkung von CCK beeinflussen.

CCK8 wirkt bei einer intrazerebroventrikulären Gabe gedächtnisfördernd bei Ratten (Fekete, Balazs *et al.* 1982) und fördert selektive Aufmerksamkeit beim Menschen (Schreiber, Stolz-Born *et al.* 1995) via CCK₁-Rezeptoren. Eine CCK₂-Rezeptoraktivierung beeinträchtigt dagegen die Wortwiedererkennung bei gesunden Probanden oder die olfaktorische Wiedererkennung bei Ratten (Shlik, Koszycki *et al.* 1998; Lemaire, Piot *et al.* 1992). Da die CCK₁-Rezeptoren gedächtnisfördernde und CCK₂-Rezeptoren amnestische Effekte vermitteln, zeigte sich bei uns wohl aufgrund der mangelnden Rezeptorselektivität kein Einfluss von CCK8s auf das Gedächtnis.

4.1.5 Unterschiedliche Tests für Angst und Panik?

Durch die Implikation eines Angstgefühls inmitten und vor einer Panikattacke ist die getrennte Evaluation der beiden Gefühlszustände in einem Verhaltensparadigma schwierig. Angst äußert sich bei Tieren als Vermeidung exponierter Areale, Panik als Fluchtverhalten. Die Amygdala wird als neurobiologischer Ursprungskern der Angst, das periäquduktale Grau als die wichtigste Struktur für die Panikentstehung angesehen (Graeff, Silveira *et al.* 1993).

Möglicherweise sind EPM, DLT oder mHb zum Testen von Panik weniger geeignet als z. B. die *Mouse Defense Test Battery*. CCK-Antagonisten bleiben in den von uns verwendeten klassischen Angsttests ohne Effekt, erst im *Mouse Defense Test Battery* wirken sie panikolytisch (Griebel, Perrault *et al.* 1997). CCK₂-Rezeptor-*Knockout*-Mäuse sind weniger ängstlich auf dem EPM, reagieren aber stärker auf

Katzengeruch als Wildtyptiere (Areda, Raud *et al.* 2006), was mit einer verstärkten Panikreaktion gleichzusetzen ist. Die von uns verwendeten klassischen Angsttests bilden den Parameter Panik möglicherweise unzureichend ab.

4.1.6 Die Vermittlung der anxiogenen Wirkung durch die CCK₂-Rezeptoren

CCK8s wird im Körper zu CCK4 abgebaut, welches zum Teil gegensätzliche Effekte auf Lokomotion (Hsiao, Katsuura *et al.* 1984) und Aktivität der HPA-Achse (Millington, Mueller *et al.* 1992) hat. CCK8s besitzt höchste Affinität zu CCK₁-Rezeptoren, besetzt aber auch CCK₂-Rezeptoren. Diese Rezeptoren vermitteln teilweise gegensätzliche Wirkungen, so dass eine Stimulation beider Rezeptoren durch CCK8 zu sich aufhebenden Effekten führen könnte. CCK₁-Rezeptor-*Knockout*-Nagetiere sind nicht weniger ängstlich als der jeweilige Wildtyp (Miyasaka, Kobayashi *et al.* 2002; Hurwitz, Malkesman *et al.* 2006). CCK₂-Rezeptor-*Knockout*-Mäuse exprimieren kompensatorisch mehr CCK₁-Rezeptoren (Roots, Kairane *et al.* 2006) und zeigen weniger Angstverhalten als die Wildtypmäuse (Areda, Raud *et al.* 2006). CCK₂-Rezeptor-Überexprimierung oder höhere Dichte der CCK₂-Rezeptoren im Hypothalamus führt zur höheren Ängstlichkeit bei Tieren (Chen, Nakajima *et al.* 2006; Li, Deng *et al.* 2007).

Die anxiogene Wirkung wird also vor allem durch CCK₂-Rezeptoren vermittelt. Bei den Panikpatienten konnte kein häufigeres Vorkommen bestimmter CCK₁-Rezeptor-Polymorphismen festgestellt werden (Ise, Akiyoshi *et al.* 2003). Die CCK₂-Rezeptorpolymorphismen sind dagegen mit Panikstörung assoziiert (Hösing, Schirmacher *et al.* 2004). CCK8s-Injektionen i.p. und zentral in das periaquäduktale Grau wirken anxiogen bei Ratten auf dem EPM, was nur durch CCK₂-Rezeptor-Antagonisten, aber nicht durch CCK₁-Rezeptor-Antagonisten verhindert werden kann (Zanoveli, Netto *et al.* 2004; Netto & Guimaraes 2004). Die Gabe von CCK4 in das periaquäduktale Grau steigert die Ängstlichkeit bei Ratten (Bertoglio, Guimaraes *et al.* 2006), auch dieser Effekt ist durch die Gabe eines CCK₂-Rezeptor-Antagonisten reversibel (Bertoglio, de Bortoli *et al.* 2007).

CCK₂-Rezeptor-Antagonisierung bei Ratten führt zur Anxiolyse (Singh, Lewis *et al.* 1991) und in höheren Dosierungen sogar zur Sedierung (Siniscalchi, Rodi *et al.* 2003). Eine Induktion der Antikörperbildung gegen CCK4 wirkt anxiolytisch und könnte einen immunologischen Ansatz zur Behandlung oder Prävention von Angsterkrankungen darstellen (Ashmarin, Danilova *et al.* 2006).

Die in einigen Studien beobachteten anxiolytischen Eigenschaften von CCK₁-Antagonisten könnten durch ihre partielle Wirkung auf die CCK₂-Rezeptoren zustandekommen (Ballaz, Barber *et al.* 1997). Auch wenn die anxiogenen Effekte durch CCK₂-Rezeptor-Agonisten uneinheitlich sind (Derrien, McCort-Tranchepain *et al.* 1994; Dauge & Lena 1998; Derrien, McCort-Tranchepain *et al.* 1994; Derrien, Dauge *et al.* 1994; Ladurelle, Keller *et al.* 1997), ist einer der wahrscheinlichsten Gründe für die fehlende CCK-Wirkung in unseren Experimenten die Tatsache, dass vor allem selektiver Agonismus am CCK₂-Rezeptor anxiogen wirkt (Fink, Rex *et al.* 1998; Wang, Wong *et al.* 2005).

4.2 Vergleich beider Stämme

4.2.1.1 EPM: DBA/2-Mäuse als der ängstlichere Stamm

Die Anzahl der Eintritte in die offene Arme des EPM ist zu ca. 70% genetisch determiniert (Crawley, Belknap *et al.* 1997), den Rest der Variation beeinflussen die experimentellen Bedingungen, die sich im Tagesrhythmus, in der Dauer der Habituation vor dem Experiment, in Gruppen- oder Einzelhaltung (Voikar, Polus *et al.* 2005), Präsenz des Untersuchers im Raum, Höhe und der Beschaffenheit des EPM und der offenen Arme, der Durchsichtigkeit der Wände, der Definition eines Armeintritts mit 2 oder 4 Pfoten unterscheiden können (Rodgers & Dalvi 1997). Auch bei einem Versuch, die Laborbedingungen in drei kanadischen Zentren zu vereinheitlichen, blieben die Unterschiede in der Lokomotion oder der Aufenthaltsdauer auf den offenen Armen des EPM zwischen den Labors bestehen, wobei sie sich bei den DBA/2- und den C57BL/6-Tieren synchron veränderten (Wahlsten, Metten *et al.* 2003).

In beiden Experimenten waren die DBA/2-Mäuse auf dem EPM ängstlicher als die C57BL/6-Tiere: sie hielten sich bevorzugt in den geschlossenen Armen auf, mieden offene Arme und putzten sich früher und länger, was den Ergebnissen anderer Untersucher entspricht (Lucki, Dalvi *et al.* 2001).

Es zeigten sich keine Unterschiede in der Lokomotion beider Stämme: im Vitamin D-Experiment machten C57BL/6-Mäuse mehr Armeintritte, im nächsten Experiment die DBA/2-Mäuse.

Ein Parameter der vertikalen Aktivität, die Anzahl der *head dips*, war bei den C57BL/6-Mäusen größer, während der andere, die Anzahl der *rearings*, bei den DBA/2-Tieren überwog, weil die *head dips* nur in den offenen Armen oder auf der

Plattform möglich waren, während die *rearings* fast ausschließlich in den geschlossenen Armen vorkamen: die Explorationsart entsprach dem jeweiligen Aufenthaltsort der Maus.

Wir bestätigen also die in der Literatur dokumentierte größere Ängstlichkeit der DBA/2-Mäuse im Vergleich zum C57BL/6-Stamm (Ohl, Roedel *et al.* 2003; Ducottet & Belzung 2005).

4.2.1.2 Behandlungseffekte auf dem EPM

Die chronische Gabe von Vitamin D hatte keine Verhaltenseffekte auf dem EPM bei beiden Stämmen.

Paroxetin führte zur Abnahme der *grooming*-Dauer bei den beiden Stämmen, *grooming* wird von vielen Autoren als Ängstlichkeitsparameter angesehen (Blanchard, Yudko *et al.* 1993; Kalueff & Tuohimaa 2004).

Vitamin D führte bei den C57BL/6-Mäusen zur Abnahme der Zeit auf den geschlossenen Armen und unterdrückte die motorische Aktivität. Die Kombinationsbehandlung hatte einen dazu entgegengesetzten Effekt, so dass in diesen Parametern der Unterschied zwischen der Vitamin D- und der Kombinationsbehandlung signifikant war. Dieses Ergebnis ist schwierig zu erklären, denn die Vitamin D-Behandlung beeinflusste nicht den Paroxetinspiegel.

Sowohl Vitamin D als auch Paroxetin (neben seiner Hauptwirkung auf den Serotoninstoffwechsel) hemmen die NO-Synthetase (Garcion, Nataf *et al.* 1997; Finkel, Laghrissi-Thode *et al.* 1996). NO-Synthetase-Hemmer haben Antidepressiva-ähnliche Eigenschaften bei Mäusen (Harkin, Bruce *et al.* 1999), möglicherweise durch eine Modulation der monoaminergen und der GABA-ergen Transmission (Szabo 1996). Dieser Wirkmechanismus könnte der teilweisen Imitation der Paroxetinwirkung durch Vitamin D in unserem Experiment zugrundeliegen. Andererseits könnte Vitamin D ähnlich dem Allopregnanolon seine anxiolytische Wirkung durch positive allosterische Modulation der GABA_A-Rezeptoren (Purdy, Morrow *et al.* 1991) entfalten. Ein anderer möglicher Wirkmechanismus wäre eine Steigerung des Serotoninspiegels durch eine Stimulation der Tyrosinhydroxylase (Partonen 1998).

Paroxetin ist sowohl ein Substrat (Bloomer, Woods *et al.* 1992) als auch ein Hemmer der Cytochrom-Enzyme P450, vor allem des Isoenzym CYP2D6, wobei das Ausmaß der Hemmung mit der Basalaktivität des Enzyms korreliert (Ozdemir, Naranjo *et al.* 1998; Crewe, Lennard *et al.* 1992). Wir haben die klinisch am

häufigsten verwendete Form des Vitamins D, das Colecalciferol verabreicht, die noch eine Hydroxylierung an zwei Positionen erfordert, um in die aktive Form, das Dihydroxycolecalciferol, überführt zu werden. Sowohl die renale 1-Hydroxylase (Henry & Norman 1974) als auch die hepatische 25-Hydroxylase sind Cytochrom P450-abhängige Monooxygenasen (Madhok & DeLuca 1979). Paroxetin könnte durch die Hemmung des Cytochrom P450-Systems die Synthese von Vitamin D beeinträchtigen (Griffin & Mellon 1999). Da wir den Vitamin D-Spiegel nicht gemessen haben, können wir leider nicht ausschließen, dass dieser durch die Hemmung der 1- und 25-Hydroxylasen gesenkt wurde, so dass eine Kombination beider Medikamente entweder keinen zusätzlichen Effekt oder sogar eine Aufhebung der gegenseitigen Wirkung zur Folge hatte.

4.2.2 Die motorische Geschicklichkeit der DBA/2- und C57BL/6-Mäuse

Die Ergebnisse des Rotarods aus beiden Experimenten zeigen eine bessere motorische Geschicklichkeit der C57BL/6-Mäuse im Vergleich zu den DBA/2-Tieren. C57BL/6-Mäuse konnten insgesamt länger auf sich drehendem Rad bleiben. Fast alle C57BL/6-Tiere konnten sich bei 5 Umdrehungen pro Minute auf dem Rad halten. Dies bestätigt die Ergebnisse anderer Studien (Crabbe, Metten *et al.* 2002; Finn, Roberts *et al.* 1997). Bei den DBA/2-Tieren gab es schon bei der niedrigsten Frequenz größere Schwankungen der Leistung, bei einer höheren Umdrehungszahl blieben alle Tiere nur kurzzeitig auf dem Rad.

Wie erwartet, nahm die Latenz vor dem Fall mit zunehmender Umdrehungszahl bei den beiden Stämmen ab.

Im Vitamin D-Experiment konnte beim C57BL/6-Stamm eine Verbesserung der Motorik durch niedrigdosiertes Vitamin D bei 10 U/min beobachtet werden. Eine schlechtere motorische Performance der VDR-*knockout*-Mäuse ist bekannt (Burne, McGrath *et al.* 2005), offensichtlich ist der Umkehrschluß erlaubt, dass die Gabe von Vitamin D die Muskelkraft und Koordination verbessern kann.

Im nächsten Experiment konnte nur bei den DBA/2-Tieren eine signifikante Verbesserung der motorischen Fähigkeiten bei der niedrigsten Rotationsfrequenz durch die Kombination von höherer Dosierung von Vitamin D und Paroxetin beobachtet werden. Paroxetin oder Vitamin D alleine hatten dagegen keinen Effekt.

Es gibt Publikationen über die Motorik verbessernde Wirkung des Paroxetins beim Menschen (Loubinoux, Pariente *et al.* 2002), aber auch solche, die keinen Effekt

diesbezüglich nachweisen konnten (Ceravolo, Nuti *et al.* 2000). Die Performance auf dem Rotarod bei Mäusen bleibt durch die SSRI-Behandlung unverändert (Brocco, Dekeyne *et al.* 2002).

In humanen Studien führt eine chronische Verabreichung von Vitamin D zu einer Verbesserung der neuromuskulären Funktion und deutlich verminderten Sturzhäufigkeit (Dhesi, Jackson 2004), wohingegen die chronische Vitamin D-Gabe bei fitteren, selbstständig lebenden Männern keinen Einfluss auf Muskelkraft oder die physische Fitness hat (Kenny, Biskup 2003).

Möglicherweise hat die Kombination beider Medikamente nur bei stärkerer angeborenen motorischen Beeinträchtigung einen Effekt.

4.2.3 FST: Wirkungen von Paroxetin

Ängstlichkeit und Depressions-ähnliches Verhalten im FST korrelieren nicht direkt miteinander (Cryan & Mombereau 2004). Die auf dem EPM ängstlicheren DBA/2-Mäuse waren im Vitamin D-Experiment im FST immobiler, zeigten somit eine passivere *Coping*-Strategie, was einem depressionsähnlichen Verhalten gleichzusetzen ist und den Ergebnissen in unserem Labor entspricht (Thoeringer, Sillaber *et al.* 2007).

Nur bei den DBA/2-Tieren förderte Paroxetin in unseren Experimenten eine aktive *Coping*-Strategie: die Immobilitätsdauer nahm ab und die Kletterdauer zu, was unseren Erwartungen an die Wirkung eines SSRI im FST entspricht (Redrobe, Bourin *et al.* 1998; Lucki, Dalvi *et al.* 2001). C57BL/6-Mäuse haben eine stärkere dopaminerge Neurotransmission im Ncl. accumbens als DBA/2-Tiere (Ventura, Cabib *et al.* 2002). Eine hohe Dopaminkonzentration im Gehirn begrenzt die immobilitätsmindernden Effekte von Antidepressiva im FST (Renard, Dailly *et al.* 2004), auch in unseren FST-Versuchen zeigt sich kein Paroxetineffekt bei den C57BL/6-Mäusen. Die Schwimmdauer wurde durch Paroxetin bei den DBA/2- und den C57BL/6-Mäusen nicht verändert, was manche Publikationen bestätigt (David, Renard *et al.* 2003).

In früheren Studien wurden meist akute Wirkungen von Paroxetin untersucht, die entweder keinen Effekt (Bourin, Chenu *et al.* 2005) oder eine Abnahme der Immobilität im FST bewirkten (Bourin, Colombel *et al.* 1998); eine chronische SSRI-Gabe imitiert besser die klinische Realität.

FST selbst führt zu einer starken Serotoninfreisetzung im Gehirn (Linthorst, Penalva *et al.* 2002), so dass die Wirkung eines SSRI im FST möglicherweise von einer stammabhängigen endogenen Serotoninfreisetzung abhängt. Da DBA/2- und C57BL/6-Mäuse Unterschiede im serotonergen System (Jones, Hou *et al.* 1996) aufweisen, zeigt ein SSRI bei beiden Stämmen unterschiedliche Effekte im FST. Paroxetin führte in unserem Experiment zu einer signifikanten Zunahme der Kletterdauer beim DBA/2-Stamm. In der Studie von Cryan konnte man bei einer chronischen Gabe des SSRI Fluoxetin eine Zunahme der Schwimmdauer, bei einer chronischen Gabe des noradrenerg wirksamen Reboxetin eine Zunahme der Kletterdauer beobachten (Cryan, Page *et al.* 2005). Paroxetin ist zwar ein schwacher, aber unter den SSRIs der stärkste Noradrenalinwiederaufnahmehemmer (Bourin, Chue *et al.* 2001). Die Verstärkung der noradrenergen Transmission ist am antidepressiven Effekt von Paroxetin beteiligt (Hajos-Korcsok, McTavish *et al.* 2000). Insbesondere bei höheren Plasmakonzentrationen, wie sie bei unseren Mäusen feststellbar waren, hemmt Paroxetin auch die Noradrenalintransporter (Owens, Knight *et al.* 2000; Nemeroff & Owens 2004). Folgende Ergebnisse stützen diese Hypothese: Mäuse, die durch eine Unterbrechung des Dopaminhydroxylasegens kein Noradrenalin mehr synthetisieren können, sprechen nicht mehr auf Paroxetin an (Cryan, O'Leary *et al.* 2004). Eine Vorbehandlung mit Paroxetin verstärkt die Wirkung des selektiven Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmers Reboxetin durch eine Abnahme der Noradrenalinbindungsstellen (Gould, Pardon *et al.* 2003). Im FST potenzieren noradrenerge Substanzen die Wirkung von subaktiven Paroxetindosen bei Mäusen (Redrobe, Bourin *et al.* 1998). Bei den depressiven Patienten korreliert der Liquorspiegel von Paroxetin nicht nur mit dem der Serotonin-, sondern auch mit dem der Noradrenalinabbauprodukte (Lundmark, Walinder *et al.* 1994). Wir können also die Zunahme der Kletterdauer bei unseren DBA/2-Mäusen mit einer indirekten Zunahme der noradrenergen Transmission bei hohen Paroxetinspiegeln erklären. Behandlung mit Vitamin D oder mit Kombination Paroxetin + Vitamin D hatte keinen zusätzlichen Effekt auf die *Stress-Coping*-Strategie.

4.2.4.1 Lernkurve: Veränderung der Ängstlichkeit über die Zeit

Zu Beginn des Lernkurven-Experiments waren die DBA/2-Mäuse ängstlicher als die C57BL/6-Tiere: die Latenz bis zum ersten Betreten des *boards* war initial beim DBA/2-Stamm länger, glich sich bei den beiden Stämmen ab dem zweiten Tag an,

am vierten Tag betraten die DBA/2-Mäuse den *board* früher als die C57BL/6-Tiere. Mit jeder Versuchswiederholung nahm die Zeit auf dem *board* bei den beiden Stämmen in den ersten 2 Tagen signifikant zu. Die DBA/2-Mäuse habituierten jedoch schneller als die C57BL/6-Mäuse: ab dem zweiten Tag verbrachten sie signifikant mehr Zeit auf dem *board* als die C57BL/6-Tiere. Wir stellen also fest, dass die DBA/2-Mäuse in einer neuen Umgebung schneller habituierten als die C57BL/6-Mäuse, was auch von anderen Untersuchern im *open field* Test gezeigt wurde (Podhorna & Brown 2002).

Mit zunehmender Gewöhnung an die neue Umgebung nahm die Lochexploration bei den beiden Stämmen signifikant zu. Ab dem zweiten Tag zeigten die DBA/2-Mäuse signifikant mehr Lochbesuche als die C57BL/6-Tiere, was auf eine schnellere Adaptation des erstgenannten Stamms hinweist.

Die DBA/2-Tiere waren im Lernkurventest lokomotorisch aktiver als die C57BL/6-Mäuse, insbesondere am Tagesbeginn und bei Änderungen der Versuchsanordnung. Die Zahl der Linienübertritte nahm bei den beiden Stämmen stetig ab, was mit der Zunahme der auf dem *board* verbrachten Zeit korrelierte. Die DBA/2-Mäuse machten signifikant mehr *rearings* pro Minute als die C57BL/6-Tiere, was eine größere Exploration dieses Stamms widerspiegelt. Dieser Parameter nahm im Laufe der Versuche signifikant ab, da die Mäuse sich zunehmend zielgerichteter auf die Futterbelohnung konzentrierten.

Die C57BL/6-Mäuse putzten sich in allen Versuchsdurchgängen signifikant länger als die DBA/2-Tiere. Bemerkenswert ist, dass die *grooming*-Dauer bei den C57BL/6-Tieren während des Lernkurventests wesentlich länger war als in den klassischen Angsttests wie EPM oder DLT, die bei Tageslicht durchgeführt wurden. *Grooming* kann man bei Nagetieren sowohl in stressfreien als auch in belastenden Situationen beobachten. Man kann zwischen einer ungestörten Körperpflege in cephalokaudaler Richtung und einem stressbedingten sprunghaften *grooming* unterscheiden (Kalueff & Tuohimaa 2004). Somit gibt es zwei mögliche Gründe für die längere *grooming*-Dauer im Lernkurvenexperiment im Vergleich zu den klassischen Angsttests: Einerseits betreiben die Tiere bei Dunkelheit mehr Körperpflege, da sie in dieser Phase allgemein aktiver sind als bei Tageslicht (Valentinuzzi, Buxton *et al.* 2000), andererseits kann das lange *grooming* eine hohe Stressbelastung der Mäuse durch den Lernkurventest anzeigen.

Aufgrund der schnelleren Habituation an die Umgebung konnten die DBA/2-Mäuse ihre initiale Ängstlichkeit schneller überwinden. Sie zeigten ein aktiveres *Coping*-Verhalten, welches ihnen ermöglichte, die Futterbelohnung schneller zu finden und dadurch den Test früher zu beenden, während die C57BL/6-Mäuse relativ passiv blieben, viel Zeit mit *grooming* verbrachten und eher ungezielt ihre Umgebung explorierten. Auch andere Publikationen zeigen, dass die C57BL/6-Mäuse im Vergleich zu den DBA/2-Tieren in stressigen Situationen schneller mit Passivität reagieren (Cabib, Puglisi-Allegra *et al.* 2002; Shanks & Anisman 1988). Außerdem zeigen C57BL/6-Mäuse bei Stress eine im Vergleich zum DBA/2-Stamm verstärkte noradrenerge Transmission im Locus coeruleus, die mit passivem *Coping* assoziiert ist (Hwang, Kunkler *et al.* 1999).

Auf dem EPM waren die DBA/2-Tiere ängstlicher als die C57BL/6-Mäuse. Im kognitiven Test waren die DBA/2-Tiere dagegen schon am zweiten Tag weniger ängstlich als die C57BL/6-Mäuse, was mit den Unterschieden in der Versuchsdauer erklärt werden kann. Hätten wir nur einen fünfminütigen Lernkurvenversuch bei den beiden Stämmen durchgeführt, wäre unsere Hypothese vom ängstlicheren DBA/2-Stamm und dem explorativ aktiveren C57BL/6-Stamm vermutlich bestätigt worden. Mit der Zeit stellte sich aber heraus, dass die DBA/2-Tiere schneller an eine neue Umgebung adaptieren, was ihre Ängstlichkeit zunehmend mindert und ihre kognitive Überlegenheit zum Vorschein bringt.

4.2.4.2 Vergleich beider Stämme in Bezug auf Kognition

Die C57BL/6-Mäuse lernten in unserem visuell-räumlichen Experiment wesentlich langsamer als die DBA/2-Tiere: sie explorierten häufiger falsche Löcher und ließen im Vergleich zum DBA/2-Stamm signifikant mehr belegte Löcher aus. Eine mangelnde Suchstrategie führte zu schlechteren Lernkurvenenergebnissen der C57BL/6-Mäuse. Das bestätigt auch unsere frühere Ergebnisse, die bei DBA/2-Mäusen eine bessere kognitive Performance und eine enge Korrelation zwischen Kognition und Ängstlichkeit, bei den C57BL/6-Mäusen dagegen zwischen Kognition und Exploration feststellten (Ohl, Roedel *et al.* 2003).

Wenn ein Stressor kontrollierbar bleibt, wird die Neurotransmission im Ncl. accumbens aktiviert, was zu Handlungsmotivation führt; ein unkontrollierbarer Stress hemmt die Erregungsübertragung in diesem Kern und bewirkt ein passives *Coping*-Verhalten (Cabib & Puglisi-Allegra 1994). Über diesen Mechanismus führte eine unzureichende Aufgabenlösung zu einer größeren Passivität der C57BL/6-Mäuse,

ihre langsamere Habituation trug wiederum zum kognitiv schlechteren Ergebnis bei, so dass Angst und Kognition sich wechselseitig beeinflussten.

Die DBA/2-Mäuse machten an mehreren Tagen signifikant mehr Wiederholungen als die C57BL/6-Tiere, was als ein Arbeitsgedächtnisfehler gewertet werden kann: die Tiere erinnerten sich nicht, dass sie die Mandel schon herausgenommen haben. Andererseits kann die scheinbare Überlegenheit der C57BL/6-Mäuse in diesem Parameter ihre mangelnde Motivation, die Aufgabe zu lösen, widerspiegeln.

Die Versuchsdauer als der wichtigste Parameter für die Fähigkeit, die Aufgabenlösung zu erfassen und die Futterbelohnung in kürzester Zeit zu finden, nahm bei den beiden Stämmen stetig ab. Ab dem zweiten Tag beendeten die DBA/2-Mäuse den Versuch signifikant schneller als die C57BL/6-Tiere. Insgesamt konnte gezeigt werden, dass DBA/2-Mäuse signifikant effizienter lernten als C57BL/6-Tiere. DBA/2-Mäuse zeigten Beeinträchtigungen im Arbeitsgedächtnis, welches der zeitlich begrenzten Informationsspeicherung dient (Goldman-Rakic 1996), waren aber bezüglich des deklarativ-assoziativen Gedächtnisses, welches Verknüpfungen zwischen zwei Reizen in der Umwelt herstellt (Squire & Zola 1996), den C57BL/6-Tieren deutlich überlegen.

Die kognitiven Defizite, die bei DBA/2-Mäusen in früheren Experimenten festgestellt wurden, hingen möglicherweise mit den angstausslösenden Versuchsbedingungen zusammen. Vor allem bei diesem Stamm führt Licht, welches bei den meisten Experimenten eingeschaltet war, zur kognitiven Beeinträchtigung (Roedel, Storch *et al.* 2006). Das *Morris water maze* Test, in dem Mäuse eine Unterwasserplattform finden mussten, stellte für die wasserscheuen Tiere einen übermäßig großen Stressor dar (Owen, Logue *et al.* 1997). Außerdem wurde in einigen Tests *freezing* als kognitiver Parameter gewertet, dieses Verhalten kommt bei DBA/2-Mäusen relativ selten vor (Nguyen, Abel *et al.* 2000). Vermeidungsverhalten lernen DBA/2-Mäuse besser als C57BL/6-Tiere (Weinberger, Koob *et al.* 1992; Heyser, McDonald *et al.* 1999).

Interessanterweise explorierten C57BL/6-Mäuse mehr Arme eines radialen Labyrinths (*radial arm maze*), während DBA/2-Tiere sich auf einzelne Arme konzentrierten, was als kognitive Überlegenheit der C57BL/6-Mäuse gewertet wurde, auch wenn sie mit der allgemeinen Aktivität der Mäuse in diesem Test korrelierte (Ammassari-Teule & Caprioli 1985). In unserem Experiment bedeutete die

Konzentration auf die markierten Löcher eine kognitive Überlegenheit der DBA/2-Mäuse.

4.2.4.3 Einfluss von Vitamin D auf Angst und Kognition

Nachdem die Reihenfolge der belegten Löcher zum zweiten Mal verändert wurde, bewirkte Vitamin D in unserem Lernkurvenexperiment eine Abnahme der Auslassungen bei den beiden Stämmen, die innerhalb der zwei Versuche des vierten Tages eine Signifikanz erreichten, was für einen verbesserten Lerneffekt durch die Behandlung spricht. Ab dem dritten Tag ließen die Vitamin D-behandelten DBA/2-Mäuse fast keine Löcher mehr aus. Vitamin D verringerte die Latenz bis zum Betreten des *boards* bei den C57BL/6-Tieren ab dem dritten Tag, dieser anxiolytische Effekt war bei der dritten Bedingung signifikant. Bei Veränderungen der Versuchsanordnung reagierten die C57BL/6-Mäuse ängstlich: sie blieben in einer Ecke der *box* sitzen, statt die Umgebung zu explorieren und zeigten mehr *grooming*-Verhalten. Sie reagieren auf Veränderungen der räumlichen Umgebung allgemein stärker mit Stressreaktion als die DBA/2-Mäuse (Thinus-Blanc, Save *et al.* 1996). Besonders weil die C57BL/6-Mäuse keinen Zusammenhang zwischen den Markierungen und den in den Löchern liegenden Mandeln herstellen konnten, trugen diese Versuchsänderungen zu ihrem verstärkten *grooming*-Verhalten bei.

Bei den DBA/2-Tieren nahm die Anzahl der Linienübertritte pro Minute bei der 2. Bedingung, bei welcher die Markierungen entfernt wurden, durch die Behandlung ab. Das heißt, die verstärkte Lokomotion der DBA/2-Mäuse, die bei jeder neuen Versuchsanordnung auftrat und somit am ehesten stressbedingt war, wurde durch Vitamin D gedämpft, am 2. Tag war dieser Effekt signifikant. Vitamin D bewirkte eine signifikante Abnahme der *grooming*-Dauer bei der 3. und 4. Bedingung bei den beiden Stämmen, insbesondere bei den C57BL/6-Tieren.

Zusammengefasst verminderte die chronische Vitamin D-Gabe bei den beiden Stämmen die Anzahl der Auslassungen der belegten Löcher, die Latenz bis zum ersten Betreten des *boards* sowie die *grooming*-Dauer, insbesondere bei Stress im Sinne einer neuen Versuchsbedingung. Vitamin D-Mangel in utero führt bei Ratten (Burne, Becker *et al.* 2004) und bei 129/SvJ-Mäusen zur Hyperlokomotion, nicht jedoch beim C57BL/6-Stamm (Harms, Eyles *et al.* 2008). Bei uns dämpfte Vitamin D die stressbedingte Überaktivität des DBA/2-Stamms.

Vitamin D zeigt bei beiden Stämmen sowohl gedächtnisverbessernde als auch anxiolytische Effekte, die sich gegenseitig verstärken. Möglicherweise entfaltet das Colecalciferol seine Wirkung insbesondere in stressigen Situationen wie z. B. bei Entfernung der Futterbelohnung, Änderung der Reihenfolge der Markierungen oder Einschalten von Licht.

Bei älteren Menschen ist ein Vitamin D-Mangel mit schlechterer kognitiver Performance assoziiert (Wilkins, Sheline *et al.* 2006). Ein höherer 25-Hydroxyvitaminspiegel korrelierte in der Allgemeinbevölkerung jedoch nicht mit einer besseren Lernleistung (McGrath, Scragg *et al.* 2007).

Beim Lernkurventest wirkte Vitamin D leicht anxiolytisch und dämpfend, wir halten weitere Untersuchungen mit zeitlich versetzter Gabe sowie mit der Gabe des aktiven Dihydroxycolecalciferols für vielversprechend.

4.5 Der Einfluss von Stress und Behandlung auf die HPA-Achse

4.5.1 Höhere Corticosteronspiegel bei den gestressten DBA/2-Mäusen

Da die Tiere erst 3-4 Stunden nach dem FST getötet wurden und der ACTH-Spiegel schon einige Minuten nach einer Stressexposition ansteigt und nach ca. einer Stunde wieder abfällt (Keck, Welt *et al.* 2003), waren keine Unterschiede diesbezüglich zwischen den Stämmen oder Behandlungsgruppen zu sehen.

Der Corticosteronspiegel war in unseren Experimenten nach dem FST bei den DBA/2-Mäusen signifikant höher als bei den C57BL/6-Tieren, basal zeigten sich keine Unterschiede zwischen den beiden Stämmen, was die Ergebnisse anderer Autoren bestätigt (Jones, Sarrieau *et al.* 1998b).

Die DBA/2-Tiere zeigen einen im Vergleich zum C57BL/6-Stamm länger anhaltenden Corticosteronanstieg nach einer Stresserfahrung (Shanks & Anisman 1988; Cabib, Algeri *et al.* 1990) aufgrund einer im Vergleich zum C57BL/6-Stamm verminderten *feedback*-Hemmung der HPA-Achse (Thoeringer, Sillaber *et al.* 2007).

Die Glucocorticoide bestimmen in der Interaktion mit anderen Komponenten der HPA-Achse deren basale Aktivität, kontrollieren die Schwelle der Aktivierung der HPA-Achse (Sapolsky, Romero *et al.* 2000) und beenden die stressinduzierte HPA-Achsen-Aktivierung (Muller, Holsboer *et al.* 2002). Chronisch erhöhte Glucocorticoidspiegel beeinträchtigen die synaptische Transmission, führen zu Atrophie des Dendritenbaums, Verminderung der Neurogenese und erniedrigter Resistenz der Neurone gegenüber hypoxischen und oxidativen Noxen. In hohen

Dosen wirken Glucocorticosteroide neurotoxisch und führen zu Atrophie des Hippocampus (Sapolsky 2000), die zu den kognitiven und emotionalen Defiziten bei einer Depression beiträgt (Duman, Heninger *et al.* 1997). Die bei uns beobachteten höheren stressinduzierten Corticosteronspiegel der DBA/2-Mäuse erklären die Tatsache, dass dieser Stamm im Vergleich zu den C57BL/6-Tieren einen kleineren Hippocampus besitzt (Barkats, Bertholet *et al.* 1996), was mit einer erhöhten Stressempfindlichkeit assoziiert ist (Gilbertson, Shenton *et al.* 2002). Auch bei Menschen mit einer Depressions- (Videbech & Petersen 2001) oder Angsterkrankung, speziell der posttraumatischen Belastungsstörung (Winter & Irle 2004), ist der Hippocampus oft verkleinert.

Andererseits spielen Glukokortikoide sowohl bei Konsolidierung als auch beim Abruf von gespeicherten Informationen eine wichtige Rolle (Roozendaal, Okuda *et al.* 2006a), z. B. sorgen sie in Gefahrensituationen nicht nur für eine erhöhte Wachsamkeit, sondern auch für eine dauerhafte Speicherung der Erinnerung (Korte 2001). Die Glucocorticoid-abhängige Gedächtniskonsolidierung setzt dabei eine noradrenerge Aktivierung der Amygdala voraus (Roozendaal, Okuda *et al.* 2006b). Ein höherer Corticosteronspiegel könnte zur besseren kognitiven Leistung der DBA/2-Mäuse im Lernkurventest im Vergleich zum C57BL/6-Stamm beigetragen haben.

4.5.2 CRH-Expression im PVN und Amygdala bei den DBA/2- und C57BL/6-Mäusen

Bezüglich der CRH-Expression im PVN und in der Amygdala waren die Ergebnisse uneinheitlich. Auch in der Literatur korreliert der CRH-Gehalt nicht immer mit der Ängstlichkeit der Tiere. CRH-überexprimierende Mäuse sind zwar ängstlicher als der Wildtyp; CRH-*Knockout*-Mäuse zeigen wider Erwartung keine Auffälligkeiten im Verhalten, weder unter Basalbedingungen noch nach einer Stressexposition (Weninger, Dunn *et al.* 1999). Für die Ängstlichkeit eines Stammes ist nicht nur CRH, sondern auch die Interaktion von CRH mit CRHR1 und die Rezeptorempfindlichkeit entscheidend (Erhardt, Ising *et al.* 2006). Es scheint, dass das stressinduzierte Verhalten in erster Linie CRH-Rezeptoren, aber nicht CRH selbst erfordert (Weninger, Dunn *et al.* 1999), so dass der CRH-Gehalt in bestimmten Hirnstrukturen nicht direkt mit dem Angstverhalten korreliert. Bei den DBA/2-Mäusen könnte eine höhere Dichte an CRHR1 vorliegen. Frühere Befunde zeigten schon eine größere Expression von CRHR1 mRNA im Cortex von DBA/2-Mäusen im Vergleich zum

C57BL/6-Stamm (Giardino, Puglisi-Allegra *et al.* 1996) bei gleichzeitig größerer Ängstlichkeit auf dem EPM. CRHR1-*Knockout*-Mäuse zeigen weniger angstassoziiertes Verhalten (Timpl, Spanagel *et al.* 1998), CRHR2-*Knockout*-Mäuse zeigen mehr passives *Coping*-Verhalten im FST als der Wildtyp (Bale, Contarino *et al.* 2000). CRHR1 vermitteln eine Zunahme der Ängstlichkeit, CRHR2 tendenziell eine Abnahme der Stressantwort im Sinne eines aktiveren Stresscopings (Reul & Holsboer 2002). Somit kann CRH je nach Rezeptorbesetzung unterschiedliche Wirkungen entfalten.

Ein weiterer wichtiger Regulator der HPA-Achse ist das CRH-bindende Protein, welches CRH mit hoher Affinität bindet und so seine biologische Aktivität einschränkt (Kemp, Woods *et al.* 1998). Ca. 50% des CRH ist an das CRH-bindende Protein gebunden (Behan, De Souza *et al.* 1995). Eine Hemmung des CRH-bindenden Proteins steigert zwar die CRH-Aktivität in kortikalen Arealen wie im Hippocampus, induziert aber kein angstassoziiertes Verhalten (Heinrichs & Joppa 2001). Das wird dadurch erklärt, dass CRH subkortikal anxiogen wirkt, z. B. am lateralen Septum oder in der Amygdala (Keck, Ohl *et al.* 2005). Andererseits kann das supprimierte CRH beim DBA/2-Stamm durch die stärkere chronische Aktivierung der HPA-Achse erklärt werden.

Insgesamt waren die Ergebnisse für die CRH-Expression im PVN und in der Amygdala inkonsistent. Im Vitamin D- und Paroxetin-Experiment, in dem alle Mäuse denselben Versuchen unterzogen wurden, zeigte sich bei stärkerer HPA-Achsen-Aktivierung eine CRH-Supprimierung beim DBA/2-Stamm. Möglicherweise ist AVP ein empfindlicherer Indikator der stressassoziierten HPA-Achsen-Veränderungen als CRH.

4.5.3 Höhere AVP- Expression bei den DBA/2-Mäusen

Da die CRH-Rezeptoren durch die chronisch erhöhten Corticosteronspiegel bei den DBA/2-Mäusen herunterreguliert wurden, was an der supprimierten CRH-Expression sichtbar war, wurde AVP kompensatorisch erhöht, um eine normale Reagibilität der HPA-Achse aufrechtzuerhalten. Die AVP-Expression im PVN und im SON war in den beiden Experimenten bei den DBA/2-Tieren signifikant höher als bei den C57BL/6-Mäusen. AVP reagiert bei Stress dynamischer als CRH, so dass chronischer Stress die AVP/CRH-Ratio steigert (Scott & Dinan 1998).

Jüngere Studien zeigten, dass ein Antagonismus am AVP-Rezeptor V1b zu deutlicher Reduktion von Ängstlichkeit bei Mäusen und Hamstern (Serradeil-Le, Wagnon, III *et al.* 2005), V1a-Rezeptor-Nullmutation bei Mäusen zu verringerter Ängstlichkeit und beeinträchtigten Gedächtnisleistung im *social recognition* Test führt (Nabe, Honjo *et al.* 2007).

Die Überexpression des V1a-Rezeptors steigert dagegen die Ängstlichkeit und verbessert die Gedächtnisleistung im *social recognition*-Test bei Mäusen und Ratten (Bielsky, Hu *et al.* 2005;Bluthe & Dantzer 1992). AVP verbessert in niedrigen Dosen das Gedächtnis bei Ratten (Castellano, Cabib *et al.* 1996), bei Mäusen konnten ähnliche Effekte auf Konsolidierung und Abruf mit einem AVP-Analagon erreicht werden (Sato, Tanaka *et al.* 2004). Daher könnten sowohl die erhöhte Ängstlichkeit auf dem EPM als auch die gute kognitive Leistung der DBA/2-Tiere im Lernkurventest durch die erhöhte Expression von AVP bedingt sein.

4.5.4 Der Einfluss von Vitamin D und Paroxetin auf die HPA-Achse

Angesichts der antagonistischen Eigenschaften von Vitamin D und Corticosteron in der Zellkultur (Obradovic, Gronemeyer *et al.* 2006) erwarteten wir eine Herunterregulation der HPA-Achse durch Vitamin D bei Mäusen, die wir nicht beobachten konnten. Auch bei *in utero* mit Vitamin D mangelernährten, hyperlokomotorischen Ratten sieht man *in vivo* keine Veränderungen der HPA-Achse (Eyles, Rogers *et al.* 2006).

Vitamin D wirkt bei beiden Stämmen anxiolytisch im kognitiven Test, insbesondere bei stressigen Bedingungen innerhalb dieses Versuchs wie nach Entfernung der Markierungen oder Einschalten des Lichts, aber nicht in den klassischen Angsttests. Angesichts der modulatorischen Funktion dieses Neurosteroids ist es nicht verwunderlich, dass die Verhaltenseffekte nicht sehr offensichtlich und nicht in allen Tests zu beobachten sind. Möglicherweise hat eine chronische Vitamin D-Gabe eine zentrale Wirkung vor allem während der neuronalen Entwicklung und in besonders stressigen Situationen.

Bei gesunden Probanden hatte eine hochdosierte 4-tägige Einnahme von Vitamin D keinen Einfluß auf den Cortisolspiegel (Zofkova & Kancheva 1994). Vitamin D-Mangel führt zu Verhaltensbeeinträchtigungen bei Ratten bei unbeeinträchtigter HPA-Achsen-Funktion, so dass die Verhaltensänderung durch Vitamin D am ehesten

nicht durch eine direkte Beeinflussung der Stressantwort erfolgt (Eyles, Rogers *et al.* 2006).

Paroxetin normalisiert die reduzierte serotonerge Transmission (Keck, Sartori *et al.* 2005) sowie die Dysregulation der HPA-Achse bei depressiven Patienten (Nickel, Sonntag *et al.* 2003) und bei den ängstlichen HAB-Ratten (Keck, Welt *et al.* 2003), die ein hyperaktives HPA-System besitzen (Liebsch, Linthorst *et al.* 1998). Die Abnahme der AVP-Überexpression nach chronischer Paroxetingabe bei Ratten (Keck, Welt *et al.* 2003) stützt diese Hypothese. Auch bei depressiven Patienten sinken die CRH- und AVP-Spiegel in der zerebrospinalen Flüssigkeit nach SSRI-Behandlung (De Bellis, Gold *et al.* 1993).

In unseren Experimenten hatte Paroxetin trotz gewisser Verhaltenseffekte keinen Einfluss auf die HPA-Achse. Wir haben keine Abnahme von AVP beim DBA/2-Stamm beobachtet, obwohl diese Mäuse im FST aktiver wurden.

Möglicherweise sind die Auswirkungen von Paroxetin auf die HPA-Achse sehr subtil und wären erst im Dexamethason/CRH-Test sichtbar geworden (Keck, Wigger *et al.* 2002; Ising, Kunzel *et al.* 2005). Andererseits könnte es durch Speziesunterschiede bedingt sein, dass bei Mäusen im Gegensatz zu Ratten und Menschen keine Beeinflussung der HPA-Achse durch Paroxetin erfolgt. Andere Faktoren, die die Aktivität der HPA-Achse bestimmen, sind das Corticosteron bindende Globulin (CBG) (Jones, Sarrieau *et al.* 1998a), das *Multidrug Resistance gene 1-type p-Glykoproteine* (MDR 1 p-gp), welches Glucocorticoide aktiv durch die Bluthirnschranke aus dem Gehirn transportiert (Uhr, Holsboer *et al.* 2002) oder Glucocorticoid-metabolisierende 11 β -Hydrosteroid-Dehydrogenasen, die den intrazellulären, für die Aktivierung kernständiger Rezeptoren notwendigen Corticosteroidspiegel regulieren (Tomlinson, Walker *et al.* 2004) und somit auch die HPA-Achse beeinflussen.

9 Zusammenfassung

Das erste Experiment diente dazu, ein Panikmodell durch eine systemische akute Verabreichung von CCK8 in drei verschiedenen Dosierungen an die C57BL/6-Mäuse zu etablieren. Leider führte CCK aufgrund der mangelnden Penetration ins Gehirn, eines schnellen Abbaus oder der mangelnden Affinität zu den CCK₂-Rezeptoren zu keinen Verhaltensveränderungen bei diesem Mausstamm im modifizierten *Holeboard*, EPM oder DLT.

Dann untersuchten wir die Unterschiede im Verhalten und in den Parametern der HPA-Achse zwischen den emotional und kognitiv unterschiedlichen C57BL/6- und DBA/2-Mäusen und deren Beeinflussung durch eine chronische orale Gabe von Vitamin D, Paroxetin und deren Kombination. Dabei stellten wir fest, dass die DBA/2-Mäuse auf dem EPM ängstlicher waren als die C57BL/6-Tiere: sie vermieden mehr offene Arme und zeigten mehr *grooming*-Verhalten. Bei beiden Stämmen verminderte Paroxetin und die Kombinationsbehandlung die *grooming*-Dauer im EPM-Test.

Auf dem Rotarod waren die C57BL/6-Tiere motorisch geschickter als die DBA/2-Tiere. Vitamin D in niedriger Dosierung verbesserte die motorische Performance bei den C57BL/6-Mäusen, die Kombinationsbehandlung hatte bei den DBA/2-Mäusen einen Motorik fördernden Effekt.

Die DBA/2-Mäuse waren im FST immobiler. Paroxetin verminderte nur bei diesem Stamm die Immobilität zugunsten der verlängerten Kletterdauer.

Die DBA/2-Mäuse zeigten eine schnellere Habituation im Lernkurventest: im Laufe des Experiments betraten sie immer früher das *board* und besuchten insgesamt mehr Löcher. Gleichzeitig waren sie motorisch aktiver, insbesondere nach Änderungen der Versuchsanordnung, was auf eine stressbedingte Komponente dieser Überaktivität hinweist, welche durch die Vitamin D-Behandlung vermindert wurde. Die anxiolytische Wirkung von Vitamin D wurde auch durch die Zunahme der Löcherbesuche beim C57BL/6-Stamm sichtbar. Bei den beiden Stämmen verminderte Vitamin D die Latenz des Betretens des *boards* und die *grooming*-Dauer.

Das aktivere *Coping* der DBA/2-Mäuse beim milden Stress erlaubte ihnen eine im Vergleich zu den C57BL/6-Tieren schnellere Lösung der kognitiven Aufgabe. Sie besuchten weniger falsche Löcher, ließen weniger belegte Löcher aus und fanden alle Mandeln wesentlich schneller als die C57BL/6-Mäuse, was auf die Überlegenheit

des DBA/2-Stamms im assoziativen Gedächtnis hinweist. Die DBA/2-Tiere machten aber mehr Wiederholungen, was auf Defizite in ihrem Arbeitsgedächtnis hindeutet.

Vitamin D bewirkte eine Abnahme der Auslassungen bei beiden Stämmen, bei dem was auf einen mnemotropischen Effekt hinweist. Da dieser Unterschied v.a. bei den veränderten Versuchsbedingungen signifikant war, ist zu vermuten, dass die Gedächtnisverbesserung via Anxiolyse erfolgte.

Die DBA/2-Tiere wiesen nach Stressexposition einen höheren Corticosteronspiegel im Blut und eine stärkere Expression von Vasopressin im PVN und im SON auf, was für eine stärker aktivierte HPA-Achse bei diesem Stamm spricht. Die hohe AVP-Expression vermittelte auch einen besseren Lerneffekt bei diesem Stamm.

Die C57BL/6-Mäuse waren weniger ängstlich auf dem EPM und motorisch geschickter auf dem Rotarod, aber passiver und lernunfähiger im kognitiven Test als die DBA/2-Mäuse. Beide Stämme reagierten unterschiedlich auf die pharmakologische Behandlung. Die beschriebenen Verhaltensveränderungen spiegelten sich nicht wesentlich in den messbaren Veränderungen der HPA-Achse wieder.

Wir haben zum ersten Mal im Tiermodell die anxiolytischen, Gedächtnis und Motorik verbessernden Eigenschaften von Vitamin D bei chronischer Gabe nachgewiesen, die aufgrund der Untersuchungen beim Menschen und bei *knockout*-Tieren vermutet wurden.

5 Abkürzungsverzeichnis

5-HT	5-Hydroxytryptamin (Serotonin)
ACTH	adrenocorticotropes Hormon (Corticotropin)
ANOVA	Varianzanalyse (analysis of variance)
AVP	Arginin-Vasopressin (arginin vasopressin)
ATP	Adenosintriphosphat
BDNF	brain derived neurotrophic factor
CCK	Cholecystokinin
cDNA, cRNA	copy deoxyribonucleic/ ribonucleic acid
CRH	corticotropin releasing hormone
CRHR	corticotropin releasing hormone receptor
DLT	dark light test
EPM	elevated plus maze
FST	forced swimming test
GR/ MR	Glucocorticoid- /Mineralocorticoidrezeptor
HAB	high anxiety related behavior
HPA-Achse	hypothalamic-pituitary-adrenocortical system
HNS	hypothalamic-neurohypophysial system
HPLC	high performance liquid chromatography
i.p. / i.v.	intraperitoneal / intravenös
LAB	low anxiety related behavior
LDT	Light Dark Test
MANOVA	multivariate analysis of variance
mHb	modifiziertes <i>Holeboard</i>
mRNA/ tRNA	messenger/ transfer ribonucleic acid
OXT	Oxytocin
PVC	Polyvinylchlorid
PVN	Nucleus paraventricularis des Hypothalamus
RIA	Radioimmunoassay
RXR	Retinoid-X-Rezeptor
SON	Nucleus supraopticus des Hypothalamus
SSRI	selektive Serotoninwiederaufnahmehemmer
UTP	Uridintriphosphat
ZNS	zentrales Nervensystem

6 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: HPA-Achse im Normalzustand und bei einem chronischen Stress oder Depression	5
Abbildung 2: Zusammenwirken der HPA- und der HNS-Achse (aus Engelmann, 2004):	10
Abbildung 3: Synthese des aktiven 1,25-Dihydroxycolecalciferols.	26
Abbildung 4: Vitamin D als Transkriptionsfaktor im Zellkern.	27
Abbildung 5: [A] <i>Elevated Plus Maze</i> mit einer DBA/2-Maus auf dem offenen Arm; [B] mit einer C57BL/6-Maus auf der Plattform.	39
Abbildung 6: MHB für die Lernkurve mit einer C57BL/6-Maus	41
Abbildung 7: Der Rotarod-Test mit zwei C57BL/6-Mäusen.	44
Abbildung 8: <i>Dark-Light Box</i> mit einer C57BL/6-Maus.	45
Abbildung 9: Forced Swimming Test: (A) mit einer schwimmenden, (B) mit einer passiv treibender (<i>floating</i>) C57BL/6-Maus.	46
Abbildung 10: Zeit auf den geschlossenen und offenen Armen der C57BL/6- und DBA/2-Tiere in Abhängigkeit von der Behandlung mit 1 µg/kg Vitamin D.	56
Abbildung 11: Zeit auf dem offenen Ende und auf der Plattform des EPM der C57BL/6- und DBA/2-Tiere in Abhängigkeit von der Behandlung mit 1 µg/kg Vitamin D.	56
Abbildung 12: Latenz des Eintritts in die geschlossenen Arme und in das offene Ende des EPM durch C57BL/6- und DBA/2-Tiere in Abhängigkeit von der Behandlung mit 1 µg/kg Vitamin D.	57
Abbildung 13: Anzahl der <i>head dips</i> und der <i>rearings</i> der C57BL/6- und DBA/2-Tiere in Abhängigkeit von der Behandlung mit 1 µg/kg Vitamin D.	57
Abbildung 14: Ratio der Eintritte in die offene Arme zu allen Eintritten und die Anzahl aller Eintritte der C57BL/6- und DBA/2-Tiere in Abhängigkeit von der Behandlung mit 1 µg/kg Vitamin D.	57
Abbildung 15: Latenz und Dauer des <i>groomings</i> der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von Behandlung mit 1 µg/kg Vitamin D.	58
Abbildung 16: Latenz des <i>stretchings</i> der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von Behandlung mit 1 µg/kg Vitamin D.	58
Abbildung 17: Latenz bis zum Fall der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von der Umdrehungszahl des Rotarod und der chronischen Vitamin D-Behandlung mit 1 µg/kg Vitamin D	59
Abbildung 18: Dauer und Latenz der Immobilität der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von der Behandlung mit Vitamin D.	60
Abbildung 19: Dauer und Latenz des Schwimmens der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von der Behandlung mit Vitamin D.	60
Abbildung 20: Dauer des Kletterns der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von der Behandlung mit Vitamin D.	60
Abbildung 21: Anzahl der Fehler im kognitiven Test bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen.	62
Abbildung 22: Anzahl der Auslassungen bei den C57BL/6- und den DBA/2-Mäusen.	63
Abbildung 23: Anzahl der Lochbesuche bei den C57BL/6- und den DBA/2-Mäusen.	64
Abbildung 24: Anzahl der Wiederholungen bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen.	65
Abbildung 25: Aufenthaltszeit auf <i>board</i> bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen.	66
Abbildung 26: Anzahl der Linienübertritte pro Minute bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen.	67
Abbildung 27: Versuchsdauer bei dem C57BL/6- und dem DBA/2-Stamm.	68
Abbildung 28: Latenz bis zum Betreten des <i>boards</i>	69
Abbildung 29: Anzahl der <i>rearings</i> pro Minute.	71
Abbildung 30: Die <i>grooming</i> -Dauer.	72
Abbildung 31: (A) Kein Einfluss der Vitamin D-Behandlung auf den Paroxetinspiegel der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse. (B) Kein Einfluss der Paroxetin- und Vitamin D-Behandlung auf das Gewicht der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse.	73
Abbildung 32: Zeit auf geschlossenen und offenen Armen des EPM der C57BL/6- und DBA/2-Mäuse in Abhängigkeit von der Behandlung.	75
Abbildung 33: Zeit auf der Plattform in Abhängigkeit von der Behandlung bei den C57BL/6- und DBA/2-Mäusen.	75

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Versuchsplanung für die kognitive Testung (Lernkurve).....	42
Tabelle 2: Verhaltensparameter von C57BL/6-Mäusen im modifizierten <i>Holeboard</i> in Abhängigkeit von der Behandlung mit CCK8.....	53
Tabelle 3: Verhaltensparameter von C57BL/6-Mäusen auf dem EPM in Abhängigkeit von der akuten i.p. Behandlung mit CCK8.....	54
Tabelle 4: Verhaltensparameter von C57BL/6-Mäusen auf dem EPM und Dark Light Test in Abhängigkeit von der akuten i.p. Behandlung mit CCK8..	55
Tabelle 5: Einfluss der chronischen Vitamin D-Behandlung auf den Calciumspiegel bei dem C57BL/6- und dem DBA/2-Stamm.	55
Tabelle 6: Calciumspiegel (mmol/l) bei den C57BL/6- und den DBA/2-Mäusen in Abhängigkeit von der Behandlung.	73

8 Literaturverzeichnis

1. Abramov U, Raud S, Innos J, Koks S, Matsui T, Vasar E (2006). Gender specific effects of ethanol in mice, lacking CCK2 receptors. **Behav Brain Res** **175**:149-156.
2. Abramov U, Raud S, Koks S, Innos J, Kurrikoff K, Matsui T, Vasar E (2004). Targeted mutation of CCK(2) receptor gene antagonises behavioural changes induced by social isolation in female, but not in male mice. **Behav Brain Res** **155**:1-11.
3. Abrams SA (2002). Nutritional rickets: an old disease returns. **Nutr Rev** **60**:111-115.
4. Adorini L (2002). Immunomodulatory effects of vitamin D receptor ligands in autoimmune diseases. **Int Immunopharmacol** **2**:1017-1028.
5. Akagawa Y, Masuda Y, Maruyama A, Shimizu T, Hishikawa Y (1999). Effects of repeated selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine treatments on mouse forced swimming. **Methods Find Exp Clin Pharmacol** **21**:599-601.
6. Akaike A, Tamura Y, Sato Y, Ozaki K, Matsuoka R, Miura S, Yoshinaga T (1991). Cholecystokinin-induced protection of cultured cortical neurons against glutamate neurotoxicity. **Brain Res** **557**:303-307.
7. Alcaro A, Cabib S, Ventura R, Puglisi-Allegra S (2002). Genotype- and experience-dependent susceptibility to depressive-like responses in the forced-swimming test. **Psychopharmacology (Berl)** **164**:138-143.
8. Almeras L, Eyles D, Benech P, Laffite D, Villard C, Patatian A, Boucraut J, Mackay-Sim A, McGrath J, Feron F (2007). Developmental vitamin D deficiency alters brain protein expression in the adult rat: implications for neuropsychiatric disorders. **Proteomics** **7**:769-780.
9. Alonso G, Szafarczyk A, Balmefrezol M, Assenmacher I (1986). Immunocytochemical evidence for stimulatory control by the ventral noradrenergic bundle of parvocellular neurons of the paraventricular nucleus secreting corticotropin releasing hormone and vasopressin in rats. **Brain Res** **397**:297-307.
10. Ammassari-Teule M, Caprioli A (1985). Spatial learning and memory, maze running strategies and cholinergic mechanisms in two inbred strains of mice. **Behav Brain Res** **17**:9-16.

11. Ammassari-Teule M, Hoffmann HJ, Rossi-Arnaud C (1993). Learning in inbred mice: strain-specific abilities across three radial maze problems. **Behav Genet** **23**:405-412.
12. Ammassari-Teule M, Save E, de Marsanich B, Thinus-Blanc C (1998). Posterior parietal cortex lesions severely disrupt spatial learning in DBA mice characterized by a genetic hippocampal dysfunction. **Behav Brain Res** **95**:85-90.
13. Andreatini R, Bacellar LF (1999). The relationship between anxiety and depression in animal models: a study using the forced swimming test and elevated plus-maze. **Braz J Med Biol Res** **32**:1121-1126.
14. Andreatini R, Bacellar LF (2000). Animal models: trait or state measure? The test-retest reliability of the elevated plus-maze and behavioral despair. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** **24**:549-560.
15. Anseloni VZ, Motta V, Lima G, Brandao ML (1995). Behavioral and pharmacological validation of the elevated plus maze constructed with transparent walls. **Braz J Med Biol Res** **28**:597-601.
16. Antoni FA (1993). Vasopressinergic control of pituitary adrenocorticotropin secretion comes of age. **Front Neuroendocrinol** **14**:76-122.
17. Areda T, Raud S, Philips MA, Innos J, Matsui T, Koks S, Vasar E, Karis A, Asser T (2006b). Cat odour exposure decreases exploratory activity and alters neuropeptide gene expression in CCK(2) receptor deficient mice, but not in their wild-type littermates. **Behav Brain Res** **169**:212-219.
18. Armbrecht HJ, Hodam TL, Boltz MA, Kumar VB (1999). Capacity of a low calcium diet to induce the renal vitamin D 1 α -hydroxylase is decreased in adult rats. **Biochem Biophys Res Commun** **255**:731-734.
19. Armstrong DJ, Meenagh GK, Bickle I, Lee AS, Curran ES, Finch MB (2007). Vitamin D deficiency is associated with anxiety and depression in fibromyalgia. **Clin Rheumatol** **26**:551-554.
20. Asan E, Yilmazer-Hanke DM, Eliava M, Hantsch M, Lesch KP, Schmitt A (2005). The corticotropin-releasing factor (CRF)-system and monoaminergic afferents in the central amygdala: investigations in different mouse strains and comparison with the rat. **Neuroscience** **131**:953-967.
21. Ashmarin IP, Danilova RA, Rud'ko OI, Belopolskaya MV, Obukhova MF, Shmalgausen EV (2006). An immunochemical approach to model and long-term suppression of depressive and anxiety behavior. **Span J Psychol** **9**:219-227.
22. Atkinson HC, Waddell BJ (1997). Circadian variation in basal plasma corticosterone and adrenocorticotropin in the rat: sexual dimorphism and changes across the estrous cycle. **Endocrinology** **138**:3842-3848.
23. Austin MC, Janosky JE, Murphy HA (2003). Increased corticotropin-releasing hormone immunoreactivity in monoamine-containing pontine nuclei of depressed suicide men. **Mol Psychiatry** **8**:324-332.
24. Baas D, Prufer K, Ittel ME, Kuchler-Bopp S, Labourdette G, Sarlieve LL, Brachet P (2000). Rat oligodendrocytes express the vitamin D(3) receptor and respond to 1,25-dihydroxyvitamin D(3). **Glia** **31**:59-68.
25. Baker R, Holloway J, Thomas PW, Thomas S, Owens M (2004). Emotional processing and panic. **Behav Res Ther** **42**:1271-1287.

26. Baker TA, Buchanan NT, Corson N (2008). Factors influencing chronic pain intensity in older black women: examining depression, locus of control, and physical health. **J Womens Health (Larchmt)** **17**:869-878.
27. Balabanova S, Richter HP, Antoniadis G, Homoki J, Kremmer N, Hanle J, Teller WM (1984). 25-Hydroxyvitamin D, 24, 25-dihydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D in human cerebrospinal fluid. **Klin Wochenschr** **62**:1086-1090.
28. Bale TL, Contarino A, Smith GW, Chan R, Gold LH, Sawchenko PE, Koob GF, Vale WW, Lee KF (2000a). Mice deficient for corticotropin-releasing hormone receptor-2 display anxiety-like behaviour and are hypersensitive to stress. **Nat Genet** **24**:410-414.
29. Ballaz S, Barber A, Fortuno A, Del Rio J, Martin-Martinez M, Gomez-Monterrey I, Herranz R, Gonzalez-Muniz R, Garcia-Lopez MT (1997). Pharmacological evaluation of IQM-95,333, a highly selective CCKA receptor antagonist with anxiolytic-like activity in animal models. **Br J Pharmacol** **121**:759-767.
30. Ballaz SJ, Akil H, Watson SJ (2007). The CCK-system mediates adaptation to novelty-induced stress in the rat: A pharmacological evidence. **Neurosci Lett** **428**:27-32.
31. Barakat Y, Pape JR, Boutahricht M, El Ouezzani S, Alaoui A, Chaigniau M, Tramu G, Magoul R (2006). Immunocytochemical detection of cholecystokinin and corticotrophin-releasing hormone neuropeptides in the hypothalamic paraventricular nucleus of the jerboa (*Jaculus orientalis*): modulation by immobilisation stress. **J Neuroendocrinol** **18**:767-775.
32. Barden N, Reul JM, Holsboer F (1995). Do antidepressants stabilize mood through actions on the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system? **Trends Neurosci** **18**:6-11.
33. Barkats M, Bertholet JY, Cohen-Salmon C (1996). Age-related morphological changes in the hippocampus in two mouse strains. **Mech Ageing Dev** **87**:155-164.
34. Barlow DH, DiNardo PA, Vermilyea BB, Vermilyea J, Blanchard EB (1986). Co-morbidity and depression among the anxiety disorders. Issues in diagnosis and classification. **J Nerv Ment Dis** **174**:63-72.
35. Bassir M, Laborie S, Lapillonne A, Claris O, Chappuis MC, Salle BL (2001). Vitamin D deficiency in Iranian mothers and their neonates: a pilot study. **Acta Paediatr** **90**:577-579.
36. Baudet C, Chevalier G, Chassevent A, Canova C, Filmon R, Larra F, Brachet P, Wion D (1996). 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ induces programmed cell death in a rat glioma cell line. **J Neurosci Res** **46**:540-550.
37. Baumann P (1996). Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship of the selective serotonin reuptake inhibitors. **Clin Pharmacokinet** **31**:444-469.
38. Becker A, Eyles DW, McGrath JJ, Grecksch G (2005). Transient prenatal vitamin D deficiency is associated with subtle alterations in learning and memory functions in adult rats. **Behav Brain Res** **161**:306-312.
39. Behan DP, De Souza EB, Lowry PJ, Potter E, Sawchenko P, Vale WW (1995). Corticotropin releasing factor (CRF) binding protein: a novel regulator of CRF and related peptides. **Front Neuroendocrinol** **16**:362-382.
40. Belknap JK, Crabbe JC, Young ER (1993). Voluntary consumption of ethanol in 15 inbred mouse strains. **Psychopharmacology (Berl)** **112**:503-510.
41. Bell C, Abrams J, Nutt D (2001). Tryptophan depletion and its implications for psychiatry. **Br J Psychiatry** **178**:399-405.
42. Belzung C, Griebel G (2001). Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. **Behav Brain Res** **125**:141-149.

43. Benkelfat C, Bradwejn J, Meyer E, Ellenbogen M, Milot S, Gjedde A, Evans A (1995). Functional neuroanatomy of CCK4-induced anxiety in normal healthy volunteers. **Am J Psychiatry** **152**:1180-1184.
44. Berczi I (1998). The stress concept and neuroimmunoregulation in modern biology. **Ann N Y Acad Sci** **851**:3-12.:3-12.
45. Bergland RM, Page RB (1978). Can the pituitary secrete directly to the brain? (Affirmative anatomical evidence). **Endocrinology** **102**:1325-1338.
46. Berk M, Sanders KM, Pasco JA, Jacka FN, Williams LJ, Hayles AL, Dodd S (2007). Vitamin D deficiency may play a role in depression. **Med Hypotheses** **69**:1316-1319.
47. Bertoglio LJ, de Bortoli VC, Zangrossi H, Jr. (2007). Cholecystokinin-2 receptors modulate freezing and escape behaviors evoked by the electrical stimulation of the rat dorsolateral periaqueductal gray. **Brain Res** **1156**:133-8. **Epub;2007 Apr 21**.:133-138.
48. Bertoglio LJ, Guimaraes FS, Zangrossi H, Jr. (2006). Lack of interaction between NMDA and cholecystokinin-2 receptor-mediated neurotransmission in the dorsolateral periaqueductal gray in the regulation of rat defensive behaviors. **Life Sci** **79**:2238-2244.
49. Bielsky IF, Hu SB, Ren X, Terwilliger EF, Young LJ (2005). The V1a vasopressin receptor is necessary and sufficient for normal social recognition: a gene replacement study. **Neuron** **47**:503-513.
50. Blanchard DC, Griebel G, Blanchard RJ (2001). Mouse defensive behaviors: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. **Neurosci Biobehav Rev** **25**:205-218.
51. Blanchard RJ, Griebel G, Henrie JA, Blanchard DC (1997). Differentiation of anxiolytic and panicolytic drugs by effects on rat and mouse defense test batteries. **Neurosci Biobehav Rev** **21**:783-789.
52. Blanchard RJ, Yudko EB, Rodgers RJ, Blanchard DC (1993). Defense system psychopharmacology: an ethological approach to the pharmacology of fear and anxiety. **Behav Brain Res** **58**:155-165.
53. Blier P, de Montigny C, Chaput Y (1987). Modifications of the serotonin system by antidepressant treatments: implications for the therapeutic response in major depression. **J Clin Psychopharmacol** **7**:24S-35S.
54. Bloomer JC, Woods FR, Haddock RE, Lennard MS, Tucker GT (1992). The role of cytochrome P4502D6 in the metabolism of paroxetine by human liver microsomes. **Br J Clin Pharmacol** **33**:521-523.
55. Blumenthal JA (2008). Depression and coronary heart disease: association and implications for treatment. **Cleve Clin J Med** **75 Suppl 2**:S48-53.:S48-S53.
56. Bluthé RM, Dantzer R (1992). Chronic intracerebral infusions of vasopressin and vasopressin antagonist modulate social recognition in rat. **Brain Res** **572**:261-264.
57. Boden PR, Woodruff GN, Pinnock RD (1991). Pharmacology of a cholecystokinin receptor on 5-hydroxytryptamine neurones in the dorsal raphe of the rat brain. **Br J Pharmacol** **102**:635-638.
58. Bonne O, Krausz Y, Aharon Y, Gelfin Y, Chisin R, Lerer B (1999). Clinical doses of fluoxetine and cerebral blood flow in healthy volunteers. **Psychopharmacology (Berl)** **143**:24-28.
59. Bourin M, Chenu F, Ripoll N, David DJ (2005). A proposal of decision tree to screen putative antidepressants using forced swim and tail suspension tests. **Behav Brain Res** **164**:266-269.
60. Bourin M, Chue P, Guillon Y (2001). Paroxetine: a review. **CNS Drug Rev** **7**:25-47.

61. Bourin M, Colombel MC, Redrobe JP, Nizard J, Hascoet M, Baker GB (1998). Evaluation of efficacies of different classes of antidepressants in the forced swimming test in mice at different ages. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** **22**:343-351.
62. Bourin M, Hascoet M (2003). The mouse light/dark box test. **Eur J Pharmacol** **463**:55-65.
63. Boyer P (2000). Do anxiety and depression have a common pathophysiological mechanism? **Acta Psychiatr Scand Suppl** **24**:24-29.
64. Bradvik L, Berglund M (2006). Long-term treatment and suicidal behavior in severe depression: ECT and antidepressant pharmacotherapy may have different effects on the occurrence and seriousness of suicide attempts. **Depress Anxiety** **23**:34-41.
65. Bradwejn J, Koszycki D (1991). Comparison of the panicogenic effect of cholecystokinin 30-33 and carbon dioxide in panic disorder. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** **15**:237-239.
66. Bradwejn J, Koszycki D (1994). Imipramine antagonism of the panicogenic effects of cholecystokinin tetrapeptide in panic disorder patients. **Am J Psychiatry** **151**:261-263.
67. Bradwejn J, Koszycki D, Annable L, Couetoux du TA, Reines S, Karkanas C (1992). A dose-ranging study of the behavioral and cardiovascular effects of CCK-tetrapeptide in panic disorder. **Biol Psychiatry** **32**:903-912.
68. Bradwejn J, Koszycki D, Couetoux du TA, van Megen H, den Boer J, Westenberg H (1994). The panicogenic effects of cholecystokinin-tetrapeptide are antagonized by L-365,260, a central cholecystokinin receptor antagonist, in patients with panic disorder. **Arch Gen Psychiatry** **51**:486-493.
69. Bradwejn J, Koszycki D, Meterissian G (1990). Cholecystokinin-tetrapeptide induces panic attacks in patients with panic disorder. **Can J Psychiatry** **35**:83-85.
70. Bradwejn J, Koszycki D, Shriqui C (1991). Enhanced sensitivity to cholecystokinin tetrapeptide in panic disorder. Clinical and behavioral findings. **Arch Gen Psychiatry** **48**:603-610.
71. Bradwejn J, LeGrand JM, Koszycki D, Bates JH, Bourin M (1998). Effects of cholecystokinin tetrapeptide on respiratory function in healthy volunteers. **Am J Psychiatry** **155**:280-282.
72. Brady LS, Gold PW, Herkenham M, Lynn AB, Whitfield HJ, Jr. (1992). The antidepressants fluoxetine, idazoxan and phenelzine alter corticotropin-releasing hormone and tyrosine hydroxylase mRNA levels in rat brain: therapeutic implications. **Brain Res** **572**:117-125.
73. Britton DR, Koob GF, Rivier J, Vale W (1982). Intraventricular corticotropin-releasing factor enhances behavioral effects of novelty. **Life Sci** **31**:363-367.
74. Brocco M, Dekeyne A, Veiga S, Girardon S, Millan MJ (2002). Induction of hyperlocomotion in mice exposed to a novel environment by inhibition of serotonin reuptake. A pharmacological characterization of diverse classes of antidepressant agents. **Pharmacol Biochem Behav** **71**:667-680.
75. Brodin K, Ogren SO, Brodin E (1994). Clomipramine and clonazepam increase cholecystokinin levels in rat ventral tegmental area and limbic regions. **Eur J Pharmacol** **263**:175-180.
76. Brown AJ (2001). Therapeutic uses of vitamin D analogues. **Am J Kidney Dis** **38**:S3-S19.
77. Brown AJ, Dusso A, Slatopolsky E (1999). Vitamin D. **Am J Physiol** **277**:F157-F175.
78. Brustad M, Sandanger T, Aksnes L, Lund E (2004). Vitamin D status in a rural population of northern Norway with high fish liver consumption. **Public Health Nutr** **7**:783-789.

79. Burne TH, Becker A, Brown J, Eyles DW, Mackay-Sim A, McGrath JJ (2004). Transient prenatal Vitamin D deficiency is associated with hyperlocomotion in adult rats. **Behav Brain Res** **154**:549-555.
80. Burne TH, Feron F, Brown J, Eyles DW, McGrath JJ, Mackay-Sim A (2004). Combined prenatal and chronic postnatal vitamin D deficiency in rats impairs prepulse inhibition of acoustic startle. **Physiol Behav** **81**:651-655.
81. Burne TH, Johnston AN, McGrath JJ, kay-Sim A (2006). Swimming behaviour and post-swimming activity in Vitamin D receptor knockout mice. **Brain Res Bull** **69**:74-78.
82. Burne TH, McGrath JJ, Eyles DW, Mackay-Sim A (2005). Behavioural characterization of vitamin D receptor knockout mice. **Behav Brain Res** **157**:299-308.
83. Cabib S, Algeri S, Perego C, Puglisi-Allegra S (1990). Behavioral and biochemical changes monitored in two inbred strains of mice during exploration of an unfamiliar environment. **Physiol Behav** **47**:749-753.
84. Cabib S, Castellano C, Patacchioli FR, Cigliana G, Angelucci L, Puglisi-Allegra S (1996). Opposite strain-dependent effects of post-training corticosterone in a passive avoidance task in mice: role of dopamine. **Brain Res** **729**:110-118.
85. Cabib S, Puglisi-Allegra S (1994). Opposite responses of mesolimbic dopamine system to controllable and uncontrollable aversive experiences. **J Neurosci** **14**:3333-3340.
86. Cabib S, Puglisi-Allegra S, Ventura R (2002). The contribution of comparative studies in inbred strains of mice to the understanding of the hyperactive phenotype. **Behav Brain Res** **130**:103-109.
87. Cannell JJ (2007). Autism and vitamin D. **Med Hypotheses** ..
88. Cantorna MT, Hayes CE, DeLuca HF (1996). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 reversibly blocks the progression of relapsing encephalomyelitis, a model of multiple sclerosis. **Proc Natl Acad Sci U S A** **93**:7861-7864.
89. Cantorna MT, Mahon BD (2004). Mounting evidence for vitamin D as an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence. **Exp Biol Med (Maywood)** **229**:1136-1142.
90. Cantorna MT, Woodward WD, Hayes CE, DeLuca HF (1998). 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a positive regulator for the two anti-encephalitogenic cytokines TGF-beta 1 and IL-4. **J Immunol** **160**:5314-5319.
91. Carlberg C, Saurat JH (1996). Vitamin D-retinoid association: molecular basis and clinical applications. **J Invest Dermatol Symp Proc** **1**:82-86.
92. Carola V, D'Olimpio F, Brunamonti E, Mangia F, Renzi P (2002). Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. **Behav Brain Res** **134**:49-57.
93. Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, Craig IW, Harrington H, McClay J, Mill J, Martin J, Braithwaite A, Poulton R (2003). Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. **Science** **301**:386-389.
94. Castellano C, Cabib S, Puglisi-Allegra S (1996). Psychopharmacology of memory modulation: evidence for multiple interaction among neurotransmitters and hormones. **Behav Brain Res** **77**:1-21.
95. Ceravolo R, Nuti A, Piccinni A, Dell'Agnello G, Bellini G, Gambaccini G, Dell'Osso L, Murri L, Bonuccelli U (2000). Paroxetine in Parkinson's disease: effects on motor and depressive symptoms. **Neurology** **55**:1216-1218.

96. Charney DS, Manji HK (2004). Life stress, genes, and depression: multiple pathways lead to increased risk and new opportunities for intervention. **Sci STKE** 2004:re5.
97. Chatterjee M (2001). Vitamin D and genomic stability. **Mutat Res** 475:69-87.
98. Checkley S (1992). Neuroendocrine mechanisms and the precipitation of depression by life events. **Br J Psychiatry Suppl** 7-17.
99. Chen KB, Lin AM, Chiu TH (2003). Systemic vitamin D3 attenuated oxidative injuries in the locus coeruleus of rat brain. **Ann N Y Acad Sci** 993:313-324.
100. Chen Q, Nakajima A, Meacham C, Tang YP (2006). Elevated cholecystokinergic tone constitutes an important molecular/neuronal mechanism for the expression of anxiety in the mouse. **Proc Natl Acad Sci U S A** 103:3881-3886.
101. Christakos S, Raval-Pandya M, Wernyj RP, Yang W (1996). Genomic mechanisms involved in the pleiotropic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3. **Biochem J** 316:361-371.
102. Chung L, Moore SD (2007). Cholecystokinin enhances GABAergic inhibitory transmission in basolateral amygdala. **Neuropeptides** 41:453-463.
103. Clark DM (1986). A cognitive approach to panic. **Behav Res Ther** 24:461-470.
104. Cohen H, Kaplan Z, Matar MA, Buriakovsky I, Bourin M, Kotler M (2004). Different pathways mediated by CCK1 and CCK2 receptors: effect of intraperitoneal mRNA antisense oligodeoxynucleotides to cholecystokinin on anxiety-like and learning behaviors in rats. **Depress Anxiety** 20:139-152.
105. Cohen H, Matar MA, Buriakovsky I, Zeev K, Kotler M, Bourin M (2002). Effect of intraperitoneal mRNA antisense-oligodeoxynucleotides to cholecystokinin on anxiety-like and learning behaviors in rats: association with pre-experimental stress. **Neuropeptides** 36:341-352.
106. Cohen SL, Knight M, Tamminga CA, Chase TN (1982). Cholecystokinin-octapeptide effects on conditioned-avoidance behavior, stereotypy and catalepsy. **Eur J Pharmacol** 83:213-222.
107. Conway KP, Compton W, Stinson FS, Grant BF (2006). Lifetime comorbidity of DSM-IV mood and anxiety disorders and specific drug use disorders: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. **J Clin Psychiatry** 67:247-257.
108. Corp ES, McQuade J, Moran TH, Smith GP (1993). Characterization of type A and type B CCK receptor binding sites in rat vagus nerve. **Brain Res** 623:161-166.
109. Coste SC, Kesterson RA, Heldwein KA, Stevens SL, Heard AD, Hollis JH, Murray SE, Hill JK, Pantely GA, Hohimer AR, Hatton DC, Phillips TJ, Finn DA, Low MJ, Rittenberg MB, Stenzel P, Stenzel-Poore MP (2000). Abnormal adaptations to stress and impaired cardiovascular function in mice lacking corticotropin-releasing hormone receptor-2. **Nat Genet** 24:403-409.
110. Coupland NJ, Bell CJ, Potokar JP (1996). Serotonin reuptake inhibitor withdrawal. **J Clin Psychopharmacol** 16:356-362.
111. Crabbe JC, Metten P, Gallaher EJ, Belknap JK (2002). Genetic determinants of sensitivity to pentobarbital in inbred mice. **Psychopharmacology (Berl)** 161:408-416.
112. Crabbe JC, Wahlsten D, Dudek BC (1999). Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment. **Science** 284:1670-1672.
113. Crawley J, Goodwin FK (1980). Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. **Pharmacol Biochem Behav** 13:167-170.

114. Crawley JN (1984). Cholecystokinin accelerates the rate of habituation to a novel environment. **Pharmacol Biochem Behav** **20**:23-27.
115. Crawley JN (1999). Behavioral phenotyping of transgenic and knockout mice: experimental design and evaluation of general health, sensory functions, motor abilities, and specific behavioral tests. **Brain Res** **835**:18-26.
116. Crawley JN, Belknap JK, Collins A, Crabbe JC, Frankel W, Henderson N, Hitzemann RJ, Maxson SC, Miner LL, Silva AJ, Wehner JM, Wynshaw-Boris A, Paylor R (1997). Behavioral phenotypes of inbred mouse strains: implications and recommendations for molecular studies. **Psychopharmacology (Berl)** **132**:107-124.
117. Crawley JN, Hays SE, O'Donohue TL, Paul SM, Goodwin FK (1981). Neuropeptide modulation of social and exploratory behaviors in laboratory rodents. **Peptides 2 Suppl 1**:123-9.:123-129.
118. Crawley JN, Stivers JA, Blumstein LK, Paul SM (1985). Cholecystokinin potentiates dopamine-mediated behaviors: evidence for modulation specific to a site of coexistence. **J Neurosci** **5**:1972-1983.
119. Crewe HK, Lennard MS, Tucker GT, Woods FR, Haddock RE (1992). The effect of selective serotonin re-uptake inhibitors on cytochrome P4502D6 (CYP2D6) activity in human liver microsomes. **Br J Clin Pharmacol** **34**:262-265.
120. Cryan JF, Markou A, Lucki I (2002). Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. **Trends Pharmacol Sci** **23**:238-245.
121. Cryan JF, Mombereau C (2004). In search of a depressed mouse: utility of models for studying depression-related behavior in genetically modified mice. **Mol Psychiatry** **9**:326-357.
122. Cryan JF, O'Leary OF, Jin SH, Friedland JC, Ouyang M, Hirsch BR, Page ME, Dalvi A, Thomas SA, Lucki I (2004). Norepinephrine-deficient mice lack responses to antidepressant drugs, including selective serotonin reuptake inhibitors. **Proc Natl Acad Sci U S A** **101**:8186-8191.
123. Cryan JF, Page ME, Lucki I (2005). Differential behavioral effects of the antidepressants reboxetine, fluoxetine, and moclobemide in a modified forced swim test following chronic treatment. **Psychopharmacology (Berl)** **182**:335-344.
124. Dalvi A, Lucki I (1999). Murine models of depression. **Psychopharmacology (Berl)** **147**:14-16.
125. Dauge V, Dor A, Feger J, Roques BP (1989). The behavioral effects of CCK8 injected into the medial nucleus accumbens are dependent on the motivational state of the rat. **Eur J Pharmacol** **163**:25-32.
126. Dauge V, Lena I (1998). CCK in anxiety and cognitive processes. **Neurosci Biobehav Rev** **22**:815-825.
127. David DJ, Renard CE, Jolliet P, Hascoet M, Bourin M (2003). Antidepressant-like effects in various mice strains in the forced swimming test. **Psychopharmacology (Berl)** **166**:373-382.
128. Davidson RJ, Abercrombie H, Nitschke JB, Putnam K (1999). Regional brain function, emotion and disorders of emotion. **Curr Opin Neurobiol** **9**:228-234.
129. De Bellis MD, Gold PW, Geraciotti TD, Jr., Listwak SJ, Kling MA (1993). Association of fluoxetine treatment with reductions in CSF concentrations of corticotropin-releasing hormone and arginine vasopressin in patients with major depression. **Am J Psychiatry** **150**:656-657.
130. de Kloet ER (2004). Hormones and the stressed brain. **Ann N Y Acad Sci** **1018**:1-15.

131. de Kloet ER, Derijk R (2004). Signaling pathways in brain involved in predisposition and pathogenesis of stress-related disease: genetic and kinetic factors affecting the MR/GR balance. **Ann N Y Acad Sci** **1032:14-34**:14-34.
132. de Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joels M (1998). Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. **Endocr Rev** **19**:269-301.
133. de Krom M, van der Schouw YT, Hendriks J, Ophoff RA, van Gils CH, Stolk RP, Grobbee DE, Adan R (2007). Common genetic variations in CCK, leptin, and leptin receptor genes are associated with specific human eating patterns. **Diabetes** **56**:276-280.
134. de Montigny C (1989). Cholecystokinin tetrapeptide induces panic-like attacks in healthy volunteers. Preliminary findings. **Arch Gen Psychiatry** **46**:511-517.
135. Debas HT, Farooq O, Grossman MI (1975). Inhibition of gastric emptying is a physiological action of cholecystokinin. **Gastroenterology** **68**:1211-1217.
136. DeLuca HF (2004). Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. **Am J Clin Nutr** **80**:1689S-1696S.
137. Demay MB, Kiernan MS, DeLuca HF, Kronenberg HM (1992). Sequences in the human parathyroid hormone gene that bind the 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor and mediate transcriptional repression in response to 1,25-dihydroxyvitamin D3. **Proc Natl Acad Sci U S A** **89**:8097-8101.
138. Derrien M, Dauge V, Blommaert A, Roques BP (1994). The selective CCK-B agonist, BC 264, impairs socially reinforced memory in the three-panel runway test in rats. **Behav Brain Res** **65**:139-146.
139. Derrien M, McCort-Tranchepain I, Ducos B, Roques BP, Durieux C (1994). Heterogeneity of CCK-B receptors involved in animal models of anxiety. **Pharmacol Biochem Behav** **49**:133-141.
140. Deschodt-Lanckman M, Bui ND (1981). Cholecystokinin octa- and tetrapeptide degradation by synaptic membranes. I. Evidence for competition with enkephalins for in vitro common degradation pathways. **Peptides 2 Suppl 2:113-8**:113-118.
141. Dietl MM, Palacios JM (1989). The distribution of cholecystokinin receptors in the vertebrate brain: species differences studied by receptor autoradiography. **J Chem Neuroanat** **2**:149-161.
142. Dirks A, Groenink L, Bouwknecht JA, Hijzen TH, Van der GJ, Ronken E, Verbeek JS, Veening JG, Dederen PJ, Korosi A, Schoolderman LF, Roubos EW, Olivier B (2002). Overexpression of corticotropin-releasing hormone in transgenic mice and chronic stress-like autonomic and physiological alterations. **Eur J Neurosci** **16**:1751-1760.
143. Dixon KM, Deo SS, Wong G, Slater M, Norman AW, Bishop JE, Posner GH, Ishizuka S, Halliday GM, Reeve VE, Mason RS (2005). Skin cancer prevention: a possible role of 1,25dihydroxyvitamin D3 and its analogs. **J Steroid Biochem Mol Biol** **97**:137-143.
144. Ducottet C, Belzung C (2005). Correlations between behaviours in the elevated plus-maze and sensitivity to unpredictable subchronic mild stress: evidence from inbred strains of mice. **Behav Brain Res** **156**:153-162.
145. Dulawa SC, Holick KA, Gundersen B, Hen R (2004). Effects of chronic fluoxetine in animal models of anxiety and depression. **Neuropsychopharmacology** **29**:1321-1330.
146. Duman CH, Duman RS (2005). Neurobiology and treatment of anxiety: signal transduction and neural plasticity. **Handb Exp Pharmacol** **305-334**.

147. Duman RS, Heninger GR, Nestler EJ (1997). A molecular and cellular theory of depression. **Arch Gen Psychiatry** **54**:597-606.
148. Dumville JC, Miles JN, Porthouse J, Cockayne S, Saxon L, King C (2006). Can vitamin D supplementation prevent winter-time blues? A randomised trial among older women. **J Nutr Health Aging** **10**:151-153.
149. DUNHAM NW, MIYA TS (1957). A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc (Baltim)** **46**:208-209.
150. Dwivedi Y, Rizavi HS, Pandey GN (2006). Antidepressants reverse corticosterone-mediated decrease in brain-derived neurotrophic factor expression: differential regulation of specific exons by antidepressants and corticosterone. **Neuroscience** **139**:1017-1029.
151. Ebner K, Wotjak CT, Landgraf R, Engelmann M (2002). Forced swimming triggers vasopressin release within the amygdala to modulate stress-coping strategies in rats. **Eur J Neurosci** **15**:384-388.
152. Eisensamer B, Uhr M, Meyr S, Gimpl G, Deiml T, Rammes G, Lambert JJ, Ziegler W, Holsboer F, Rupprecht R (2005). Antidepressants and antipsychotic drugs colocalize with 5-HT₃ receptors in raft-like domains. **J Neurosci** **25**:10198-10206.
153. Engelmann M, Landgraf R, Wotjak CT (2004). The hypothalamic-neurohypophysial system regulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis under stress: an old concept revisited. **Front Neuroendocrinol** **25**:132-149.
154. Erhardt A, Ising M, Unschuld PG, Kern N, Lucae S, Putz B, Uhr M, Binder EB, Holsboer F, Keck ME (2006). Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical System in Patients with Panic Disorder. **Neuropsychopharmacology**.
155. Erkut ZA, Pool C, Swaab DF (1998). Glucocorticoids suppress corticotropin-releasing hormone and vasopressin expression in human hypothalamic neurons. **J Clin Endocrinol Metab** **83**:2066-2073.
156. Ermisch A, Ruhle HJ, Landgraf R, Hess J (1985). Blood-brain barrier and peptides. **J Cereb Blood Flow Metab** **5**:350-357.
157. Eser D, di Michele F, Zwanzger P, Pasini A, Baghai TC, Schule C, Rupprecht R, Romeo E (2005). Panic induction with cholecystinin-tetrapeptide (CCK-4) Increases plasma concentrations of the neuroactive steroid 3alpha, 5alpha tetrahydrodeoxycorticosterone (3alpha, 5alpha-THDOC) in healthy volunteers. **Neuropsychopharmacology** **30**:192-195.
158. Eyles D, Brown J, Mackay-Sim A, McGrath J, Feron F (2003). Vitamin D₃ and brain development. **Neuroscience** **118**:641-653.
159. Eyles DW, Rogers F, Buller K, McGrath JJ, Ko P, French K, Burne TH (2006). Developmental vitamin D (D₃) deficiency in the rat alters adult behaviour independently of HPA function. **Psychoneuroendocrinology** **31**:958-964.
160. Eyles DW, Smith S, Kinobe R, Hewison M, McGrath JJ (2005). Distribution of the vitamin D receptor and 1 alpha-hydroxylase in human brain. **J Chem Neuroanat** **29**:21-30.
161. Farook JM, Zhu YZ, Wang Q, Moolchala SM, Lee L, Wong PT (2004). Analysis of strain difference in behavior to Cholecystinin (CCK) receptor mediated drugs in PVG hooded and Sprague-Dawley rats using elevated plus-maze test apparatus. **Neurosci Lett** **358**:215-219.
162. Fava M, Rankin MA, Wright EC, Alpert JE, Nierenberg AA, Pava J, Rosenbaum JF (2000). Anxiety disorders in major depression. **Compr Psychiatry** **41**:97-102.

163. Fekete M, Balazs M, Telegdy G (1982). Effects of intracerebroventricularly administered cholecystokinin antisera on active avoidance and conditioned feeding behaviour of rats. **Acta Physiol Acad Sci Hung** **60**:243-249.
164. Fendt M, Koch M, Kungel M, Schnitzler HU (1995). Cholecystokinin enhances the acoustic startle response in rats. **Neuroreport** **6**:2081-2084.
165. File SE, Wardill AG (1975). The reliability of the hole-board apparatus. **Psychopharmacologia** **44**:47-51.
166. Fink H, Rex A, Voits M, Voigt JP (1998). Major biological actions of CCK--a critical evaluation of research findings. **Exp Brain Res** **123**:77-83.
167. Finkel MS, Laghrissi-Thode F, Pollock BG, Rong J (1996). Paroxetine is a novel nitric oxide synthase inhibitor. **Psychopharmacol Bull** **32**:653-658.
168. Finn DA, Roberts AJ, Lotrich F, Gallaher EJ (1997). Genetic differences in behavioral sensitivity to a neuroactive steroid. **J Pharmacol Exp Ther** **280**:820-828.
169. Fischer P (1996). The spectrum of depressive pseudo-dementia. **J Neural Transm Suppl** **47:193-203**:193-203.
170. Fischer P, Bailer U, Hilger E, Leitner I (2002). [Depressive pseudodementia]. **Wien Med Wochenschr** **152**:62-65.
171. Flood JF, Garland JS, Morley JE (1992). Evidence that cholecystokinin-enhanced retention is mediated by changes in opioid activity in the amygdala. **Brain Res** **585**:94-104.
172. Fossey MD, Lydiard RB, Ballenger JC, Laraia MT, Bissette G, Nemeroff CB (1996). Cerebrospinal fluid corticotropin-releasing factor concentrations in patients with anxiety disorders and normal comparison subjects. **Biol Psychiatry** **39**:703-707.
173. Frankland PW, Josselyn SA, Bradwejn J, Vaccarino FJ, Yeomans JS (1997). Activation of amygdala cholecystokininB receptors potentiates the acoustic startle response in the rat. **J Neurosci** **17**:1838-1847.
174. Furman I, Baudet C, Brachet P (1996). Differential expression of M-CSF, LIF, and TNF-alpha genes in normal and malignant rat glial cells: regulation by lipopolysaccharide and vitamin D. **J Neurosci Res** **46**:360-366.
175. Gall C, Lauterborn J, Burks D, Seroogy K (1987). Co-localization of enkephalin and cholecystokinin in discrete areas of rat brain. **Brain Res** **403**:403-408.
176. Gallagher M, Chiba AA (1996). The amygdala and emotion. **Curr Opin Neurobiol** **6**:221-227.
177. Garcion E, Nataf S, Berod A, Darcy F, Brachet P (1997). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits the expression of inducible nitric oxide synthase in rat central nervous system during experimental allergic encephalomyelitis. **Brain Res Mol Brain Res** **45**:255-267.
178. Garcion E, Thanh XD, Bled F, Teissier E, Dehouck MP, Rigault F, Brachet P, Girault A, Torpier G, Darcy F (1996). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 regulates gamma 1 transpeptidase activity in rat brain. **Neurosci Lett** **216**:183-186.
179. Garcion E, Wion-Barbot N, Montero-Menei CN, Berger F, Wion D (2002). New clues about vitamin D functions in the nervous system. **Trends Endocrinol Metab** **13**:100-105.
180. Gardner JD, Jackson MJ (1977). Regulation of amylase release from dispersed pancreatic acinar cells. **J Physiol** **270**:439-454.
181. Gartner LM, Greer FR (2003). Prevention of rickets and vitamin D deficiency: new guidelines for vitamin D intake. **Pediatrics** **111**:908-910.

182. Gavrilov V, Steiner M, Shany S (2005). The combined treatment of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and a non-steroid anti-inflammatory drug is highly effective in suppressing prostate cancer cell line (LNCaP) growth. **Anticancer Res** **25**:3425-3429.
183. Gerhardt P, Voits M, Fink H, Huston JP (1994). Evidence for mnemotropic action of cholecystokinin fragments Boc-CCK-4 and CCK-8S. **Peptides** **15**:689-697.
184. Giardino L, Puglisi-Allegra S, Ceccatelli S (1996). CRH-R1 mRNA expression in two strains of inbred mice and its regulation after repeated restraint stress. **Brain Res Mol Brain Res** **40**:310-314.
185. Gilbertson MW, Shenton ME, Ciszewski A, Kasai K, Lasko NB, Orr SP, Pitman RK (2002). Smaller hippocampal volume predicts pathologic vulnerability to psychological trauma. **Nat Neurosci** **5**:1242-1247.
186. Gillies GE, Linton EA, Lowry PJ (1982). Corticotropin releasing activity of the new CRF is potentiated several times by vasopressin. **Nature** **299**:355-357.
187. Gloth FM, III, Alam W, Hollis B (1999). Vitamin D vs broad spectrum phototherapy in the treatment of seasonal affective disorder. **J Nutr Health Aging** **3**:5-7.
188. Goldman-Rakic PS (1996). Regional and cellular fractionation of working memory. **Proc Natl Acad Sci U S A** **93**:13473-13480.
189. Gomez JM (2006). The role of insulin-like growth factor I components in the regulation of vitamin d. **Curr Pharm Biotechnol** **7**:125-132.
190. Gordon JA, Hen R (2004). Genetic approaches to the study of anxiety. **Annu Rev Neurosci** **27**:193-222.
191. Gorman JM, Kent JM, Sullivan GM, Coplan JD (2000). Neuroanatomical hypothesis of panic disorder, revised. **Am J Psychiatry** **157**:493-505.
192. Gould GG, Pardon MC, Morilak DA, Frazer A (2003). Regulatory effects of reboxetine treatment alone, or following paroxetine treatment, on brain noradrenergic and serotonergic systems. **Neuropsychopharmacology** **28**:1633-1641.
193. Graeff FG, Silveira MC, Nogueira RL, Audi EA, Oliveira RM (1993). Role of the amygdala and periaqueductal gray in anxiety and panic. **Behav Brain Res** **58**:123-131.
194. Greisen MH, Bolwig TG, Wortwein G (2005). Cholecystokinin tetrapeptide effects on HPA axis function and elevated plus maze behaviour in maternally separated and handled rats. **Behav Brain Res** **161**:204-212.
195. Griebel G (1995). 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. **Pharmacol Ther** **65**:319-395.
196. Griebel G, Belzung C, Perrault G, Sanger DJ (2000). Differences in anxiety-related behaviours and in sensitivity to diazepam in inbred and outbred strains of mice. **Psychopharmacology (Berl)** **148**:164-170.
197. Griebel G, Perrault G, Sanger DJ (1997). CCK receptor antagonists in animal models of anxiety: comparison between exploration tests, conflict procedures and a model based on defensive behaviours. **Behav Pharmacol** **8**:549-560.
198. Griffin LD, Mellon SH (1999). Selective serotonin reuptake inhibitors directly alter activity of neurosteroidogenic enzymes. **Proc Natl Acad Sci U S A** **96**:13512-13517.
199. Gross C, Hen R (2004). The developmental origins of anxiety. **Nat Rev Neurosci** **5**:545-552.

200. Gualtieri CT, Johnson LG, Benedict KB (2006). Neurocognition in depression: patients on and off medication versus healthy comparison subjects. **J Neuropsychiatry Clin Neurosci** **18**:217-225.
201. Gunnarsson T, Mahoney C, Shlik J, Bradwejn J, Knott V (2003). Acute effects of cholecystokinin tetrapeptide on brain stem auditory evoked potentials in healthy volunteers. **Pharmacopsychiatry** **36**:181-186.
202. Haddjeri N, Blier P, de Montigny C (1998). Long-term antidepressant treatments result in a tonic activation of forebrain 5-HT_{1A} receptors. **J Neurosci** **18**:10150-10156.
203. Hadjiivanova C, Belcheva S, Belcheva I (2003). Cholecystokinin and learning and memory processes. **Acta Physiol Pharmacol Bulg** **27**:83-88.
204. Hajos-Korcsok E, McTavish SFB, Sharp T (2000). Effect of a selective 5-hydroxytryptamine reuptake inhibitor on brain extracellular noradrenaline: microdialysis studies using paroxetine. **European Journal of Pharmacology** **407**:101-107.
205. Harkin AJ, Bruce KH, Craft B, Paul IA (1999). Nitric oxide synthase inhibitors have antidepressant-like properties in mice. 1. Acute treatments are active in the forced swim test. **Eur J Pharmacol** **372**:207-213.
206. Harms LR, Eyles DW, McGrath JJ, Kay-Sim A, Burne TH (2008). Developmental vitamin D deficiency alters adult behaviour in 129/SvJ and C57BL/6J mice. **Behav Brain Res** **187**:343-350.
207. Harro J, Kiiwet RA, Lang A, Vasar E (1990). Rats with anxious or non-anxious type of exploratory behaviour differ in their brain CCK-8 and benzodiazepine receptor characteristics. **Behav Brain Res** **39**:63-71.
208. Harro J, Vasar E (1991). Evidence that CCKB receptors mediate the regulation of exploratory behaviour in the rat. **Eur J Pharmacol** **193**:379-381.
209. Harro J, Vasar E, Bradwejn J (1993). CCK in animal and human research on anxiety. **Trends Pharmacol Sci** **14**:244-249.
210. Hascoet M, Bourin M, Dhonnchadha BA (2001). The mouse light-dark paradigm: a review. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** **25**:141-166.
211. Hasler G, Drevets WC, Manji HK, Charney DS (2004). Discovering endophenotypes for major depression. **Neuropsychopharmacology** **29**:1765-1781.
212. Haussler MR (1986). Vitamin D receptors: nature and function. **Annu Rev Nutr** **6**:527-62.:527-562.
213. Heaney RP, Armas LA, Shary JR, Bell NH, Binkley N, Hollis BW (2008). 25-Hydroxylation of vitamin D₃: relation to circulating vitamin D₃ under various input conditions. **Am J Clin Nutr** **87**:1738-1742.
214. Hebb AL, Poulin JF, Roach SP, Zacharko RM, Drolet G (2005). Cholecystokinin and endogenous opioid peptides: interactive influence on pain, cognition, and emotion. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** **29**:1225-1238.
215. Hebb AL, Zacharko RM, Dominguez H, Laforest S, Gauthier M, Levac C, Drolet G (2003). Changes in brain cholecystokinin and anxiety-like behavior following exposure of mice to predator odor. **Neuroscience** **116**:539-551.
216. Heim C, Nemeroff CB (2002). Neurobiology of early life stress: clinical studies. **Semin Clin Neuropsychiatry** **7**:147-159.

217. Heinrichs SC, Joppa M (2001). Dissociation of arousal-like from anxiogenic-like actions of brain corticotropin-releasing factor receptor ligands in rats. **Behav Brain Res** **122**:43-50.
218. Heinrichs SC, Min H, Tamraz S, Carmouche M, Boehme SA, Vale WW (1997). Anti-sexual and anxiogenic behavioral consequences of corticotropin-releasing factor overexpression are centrally mediated. **Psychoneuroendocrinology** **22**:215-224.
219. Heinrichs SC, Stenzel-Poore MP, Gold LH, Battenberg E, Bloom FE, Koob GF, Vale WW, Pich EM (1996). Learning impairment in transgenic mice with central overexpression of corticotropin-releasing factor. **Neuroscience** **74**:303-311.
220. Henry HL, Norman AW (1974). Studies on calciferol metabolism. IX. Renal 25-hydroxy-vitamin D3-1 hydroxylase. Involvement of cytochrome P-450 and other properties. **J Biol Chem** **249**:7529-7535.
221. Herman JP, Cullinan WE (1997). Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. **Trends Neurosci** **20**:78-84.
222. Hernandez-Gomez AM, Aguilar-Roblero R, Perez dIM (2002). Role of cholecystokinin-A and cholecystokinin-B receptors in anxiety. **Amino Acids** **23**:283-290.
223. Hettema JM, Neale MC, Kendler KS (2001). A review and meta-analysis of the genetic epidemiology of anxiety disorders. **Am J Psychiatry** **158**:1568-1578.
224. Heuser I, Deuschle M, Weber B, Stalla GK, Holsboer F (2000). Increased activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal system after treatment with the mineralocorticoid receptor antagonist spironolactone. **Psychoneuroendocrinology** **25**:513-518.
225. Heuser I, Yassouridis A, Holsboer F (1994). The combined dexamethasone/CRH test: a refined laboratory test for psychiatric disorders. **J Psychiatr Res** **28**:341-356.
226. Hewison M, Zehnder D, Bland R, Stewart PM (2000). 1 α -Hydroxylase and the action of vitamin D. **J Mol Endocrinol** **25**:141-148.
227. Heyser CJ, McDonald JS, Polis IY, Gold LH (1999). Strain distribution of mice in discriminated Y-maze avoidance learning: genetic and procedural differences. **Behav Neurosci** **113**:91-102.
228. Hill DR, Shaw TM, Woodruff GN (1988). Binding sites for 125I-cholecystokinin in primate spinal cord are of the CCK-A subclass. **Neurosci Lett** **89**:133-139.
229. Himmerich H, Fulda S, Linseisen J, Seiler H, Wolfram G, Himmerich S, Gedrich K, Kloiber S, Lucae S, Ising M, Uhr M, Holsboer F, Pollmacher T (2008). Depression, comorbidities and the TNF-alpha system. **Eur Psychiatry** ..
230. Hirano K, Kimura R, Sugimoto Y, Yamada J, Uchida S, Kato Y, Hashimoto H, Yamada S (2005). Relationship between brain serotonin transporter binding, plasma concentration and behavioural effect of selective serotonin reuptake inhibitors. **Br J Pharmacol** **144**:695-702.
231. Hirschfeld RM, Holzer C, Calabrese JR, Weissman M, Reed M, Davies M, Frye MA, Keck P, McElroy S, Lewis L, Tierce J, Wagner KD, Hazard E (2003). Validity of the mood disorder questionnaire: a general population study. **Am J Psychiatry** **160**:178-180.
232. Hitchcock JM, Davis M (1987). Fear-potentiated startle using an auditory conditioned stimulus: effect of lesions of the amygdala. **Physiol Behav** **39**:403-408.
233. Hokfelt T, Broberger C, Xu ZQ, Sergeev V, Ubink R, Diez M (2000). Neuropeptides--an overview. **Neuropharmacology** **39**:1337-1356.
234. Hokfelt T, Skirboll L, Everitt B, Meister B, Brownstein M, Jacobs T, Faden A, Kuga S, Goldstein M, Markstein R, . (1985). Distribution of cholecystokinin-like immunoreactivity in the

- nervous system. Co-existence with classical neurotransmitters and other neuropeptides. **Ann N Y Acad Sci** **448:255-74**.:255-274.
235. Hokfelt T, Skirboll L, Rehfeld JF, Goldstein M, Markey K, Dann O (1980). A subpopulation of mesencephalic dopamine neurons projecting to limbic areas contains a cholecystokinin-like peptide: evidence from immunohistochemistry combined with retrograde tracing. **Neuroscience** **5**:2093-2124.
 236. Holick MF (2003). Evolution and function of vitamin D. **Recent Results Cancer Res** **164:3-28**.:3-28.
 237. Holick MF (2004). Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. **Am J Clin Nutr** **80**:1678S-1688S.
 238. Holmes A, Lit Q, Murphy DL, Gold E, Crawley JN (2003). Abnormal anxiety-related behavior in serotonin transporter null mutant mice: the influence of genetic background. **Genes Brain Behav** **2**:365-380.
 239. Holmes MC, Antoni FA, Aguilera G, Catt KJ (1986). Magnocellular axons in passage through the median eminence release vasopressin. **Nature** **319**:326-329.
 240. Holsboer F (1999). The rationale for corticotropin-releasing hormone receptor (CRH-R) antagonists to treat depression and anxiety. **J Psychiatr Res** **33**:181-214.
 241. Holsboer F (2000). The corticosteroid receptor hypothesis of depression. **Neuropsychopharmacology** **23**:477-501.
 242. Holsboer F, Barden N (1996). Antidepressants and hypothalamic-pituitary-adrenocortical regulation. **Endocr Rev** **17**:187-205.
 243. Holsboer F, Lauer CJ, Schreiber W, Krieg JC (1995). Altered hypothalamic-pituitary-adrenocortical regulation in healthy subjects at high familial risk for affective disorders. **Neuroendocrinology** **62**:340-347.
 244. Holt PR, Bresalier RS, Ma CK, Liu KF, Lipkin M, Byrd JC, Yang K (2006). Calcium plus vitamin D alters preneoplastic features of colorectal adenomas and rectal mucosa. **Cancer** **106**:287-296.
 245. Hommer DW, Stoner G, Crawley JN, Paul SM, Skirboll LR (1986). Cholecystokinin-dopamine coexistence: electrophysiological actions corresponding to cholecystokinin receptor subtype. **J Neurosci** **6**:3039-3043.
 246. Horesh N, Amir M, Kedem P, Goldberger Y, Kotler M (1997). Life events in childhood, adolescence and adulthood and the relationship to panic disorder. **Acta Psychiatr Scand** **96**:373-378.
 247. Hsiao S, Katsuura G, Itoh S (1984). Cholecystokinin tetrapeptide, proglumide and open-field behavior in rats. **Life Sci** **34**:2165-2168.
 248. Hurwitz I, Malkesman O, Stern Y, Schroeder M, Lavi-Avnon Y, Shayit M, Shavit Y, Wolf G, Yirmiya R, Weller A (2006). Stress and pain responses in rats lacking CCK1 receptors. **Peptides** **27**:1483-1489.
 249. Hwang BH, Kunkler PE, Tarricone BJ, Hingtgen JN, Nurnberger JI, Jr. (1999). Stress-induced changes of norepinephrine uptake sites in the locus coeruleus of C57BL/6J and DBA/2J mice: a quantitative autoradiographic study using [3H]-tomoxetine. **Neurosci Lett** **265**:151-154.
 250. Hyman SE, Nestler EJ (1996). Initiation and adaptation: a paradigm for understanding psychotropic drug action. **Am J Psychiatry** **153**:151-162.

251. Ise K, Akiyoshi J, Horinouchi Y, Tsutsumi T, Isogawa K, Nagayama H (2003). Association between the CCK-A receptor gene and panic disorder. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet** **118**:29-31.
252. Ising M, Kunzel HE, Binder EB, Nickel T, Modell S, Holsboer F (2005). The combined dexamethasone/CRH test as a potential surrogate marker in depression. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** **29**:1085-1093.
253. Itoh S, Katsuura G, Takashima A (1987). Interactions of cholecystokinin, beta-endorphin, and their antagonists on passive avoidance behavior in rats. **Can J Physiol Pharmacol** **65**:2260-2264.
254. Jefferson JW (2008). Bupropion extended-release for depressive disorders. **Expert Rev Neurother** **8**:715-722.
255. Johnson NJ, Rodgers RJ (1996). Ethological analysis of cholecystokinin (CCKA and CCKB) receptor ligands in the elevated plus-maze test of anxiety in mice. **Psychopharmacology (Berl)** **124**:355-364.
256. Jones BC, Hou X, Cook MN (1996). Effect of exposure to novelty on brain monoamines in C57BL/6 and DBA/2 mice. **Physiol Behav** **59**:361-367.
257. Jones BC, Sarrieau A, Reed CL, Azar MR, Mormede P (1998b). Contribution of sex and genetics to neuroendocrine adaptation to stress in mice. **Psychoneuroendocrinology** **23**:505-517.
258. Jones BC, Sarrieau A, Reed CL, Azar MR, Mormede P (1998a). Contribution of sex and genetics to neuroendocrine adaptation to stress in mice. **Psychoneuroendocrinology** **23**:505-517.
259. Jorde R, Waterloo K, Saleh F, Haug E, Svartberg J (2006). Neuropsychological function in relation to serum parathyroid hormone and serum 25-hydroxyvitamin D levels. The Tromso study. **J Neurol** **253**:464-470.
260. Kalin NH, Takahashi LK (1990). Fear-motivated behavior induced by prior shock experience is mediated by corticotropin-releasing hormone systems. **Brain Res** **509**:80-84.
261. Kalueff AV, Keisala T, Minasyan A, Kuuslahti M, Miettinen S, Tuohimaa P (2006). Behavioural anomalies in mice evoked by "Tokyo" disruption of the Vitamin D receptor gene. **Neurosci Res** **54**:254-260.
262. Kalueff AV, Lou YR, Laaksi I, Tuohimaa P (2004). Impaired motor performance in mice lacking neurosteroid vitamin D receptors. **Brain Res Bull** **64**:25-29.
263. Kalueff AV, Tuohimaa P (2004). Grooming analysis algorithm for neurobehavioural stress research. **Brain Res Brain Res Protoc** **13**:151-158.
264. Katsuura G, Itoh S (1981). Effect of cholecystokinin octapeptide on body temperature in the rat. **Jpn J Physiol** **31**:849-858.
265. Keck ME, Holsboer F (2001). Hyperactivity of CRH neuronal circuits as a target for therapeutic interventions in affective disorders. **Peptides** **22**:835-844.
266. Keck ME, Ohl F, Holsboer F, Muller MB (2005). Listening to mutant mice: a spotlight on the role of CRF/CRF receptor systems in affective disorders. **Neurosci Biobehav Rev** **29**:867-889.
267. Keck ME, Sartori SB, Welt T, Muller MB, 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. **J Neurochem** **92**:1170-1179.

268. Keck ME, Strohle A (2005). Challenge studies in anxiety disorders. **Handb Exp Pharmacol** 449-468.
269. Keck ME, Welt T, Muller MB, Uhr M, Ohl F, Wigger A, Toschi N, Holsboer F, Landgraf R (2003). Reduction of hypothalamic vasopressinergic hyperdrive contributes to clinically relevant behavioral and neuroendocrine effects of chronic paroxetine treatment in a psychopathological rat model. **Neuropsychopharmacology** 28:235-243.
270. Keck ME, Welt T, Wigger A, Renner U, Engelmann M, Holsboer F, Landgraf R (2001). The anxiolytic effect of the CRH(1) receptor antagonist R121919 depends on innate emotionality in rats. **Eur J Neurosci** 13:373-380.
271. Keck ME, Wigger A, Welt T, Muller MB, Gesing A, Reul JM, Holsboer F, Landgraf R, Neumann ID (2002). Vasopressin mediates the response of the combined dexamethasone/CRH test in hyper-anxious rats: implications for pathogenesis of affective disorders. **Neuropsychopharmacology** 26:94-105.
272. Keisala T, Minasyan A, Jarvelin U, Wang J, Hamalainen T, Kalueff AV, Tuohimaa P (2007). Aberrant nest building and prolactin secretion in vitamin D receptor mutant mice. **J Steroid Biochem Mol Biol** 104:269-273.
273. Keller-Wood ME, Dallman MF (1984). Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. **Endocr Rev** 5:1-24.
274. Kemp CF, Woods RJ, Lowry PJ (1998). The corticotrophin-releasing factor-binding protein: an act of several parts. **Peptides** 19:1119-1128.
275. Kempermann G, Gage FH (2002). Genetic determinants of adult hippocampal neurogenesis correlate with acquisition, but not probe trial performance, in the water maze task. **Eur J Neurosci** 16:129-136.
276. Kendler KS (1996). Major depression and generalised anxiety disorder. Same genes, (partly)different environments--revisited. **Br J Psychiatry Suppl** 68-75.
277. Kendler KS, Gardner CO (2001). Monozygotic twins discordant for major depression: a preliminary exploration of the role of environmental experiences in the aetiology and course of illness. **Psychol Med** 31:411-423.
278. Kendler KS, Karkowski LM, Prescott CA (1999). Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression. **Am J Psychiatry** 156:837-841.
279. Kennedy JL, Bradwejn J, Koszycki D, King N, Crowe R, Vincent J, Fourie O (1999). Investigation of cholecystokinin system genes in panic disorder. **Mol Psychiatry** 4:284-285.
280. Kenny AM, Biskup B, Robbins B, Marcella G, Burleson JA (2003). Effects of vitamin D supplementation on strength, physical function, and health perception in older, community-dwelling men. **J Am Geriatr Soc** 51:1762-1767.
281. Kent JM, Coplan JD, Gorman JM (1998). Clinical utility of the selective serotonin reuptake inhibitors in the spectrum of anxiety. **Biol Psychiatry** 44:812-824.
282. Kilfoil T, Michel A, Montgomery D, Whiting RL (1989). Effects of anxiolytic and anxiogenic drugs on exploratory activity in a simple model of anxiety in mice. **Neuropharmacology** 28:901-905.
283. Kim H, Whang WW, Kim HT, Pyun KH, Cho SY, Hahm DH, Lee HJ, Shim I (2003). Expression of neuropeptide Y and cholecystokinin in the rat brain by chronic mild stress. **Brain Res** 983:201-208.
284. Klein DF (1993). False suffocation alarms, spontaneous panics, and related conditions. An integrative hypothesis. **Arch Gen Psychiatry** 50:306-317.

285. Ko P, Burkert R, McGrath J, Eyles D (2004). Maternal vitamin D3 deprivation and the regulation of apoptosis and cell cycle during rat brain development. **Brain Res Dev Brain Res** **153**:61-68.
286. Kobayashi S, Ohta M, Miyasaka K, Funakoshi A (1996). Decrease in exploratory behavior in naturally occurring cholecystokinin (CCK)-A receptor gene knockout rats. **Neurosci Lett** **214**:61-64.
287. Koks S, Abramov U, Veraksits A, Bourin M, Matsui T, Vasar E (2003). CCK2 receptor-deficient mice have increased sensitivity of dopamine D2 receptors. **Neuropeptides** **37**:25-29.
288. Kolik LG, Gudasheva TA, Seredenin SB (2003). Pharmacogenetic study of anxiolytic effects of new cholecystokinin receptor antagonists in animals with different levels of emotionality. **Bull Exp Biol Med** **135**:440-444.
289. Konkle ATM, Sreter KB, Baker SL, Bielajew C (2003). Chronic paroxetine infusion influences macronutrient selection in male Sprague-Dawley rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior** **74**:883-890.
290. Koob GF (1999). Corticotropin-releasing factor, norepinephrine, and stress. **Biol Psychiatry** **46**:1167-1180.
291. Koob GF, Heinrichs SC (1999). A role for corticotropin releasing factor and urocortin in behavioral responses to stressors. **Brain Res** **848**:141-152.
292. Korte SM (2001). Corticosteroids in relation to fear, anxiety and psychopathology. **Neurosci Biobehav Rev** **25**:117-142.
293. Kramer MS, Cutler NR, Ballenger JC, Patterson WM, Mendels J, Chenault A, Shrivastava R, Matzura-Wolfe D, Lines C, Reines S (1995). A placebo-controlled trial of L-365,260, a CCKB antagonist, in panic disorder. **Biol Psychiatry** **37**:462-466.
294. Kuningas M, Mooijaart SP, Jolles J, Slagboom PE, Westendorp RG, van Heemst D (2007). VDR gene variants associate with cognitive function and depressive symptoms in old age. **Neurobiol Aging** **28**:1167-1177.
295. Kunzel HE, Binder EB, Nickel T, Ising M, Fuchs B, Majer M, Pfennig A, Ernst G, Kern N, Schmid DA, Uhr M, Holsboer F, Modell S (2003). Pharmacological and nonpharmacological factors influencing hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis reactivity in acutely depressed psychiatric in-patients, measured by the Dex-CRH test. **Neuropsychopharmacology** **28**:2169-2178.
296. Ladurelle N, Keller G, Blommaert A, Roques BP, Dauge V (1997). The CCK-B agonist, BC264, increases dopamine in the nucleus accumbens and facilitates motivation and attention after intraperitoneal injection in rats. **Eur J Neurosci** **9**:1804-1814.
297. Landfield PW, Cadwallader-Neal L (1998). Long-term treatment with calcitriol (1,25(OH)₂ vit D₃) retards a biomarker of hippocampal aging in rats. **Neurobiol Aging** **19**:469-477.
298. Landgraf R, Wotjak CT, Neumann ID, Engelmann M (1998). Release of vasopressin within the brain contributes to neuroendocrine and behavioral regulation. **Prog Brain Res** **119**:201-220.
299. Langub MC, Herman JP, Malluche HH, Koszewski NJ (2001). Evidence of functional vitamin D receptors in rat hippocampus. **Neuroscience** **104**:49-56.
300. Lansdowne AT, Provost SC (1998). Vitamin D3 enhances mood in healthy subjects during winter. **Psychopharmacology (Berl)** **135**:319-323.

301. Lauer CJ, Schreiber W, Modell S, Holsboer F, Krieg JC (1998). The Munich vulnerability study on affective disorders: overview of the cross-sectional observations at index investigation. **J Psychiatr Res** **32**:393-401.
302. Lehnert H, Schulz C, Dieterich K (1998). Physiological and neurochemical aspects of corticotropin-releasing factor actions in the brain: the role of the locus coeruleus. **Neurochem Res** **23**:1039-1052.
303. Lemaire M, Piot O, Roques BP, Bohme GA, Blanchard JC (1992). Evidence for an endogenous cholecystokinergic balance in social memory. **Neuroreport** **3**:929-932.
304. Lemire J (2000). 1,25-Dihydroxyvitamin D₃--a hormone with immunomodulatory properties. **Z Rheumatol** **59 Suppl 1:24-7**.:24-27.
305. Lemire JM, Adams JS, Sakai R, Jordan SC (1984). 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ suppresses proliferation and immunoglobulin production by normal human peripheral blood mononuclear cells. **J Clin Invest** **74**:657-661.
306. Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg BD, Petri S, Benjamin J, Muller CR, Hamer DH, Murphy DL (1996). Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. **Science** **274**:1527-1531.
307. Leserman J (2008). Role of depression, stress, and trauma in HIV disease progression. **Psychosom Med** **70**:539-545.
308. Levis S, Gomez A, Jimenez C, Veras L, Ma F, Lai S, Hollis B, Roos BA (2005). Vitamin d deficiency and seasonal variation in an adult South Florida population. **J Clin Endocrinol Metab** **90**:1557-1562.
309. Li Q, Deng X, Singh P (2007). Significant increase in the aggressive behavior of transgenic mice overexpressing peripheral progastrin peptides: associated changes in CCK2 and serotonin receptors in the CNS. **Neuropsychopharmacology** **32**:1813-1821.
310. Li Q, Muma NA, Battaglia G, Van de Kar LD (1997). A desensitization of hypothalamic 5-HT_{1A} receptors by repeated injections of paroxetine: reduction in the levels of G(i) and G(o) proteins and neuroendocrine responses, but not in the density of 5-HT_{1A} receptors. **J Pharmacol Exp Ther** **282**:1581-1590.
311. Lieb R (2005). Anxiety disorders: clinical presentation and epidemiology. **Handb Exp Pharmacol** **405**:405-432.
312. Liebsch G, Landgraf R, Engelmann M, Lorsch P, Holsboer F (1999). Differential behavioural effects of chronic infusion of CRH 1 and CRH 2 receptor antisense oligonucleotides into the rat brain. **J Psychiatr Res** **33**:153-163.
313. Liebsch G, Landgraf R, Gerstberger R, Probst JC, Wotjak CT, Engelmann M, Holsboer F, Montkowski A (1995). Chronic infusion of a CRH1 receptor antisense oligodeoxynucleotide into the central nucleus of the amygdala reduced anxiety-related behavior in socially defeated rats. **Regul Pept** **59**:229-239.
314. Liebsch G, Linthorst AC, Neumann ID, Reul JM, Holsboer F, Landgraf R (1998). Behavioral, physiological, and neuroendocrine stress responses and differential sensitivity to diazepam in two Wistar rat lines selectively bred for high- and low-anxiety-related behavior. **Neuropsychopharmacology** **19**:381-396.
315. Lightman SL, Young WS, III (1988). Corticotrophin-releasing factor, vasopressin and pro-opiomelanocortin mRNA responses to stress and opiates in the rat. **J Physiol** **403**:511-523.
316. Lin AM, Fan SF, Yang DM, Hsu LL, Yang CH (2003). Zinc-induced apoptosis in substantia nigra of rat brain: neuroprotection by vitamin D₃. **Free Radic Biol Med** **34**:1416-1425.

317. Lindefors N, Brene S, Kopp J, Linden A, Brodin E, Sedvall G, Persson H (1991). Distribution of cholecystokinin mRNA and peptides in the human brain. **Neuroscience** **42**:813-821.
318. Linthorst AC, Flachskamm C, Barden N, Holsboer F, Reul JM (2000). Glucocorticoid receptor impairment alters CNS responses to a psychological stressor: an in vivo microdialysis study in transgenic mice. **Eur J Neurosci** **12**:283-291.
319. Linthorst AC, Penalva RG, Flachskamm C, Holsboer F, Reul JM (2002). Forced swim stress activates rat hippocampal serotonergic neurotransmission involving a corticotropin-releasing hormone receptor-dependent mechanism. **Eur J Neurosci** **16**:2441-2452.
320. Liposits Z, Phelix C, Paull WK (1987). Synaptic interaction of serotonergic axons and corticotropin releasing factor (CRF) synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat. A light and electron microscopic immunocytochemical study. **Histochemistry** **86**:541-549.
321. Lister RG (1987). The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology (Berl)** **92**:180-185.
322. Lister RG (1990). Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmacol Ther** **46**:321-340.
323. Lopez JF, Chalmers DT, Little KY, Watson SJ (1998). A.E. Bennett Research Award. Regulation of serotonin_{1A}, glucocorticoid, and mineralocorticoid receptor in rat and human hippocampus: implications for the neurobiology of depression. **Biol Psychiatry** **43**:547-573.
324. Lotstra F, Vanderhaeghen JJ (1987). Distribution of immunoreactive cholecystokinin in the human hippocampus. **Peptides** **8**:911-920.
325. Loubinoux I, Pariente J, Rascol O, Celsis P, Chollet F (2002). Selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine modulates motor behavior through practice. A double-blind, placebo-controlled, multi-dose study in healthy subjects. **Neuropsychologia** **40**:1815-1821.
326. Lucki I, Dalvi A, Mayorga AJ (2001). Sensitivity to the effects of pharmacologically selective antidepressants in different strains of mice. **Psychopharmacology (Berl)** **155**:315-322.
327. Lundmark J, Walinder J, Alling C, Manniche PM, Dalgaard L (1994). The effect of paroxetine on cerebrospinal fluid concentrations of neurotransmitter metabolites in depressed patients. **Eur Neuropsychopharmacol** **4**:1-6.
328. Lydiard RB, Ballenger JC, Laraia MT, Fossey MD, Beinfeld MC (1992). CSF cholecystokinin concentrations in patients with panic disorder and in normal comparison subjects. **Am J Psychiatry** **149**:691-693.
329. Madhok TC, DeLuca HF (1979). Characteristics of the rat liver microsomal enzyme system converting cholecalciferol into 25-hydroxycholecalciferol. Evidence for the participation of cytochrome p-450. **Biochem J** **184**:491-499.
330. Maekawa F, Nakamori T, Uchimura M, Fujiwara K, Yada T, Tsukahara S, Kanamatsu T, Tanaka K, Ohki-Hamazaki H (2007). Activation of cholecystokinin neurons in the dorsal pallidum of the telencephalon is indispensable for the acquisition of chick imprinting behavior. **J Neurochem** **102**:1645-1657.
331. Makino S, Schulkin J, Smith MA, Pacak K, Palkovits M, Gold PW (1995). Regulation of corticotropin-releasing hormone receptor messenger ribonucleic acid in the rat brain and pituitary by glucocorticoids and stress. **Endocrinology** **136**:4517-4525.
332. Manolagas SC, Hustmyer FG, Yu XP (1989). 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and the immune system. **Proc Soc Exp Biol Med** **191**:238-245.

333. Maron E, Nikopensus T, Koks S, Altmae S, Heinaste E, Vabrit K, Tammekivi V, Hallast P, Koido K, Kurg A, Metspalu A, Vasar E, Vasar V, Shlik J (2005). Association study of 90 candidate gene polymorphisms in panic disorder. **Psychiatr Genet** **15**:17-24.
334. Mascarenhas R, Mobarhan S (2004). Hypovitaminosis D-induced pain. **Nutr Rev** **62**:354-359.
335. Masuda S, Jones G (2006). Promise of vitamin D analogues in the treatment of hyperproliferative conditions. **Mol Cancer Ther** **5**:797-808.
336. Mathis C, Paul SM, Crawley JN (1994). Characterization of benzodiazepine-sensitive behaviors in the A/J and C57BL/6J inbred strains of mice. **Behav Genet** **24**:171-180.
337. Matilainen M, Malinen M, Saavalainen K, Carlberg C (2005). Regulation of multiple insulin-like growth factor binding protein genes by 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3. **Nucleic Acids Res** **33**:5521-5532.
338. McAllister-Williams RH, Ferrier IN, Young AH (1998). Mood and neuropsychological function in depression: the role of corticosteroids and serotonin. **Psychol Med** **28**:573-584.
339. McDonald AJ (1985). Morphology of peptide-containing neurons in the rat basolateral amygdaloid nucleus. **Brain Res** **338**:186-191.
340. McEwen BS (2000). The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. **Brain Res** **886**:172-189.
341. McGrath J (1999). Hypothesis: is low prenatal vitamin D a risk-modifying factor for schizophrenia? **Schizophr Res** **40**:173-177.
342. McGrath J, Saari K, Hakko H, Jokelainen J, Jones P, Jarvelin MR, Chant D, Isohanni M (2004b). Vitamin D supplementation during the first year of life and risk of schizophrenia: a Finnish birth cohort study. **Schizophr Res** **67**:237-245.
343. McGrath J, Scragg R, Chant D, Eyles D, Burne T, Obradovic D (2007). No Association between Serum 25-Hydroxyvitamin D(3) Level and Performance on Psychometric Tests in NHANES III. **Neuroepidemiology** **29**:49-54.
344. Meijer OC, de Kloet ER (1994). Corticosterone suppresses the expression of 5-HT1A receptor mRNA in rat dentate gyrus. **Eur J Pharmacol** **266**:255-261.
345. Menard J, Treit D (2001). The anxiolytic effects of intra-hippocampal midazolam are antagonized by intra-septal L-glutamate. **Brain Res** **888**:163-166.
346. Merikangas KR, Low NC (2005). Genetic epidemiology of anxiety disorders. **Handb Exp Pharmacol** 163-179.
347. Merikangas KR, Zhang H, Avenevoli S, Acharyya S, Neuenschwander M, Angst J (2003). Longitudinal trajectories of depression and anxiety in a prospective community study: the Zurich Cohort Study. **Arch Gen Psychiatry** **60**:993-1000.
348. Middei S, Restivo L, Sgobio C, Passino E, Ammassari-Teule M (2004). Reversible inactivation of hippocampus and dorsolateral striatum in C57BL/6 and DBA/2 inbred mice failed to show interaction between memory systems in these genotypes. **Behav Brain Res** **154**:527-534.
349. Millan MJ (2004). The role of monoamines in the actions of established and "novel" antidepressant agents: a critical review. **Eur J Pharmacol** **500**:371-384.
350. Millington WR, Mueller GP, Lavigne GJ (1992). Cholecystokinin type A and type B receptor antagonists produce opposing effects on cholecystokinin-stimulated beta-endorphin secretion from the rat pituitary. **J Pharmacol Exp Ther** **261**:454-461.

351. Minasyan A, Keisala T, Lou YR, Kalueff AV, Tuohimaa P (2007). Neophobia, sensory and cognitive functions, and hedonic responses in vitamin D receptor mutant mice. **J Steroid Biochem Mol Biol** **104**:274-280.
352. Miranda-Paiva CM, Canteras NS, Sukikara MH, Nasello AG, Mackowiak II, Felicio LF (2007). Periaqueductal gray cholecystokinin infusions block morphine-induced disruption of maternal behavior. **Peptides** **28**:657-662.
353. Miyasaka K, Kobayashi S, Ohta M, Kanai S, Yoshida Y, Nagata A, Matsui T, Noda T, Takiguchi S, Takata Y, Kawanami T, Funakoshi A (2002). Anxiety-related behaviors in cholecystokinin-A, B, and AB receptor gene knockout mice in the plus-maze. **Neurosci Lett** **335**:115-118.
354. Miyasaka K, Yoshida Y, Matsushita S, Higuchi S, Shirakawa O, Shimokata H, Funakoshi A (2004). Association of cholecystokinin-A receptor gene polymorphisms and panic disorder in Japanese. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet** **127**:78-80.
355. Modell JG, Katholi CR, Modell JD, DePalma RL (1997). Comparative sexual side effects of bupropion, fluoxetine, paroxetine, and sertraline. **Clin Pharmacol Ther** **61**:476-487.
356. Mongeau R, Blier P, de Montigny C (1997). The serotonergic and noradrenergic systems of the hippocampus: their interactions and the effects of antidepressant treatments. **Brain Res Brain Res Rev** **23**:145-195.
357. Montgomery SA (1992). The advantages of paroxetine in different subgroups of depression. **Int Clin Psychopharmacol** **6 Suppl 4**:91-100.:91-100.
358. Montgomery SA, Dunner DL, Dunbar GC (1995). Reduction of suicidal thoughts with paroxetine in comparison with reference antidepressants and placebo. **European Neuropsychopharmacology** **5**:5-13.
359. Moore TB, Sidell N, Chow VJ, Medzoyan RH, Huang JI, Yamashiro JM, Wada RK (1995). Differentiating effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol (D3) on LA-N-5 human neuroblastoma cells and its synergy with retinoic acid. **J Pediatr Hematol Oncol** **17**:311-317.
360. Morishita S, Arita S (2003). Induction of mania in depression by paroxetine. **Hum Psychopharmacol** **18**:565-568.
361. Mortensen B, Gordeladze JO, Haug E, Schjerven L, Gautvik KM (1993). Relationship between circulating vitamin D3 metabolites and prolactin or growth hormone levels in rat. **Pharmacol Toxicol** **72**:188-193.
362. Mosekilde L (2005). Vitamin D and the elderly. **Clin Endocrinol (Oxf)** **62**:265-281.
363. Muller M, Holsboer F, Keck ME (2002). Genetic modification of corticosteroid receptor signalling: novel insights into pathophysiology and treatment strategies of human affective disorders. **Neuropeptides** **36**:117-131.
364. Muller MB, Keck ME (2002). Genetically engineered mice for studies of stress-related clinical conditions. **J Psychiatr Res** **36**:53-76.
365. Muller MB, Landgraf R, Preil J, Sillaber I, Kresse AE, Keck ME, Zimmermann S, Holsboer F, Wurst W (2000). Selective activation of the hypothalamic vasopressinergic system in mice deficient for the corticotropin-releasing hormone receptor 1 is dependent on glucocorticoids. **Endocrinology** **141**:4262-4269.
366. Muller MB, Zimmermann S, Sillaber I, Hagemeyer TP, Deussing JM, Timpl P, Kormann MS, Droste SK, Kuhn R, Reul JM, Holsboer F, Wurst W (2003). Limbic corticotropin-releasing hormone receptor 1 mediates anxiety-related behavior and hormonal adaptation to stress. **Nat Neurosci** **6**:1100-1107.

367. Munck A, Naray-Fejes-Toth A (1992). The ups and downs of glucocorticoid physiology. Permissive and suppressive effects revisited. **Mol Cell Endocrinol** **90**:C1-C4.
368. Musiol IM, Stumpf WE, Bidmon HJ, Heiss C, Mayerhofer A, Bartke A (1992). Vitamin D nuclear binding to neurons of the septal, substriatal and amygdaloid area in the Siberian hamster (*Phodopus sungorus*) brain. **Neuroscience** **48**:841-848.
369. Myers JK, Weissman MM, Tischler GL, Holzer CE, III, Leaf PJ, Orvaschel H, Anthony JC, Boyd JH, Burke JD, Jr., Kramer M, . (1984). Six-month prevalence of psychiatric disorders in three communities 1980 to 1982. **Arch Gen Psychiatry** **41**:959-967.
370. Nabe K, Honjo S, Ikeda H, Wada Y, Nomura K, Hamamoto Y, Koh T, Tatsuoka Y, Koshiyama H (2007). Diabetes insipidus and cognitive function. **Med Hypotheses** **69**:764-766.
371. Naveilhan P, Neveu I, Baudet C, Ohyama KY, Brachet P, Wion D (1993). Expression of 25(OH) vitamin D3 24-hydroxylase gene in glial cells. **Neuroreport** **5**:255-257.
372. Naveilhan P, Neveu I, Wion D, Brachet P (1996). 1,25-Dihydroxyvitamin D3, an inducer of glial cell line-derived neurotrophic factor. **Neuroreport** **7**:2171-2175.
373. Nelovkov A, Areda T, Innos J, Koks S, Vasar E (2006). Rats displaying distinct exploratory activity also have different expression patterns of gamma-aminobutyric acid- and cholecystokinin-related genes in brain regions. **Brain Res** **1100**:21-31.
374. Nelson JC, Charney DS (1981). The symptoms of major depressive illness. **Am J Psychiatry** **138**:1-13.
375. Nemere I, Schwartz Z, Pedrozo H, Sylvania VL, Dean DD, Boyan BD (1998). Identification of a membrane receptor for 1,25-dihydroxyvitamin D3 which mediates rapid activation of protein kinase C. **J Bone Miner Res** **13**:1353-1359.
376. Nemeroff CB (1996). The corticotropin-releasing factor (CRF) hypothesis of depression: new findings and new directions. **Mol Psychiatry** **1**:336-342.
377. Nemeroff CB (2002). New directions in the development of antidepressants: the interface of neurobiology and psychiatry. **Hum Psychopharmacol** **17 Suppl 1**:S13-S16.
378. Nemeroff CB, Owens MJ (2004). Pharmacologic differences among the SSRIs: focus on monoamine transporters and the HPA axis. **CNS Spectr** **9**:23-31.
379. Nemeroff CB, Widerlov E, Bissette G, Walleus H, Karlsson I, Eklund K, Kilts CD, Loosen PT, Vale W (1984). Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. **Science** **226**:1342-1344.
380. Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM (2002b). Neurobiology of depression. **Neuron** **34**:13-25.
381. Nestler EJ, Carlezon WA, Jr. (2006). The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. **Biol Psychiatry** **59**:1151-1159.
382. Netto CF, Guimaraes FS (2004). Anxiogenic effect of cholecystokinin in the dorsal periaqueductal gray. **Neuropsychopharmacology** **29**:101-107.
383. Neveu I, Naveilhan P, Baudet C, Brachet P, Metsis M (1994). 1,25-dihydroxyvitamin D3 regulates NT-3, NT-4 but not BDNF mRNA in astrocytes. **Neuroreport** **6**:124-126.
384. Nguyen PV, Abel T, Kandel ER, Bourtchouladze R (2000). Strain-dependent differences in LTP and hippocampus-dependent memory in inbred mice. **Learn Mem** **7**:170-179.

385. Nickel T, Sonntag A, Schill J, Zobel AW, Ackl N, Brunbauer A, Murck H, Ising M, Yassouridis A, Steiger A, Zihl J, Holsboer F (2003). Clinical and neurobiological effects of tianeptine and paroxetine in major depression. **J Clin Psychopharmacol** **23**:155-168.
386. Nieves J, Cosman F, Herbert J, Shen V, Lindsay R (1994). High prevalence of vitamin D deficiency and reduced bone mass in multiple sclerosis. **Neurology** **44**:1687-1692.
387. Noble F, Wank SA, Crawley JN, Bradwejn J, Seroogy KB, Hamon M, Roques BP (1999). International Union of Pharmacology. XXI. Structure, distribution, and functions of cholecystokinin receptors. **Pharmacol Rev** **51**:745-781.
388. Nordin C, Sjodin I (2007). CSF cholecystokinin, gamma-aminobutyric acid and neuropeptide Y in pathological gamblers and healthy controls. **J Neural Transm** **114**:499-503.
389. Novak I, Potts AW (1997). Electronic structure of vitamins D2 and D3. **Biochim Biophys Acta** **1319**:86-90.
390. O'Loan J, Eyles DW, Kesby J, Ko P, McGrath JJ, Burne TH (2007). Vitamin D deficiency during various stages of pregnancy in the rat; its impact on development and behaviour in adult offspring. **Psychoneuroendocrinology** **32**:227-234.
391. O'Neill MF, Dourish CT, Iversen SD (1991). Hypolocomotion induced by peripheral or central injection of CCK in the mouse is blocked by the CCKA receptor antagonist devazepide but not by the CCKB receptor antagonist L-365,260. **Eur J Pharmacol** **193**:203-208.
392. Obradovic D, Gronemeyer H, Lutz B, Rein T (2006). Cross-talk of vitamin D and glucocorticoids in hippocampal cells. **J Neurochem** **96**:500-509.
393. Ohl F (2005). Animal models of anxiety. **Handb Exp Pharmacol** 35-69.
394. Ohl F, Holsboer F, Landgraf R (2001). The modified hole board as a differential screen for behavior in rodents. **Behav Res Methods Instrum Comput** **33**:392-397.
395. Ohl F, Keck ME (2003). Behavioural screening in mutagenised mice--in search for novel animal models of psychiatric disorders. **Eur J Pharmacol** **480**:219-228.
396. Ohl F, Roedel A, Binder E, Holsboer F (2003). Impact of high and low anxiety on cognitive performance in a modified hole board test in C57BL/6 and DBA/2 mice. **Eur J Neurosci** **17**:128-136.
397. Owen EH, Logue SF, Rasmussen DL, Wehner JM (1997). Assessment of learning by the Morris water task and fear conditioning in inbred mouse strains and F1 hybrids: implications of genetic background for single gene mutations and quantitative trait loci analyses. **Neuroscience** **80**:1087-1099.
398. Owens MJ, Knight DL, Nemeroff CB (2000). Paroxetine binding to the rat norepinephrine transporter in vivo. **Biological Psychiatry** **47**:842-845.
399. Ozdemir V, Naranjo CA, Shulman RW, Herrmann N, Sellers EM, Reed K, Kalow W (1998). Determinants of interindividual variability and extent of CYP2D6 and CYP1A2 inhibition by paroxetine and fluvoxamine in vivo. **J Clin Psychopharmacol** **18**:198-207.
400. Pacher P, Kohegyi E, Kecskemeti V, Furst S (2001). Current trends in the development of new antidepressants. **Curr Med Chem** **8**:89-100.
401. Pagani FD, Taveira da Silva AM, Hamosh P, Garvey TQ, III, Gillis RA (1982). Respiratory and cardiovascular effects of intraventricular cholecystokinin. **Eur J Pharmacol** **19**:78:129-132.
402. Pariante CM, Miller AH (2001). Glucocorticoid receptors in major depression: relevance to pathophysiology and treatment. **Biol Psychiatry** **49**:391-404.

403. Parks CL, Robinson PS, Sibille E, Shenk T, Toth M (1998). Increased anxiety of mice lacking the serotonin1A receptor. **Proc Natl Acad Sci U S A** **95**:10734-10739.
404. Parry BL, Mahan AM, Mostofi N, Klauber MR, Lew GS, Gillin JC (1993). Light therapy of late luteal phase dysphoric disorder: an extended study. **Am J Psychiatry** **150**:1417-1419.
405. Partonen T (1998). Vitamin D and serotonin in winter. **Med Hypotheses** **51**:267-268.
406. Passaro E Jr, Debas H, Oldendorf W, Yamada T (1982). Rapid appearance of intraventricularly administered neuropeptides in the peripheral circulation. **Brain Res** **241**:335-340.
407. Pei Q, Zetterstrom TS, Sprakes M, Tordera R, Sharp T (2003). Antidepressant drug treatment induces Arc gene expression in the rat brain. **Neuroscience** **121**:975-982.
408. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M (1985). Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **J Neurosci Methods** **14**:149-167.
409. Perez-Castrillon JL, Vega G, Abad L, Sanz A, Chaves J, Hernandez G, Duenas A (2007). Effects of Atorvastatin on vitamin D levels in patients with acute ischemic heart disease. **Am J Cardiol** **99**:903-905.
410. Perez-Fernandez R, Alonso M, Segura C, Munoz I, Garcia-Caballero T, Diguez C (1997). Vitamin D receptor gene expression in human pituitary gland. **Life Sci** **60**:35-42.
411. Petit-Demouliere B, Chenu F, Bourin M (2005). Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. **Psychopharmacology (Berl)** **177**:245-255.
412. Plotsky PM (1987). Facilitation of immunoreactive corticotropin-releasing factor secretion into the hypophysial-portal circulation after activation of catecholaminergic pathways or central norepinephrine injection. **Endocrinology** **121**:924-930.
413. Podhorna J, Brown RE (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 Behav** **1**:96-110.
414. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M (1977). Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Arch Int Pharmacodyn Ther** **229**:327-336.
415. Price ML, Curtis AL, Kirby LG, Valentino RJ, Lucki I (1998). Effects of corticotropin-releasing factor on brain serotonergic activity. **Neuropsychopharmacology** **18**:492-502.
416. Prufer K, Veenstra TD, Jirikowski GF, Kumar R (1999). Distribution of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor immunoreactivity in the rat brain and spinal cord. **J Chem Neuroanat** **16**:135-145.
417. Purba JS, Hoogendijk WJ, Hofman MA, Swaab DF (1996). Increased number of vasopressin- and oxytocin-expressing neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus in depression. **Arch Gen Psychiatry** **53**:137-143.
418. Purdy RH, Morrow AL, Moore PH, Jr., Paul SM (1991). Stress-induced elevations of gamma-aminobutyric acid type A receptor-active steroids in the rat brain. **Proc Natl Acad Sci U S A** **88**:4553-4557.
419. Quirarte GL, Galvez R, Roozendaal B, McGaugh JL (1998). Norepinephrine release in the amygdala in response to footshock and opioid peptidergic drugs. **Brain Res** **808**:134-140.
420. Quitkin FM, McGrath PJ, Stewart JW, Taylor BP, Klein DF (1996). Can the effects of antidepressants be observed in the first two weeks of treatment? **Neuropsychopharmacology** **15**:390-394.

421. Raadsheer FC, Hoogendijk WJ, Stam FC, Tilders FJ, Swaab DF (1994). Increased numbers of corticotropin-releasing hormone expressing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of depressed patients. **Neuroendocrinology** **60**:436-444.
422. Radu D, Ahlin A, Svanborg P, Lindefors N (2003). Pentagastrin test for anxiety--psychophysiology and personality. **Psychopharmacology (Berl)** **166**:139-145.
423. Raud S, Innos J, Abramov U, Reimets A, Koks S, Soosaar A, Matsui T, Vasar E (2005). Targeted invalidation of CCK2 receptor gene induces anxiolytic-like action in light-dark exploration, but not in fear conditioning test. **Psychopharmacology (Berl)** **181**:347-357.
424. Redrobe JP, Bourin M, Colombel MC, Baker GB (1998). Psychopharmacological profile of the selective serotonin reuptake inhibitor, paroxetine: implication of noradrenergic and serotonergic mechanisms. **J Psychopharmacol** **12**:348-355.
425. Rehfeld JF (1985). Neuronal cholecystokinin: one or multiple transmitters? **J Neurochem** **44**:1-10.
426. Reinhart GA (2004). Vitamin D analogs: novel therapeutic agents for cardiovascular disease? **Curr Opin Investig Drugs** **5**:947-951.
427. Renard CE, Dailly E, Nic Dhonnchadha BA, Hascoet M, Bourin M (2004). Is dopamine a limiting factor of the antidepressant-like effect in the mouse forced swimming test? **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** **28**:1255-1259.
428. Reul JM, de Kloet ER (1985). Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. **Endocrinology** **117**:2505-2511.
429. Reul JM, Holsboer F (2002). Corticotropin-releasing factor receptors 1 and 2 in anxiety and depression. **Curr Opin Pharmacol** **2**:23-33.
430. Reul JM, Stec I, Soder M, Holsboer F (1993). Chronic treatment of rats with the antidepressant amitriptyline attenuates the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system. **Endocrinology** **133**:312-320.
431. Rezayat M, Roohbakhsh A, Zarrindast MR, Massoudi R, Djahanguiri B (2005). Cholecystokinin and GABA interaction in the dorsal hippocampus of rats in the elevated plus-maze test of anxiety. **Physiol Behav** **84**:775-782.
432. Ripoll N, David DJ, Dailly E, Hascoet M, Bourin M (2003). Antidepressant-like effects in various mice strains in the tail suspension test. **Behav Brain Res** **143**:193-200.
433. Robert J, Clauser ER (2005). [Vasopressin receptors: structure/function relationships and signal transduction in target cells]. **J Soc Biol** **199**:351-359.
434. Rodgers RJ, Cole JC (1993). Influence of social isolation, gender, strain, and prior novelty on plus-maze behaviour in mice. **Physiol Behav** **54**:729-736.
435. Rodgers RJ, Dalvi A (1997). Anxiety, defence and the elevated plus-maze. **Neurosci Biobehav Rev** **21**:801-810.
436. Roedel A, Storch C, Holsboer F, Ohl F (2006). Effects of light or dark phase testing on behavioural and cognitive performance in DBA mice. **Lab Anim** **40**:371-381.
437. Rogers DC, Jones DN, Nelson PR, Jones CM, Quilter CA, Robinson TL, Hagan JJ (1999). Use of SHIRPA and discriminant analysis to characterise marked differences in the behavioural phenotype of six inbred mouse strains. **Behav Brain Res** **105**:207-217.
438. Room P, Groenewegen HJ (1986). Connections of the parahippocampal cortex. I. Cortical afferents. **J Comp Neurol** **251**:415-450.

439. Roots K, Kairane C, Salum T, Koks S, Karelson E, Vasar E, Zilmer M (2006). Very low levels of cholecystokinin octapeptide activate Na-pump in the cerebral cortex of CCK2 receptor-deficient mice. **Int J Dev Neurosci** **24**:395-400.
440. Roozendaal B, Okuda S, de Quervain DJ, McGaugh JL (2006a). Glucocorticoids interact with emotion-induced noradrenergic activation in influencing different memory functions. **Neuroscience** **138**:901-910.
441. Roozendaal B, Okuda S, Van der Zee EA, McGaugh JL (2006b). Glucocorticoid enhancement of memory requires arousal-induced noradrenergic activation in the basolateral amygdala. **Proc Natl Acad Sci U S A** **103**:6741-6746.
442. Rosen JB, Schulkin J (1998). From normal fear to pathological anxiety. **Psychol Rev** **105**:325-350.
443. Rotzinger S, Vaccarino FJ (2003). Cholecystokinin receptor subtypes: role in the modulation of anxiety-related and reward-related behaviours in animal models. **J Psychiatry Neurosci** **28**:171-181.
444. Sapolsky RM (2000). The possibility of neurotoxicity in the hippocampus in major depression: a primer on neuron death. **Biol Psychiatry** **48**:755-765.
445. Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU (2000). How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. **Endocr Rev** **21**:55-89.
446. Saporito MS, Brown ER, Hartpence KC, Wilcox HM, Vaught JL, Carswell S (1994). Chronic 1,25-dihydroxyvitamin D₃-mediated induction of nerve growth factor mRNA and protein in L929 fibroblasts and in adult rat brain. **Brain Res** **633**:189-196.
447. Sato T, Tanaka K, Teramoto T, Ohnishi Y, Hirate K, Irifune M, Nishikawa T (2004). Facilitative effect of a novel AVP fragment analog, NC-1900, on memory retention and recall in mice. **Peptides** **25**:1139-1146.
448. Schildkraut JJ (1995). The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. 1965. **J Neuropsychiatry Clin Neurosci** **7**:524-533.
449. Schmidt MV, Oitzl MS, Muller MB, Ohl F, Wurst W, Holsboer F, Levine S, de Kloet ER (2003). Regulation of the developing hypothalamic-pituitary-adrenal axis in corticotropin releasing hormone receptor 1-deficient mice. **Neuroscience** **119**:589-595.
450. Schneider B, Weber B, Frensch A, Stein J, Fritz J (2000). Vitamin D in schizophrenia, major depression and alcoholism. **J Neural Transm** **107**:839-842.
451. Schrader M, Muller KM, Becker-Andre M, Carlberg C (1994). Response element selectivity for heterodimerization of vitamin D receptors with retinoic acid and retinoid X receptors. **J Mol Endocrinol** **12**:327-339.
452. Schreiber H, Stolz-Born G, Pietrowsky R, Kornhuber HH, Fehm HL, Born J (1995). Improved event-related potential signs of selective attention after the administration of the cholecystokinin analog ceruletide in healthy persons. **Biol Psychiatry** **37**:702-712.
453. Schulkin J, Gold PW, McEwen BS (1998). Induction of corticotropin-releasing hormone gene expression by glucocorticoids: implication for understanding the states of fear and anxiety and allostatic load. **Psychoneuroendocrinology** **23**:219-243.
454. Scott LV, Dinan TG (1998). Vasopressin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function: implications for the pathophysiology of depression. **Life Sci** **62**:1985-1998.
455. Seale TW, Carney JM (1991). Genetic determinants of susceptibility to the rewarding and other behavioral actions of cocaine. **J Addict Dis** **10**:141-162.

456. Selmanoff MK, Maxson SC, Ginsburg BE (1976). Chromosomal determinants of intermale aggressive behavior in inbred mice. **Behav Genet** **6**:53-69.
457. Seong E, Seasholtz AF, Burmeister M (2002). Mouse models for psychiatric disorders. **Trends Genet** **18**:643-650.
458. Serradeil-Le GC, Wagnon J, III, Tonnerre B, Roux R, Garcia G, Griebel G, Aulombard A (2005). An overview of SSR149415, a selective nonpeptide vasopressin V(1b) receptor antagonist for the treatment of stress-related disorders. **CNS Drug Rev** **11**:53-68.
459. Shanks N, Anisman H (1988). Stressor-provoked behavioral changes in six strains of mice. **Behav Neurosci** **102**:894-905.
460. Sherman JE, Kalin NH (1988). ICV-CRH alters stress-induced freezing behavior without affecting pain sensitivity. **Pharmacol Biochem Behav** **30**:801-807.
461. Shlik J, Aluoja A, Vasar V, Vasar E, Podar T, Bradwejn J (1997). Effects of citalopram treatment on behavioural, cardiovascular and neuroendocrine response to cholecystokinin tetrapeptide challenge in patients with panic disorder. **J Psychiatry Neurosci** **22**:332-340.
462. Shlik J, Koszycki D, Bradwejn J (1998). Decrease in short-term memory function induced by CCK-4 in healthy volunteers. **Peptides** **19**:969-975.
463. Siegmund A, Langnaese K, Wotjak CT (2005). Differences in extinction of conditioned fear in C57BL/6 substrains are unrelated to expression of alpha-synuclein. **Behav Brain Res** **157**:291-298.
464. Singh L, Lewis AS, Field MJ, Hughes J, Woodruff GN (1991). Evidence for an involvement of the brain cholecystokinin B receptor in anxiety. **Proc Natl Acad Sci U S A** **88**:1130-1133.
465. Siniscalchi A, Rodi D, Cavallini S, Marino S, Ferraro L, Beani L, Bianchi C (2003). Effects of cholecystokinin tetrapeptide (CCK(4)) and of anxiolytic drugs on GABA outflow from the cerebral cortex of freely moving rats. **Neurochem Int** **42**:87-92.
466. Skutella T, Criswell H, Moy S, Probst JC, Breese GR, Jirikowski GF, Holsboer F (1994). Corticotropin-releasing hormone (CRH) antisense oligodeoxynucleotide induces anxiolytic effects in rat. **Neuroreport** **5**:2181-2185.
467. Slaap BR, den Boer JA (2001). The prediction of nonresponse to pharmacotherapy in panic disorder: a review. **Depress Anxiety** **14**:112-122.
468. Smith GP, Gibbs J, Jerome C, Pi-Sunyer FX, Kissileff HR, Thornton J (1981). The satiety effect of cholecystokinin: a progress report. **Peptides** **2 Suppl 2**:57-9.:57-59.
469. Sonnenberg J, Luine VN, Krey LC, Christakos S (1986). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 treatment results in increased choline acetyltransferase activity in specific brain nuclei. **Endocrinology** **118**:1433-1439.
470. Spiessl H, Hubner-Liebermann B, Hajak G (2006). [Depression, a widespread disease. Epidemiology, care situation, diagnosis, therapy and prevention]. **Dtsch Med Wochenschr** **131**:35-40.
471. Spont MR, Depue RA, Krauss SS (1991). Dimensional measurement of seasonal variation in mood and behavior. **Psychiatry Res** **39**:269-284.
472. Squire LR, Zola SM (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. **Proc Natl Acad Sci U S A** **93**:13515-13522.
473. Stahl SM (1998). Mechanism of action of serotonin selective reuptake inhibitors. Serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects. **J Affect Disord** **51**:215-235.

474. Steckler T, Holsboer F (1999). Corticotropin-releasing hormone receptor subtypes and emotion. **Biol Psychiatry** **46**:1480-1508.
475. Stenzel-Poore MP, Heinrichs SC, Rivest S, Koob GF, Vale WW (1994). Overproduction of corticotropin-releasing factor in transgenic mice: a genetic model of anxiogenic behavior. **J Neurosci** **14**:2579-2584.
476. Strachan J, Shepherd J (1998). Hyponatraemia associated with the use of selective serotonin re-uptake inhibitors. **Aust N Z J Psychiatry** **32**:295-298.
477. Stratakis CA, Chrousos GP (1995). Neuroendocrinology and pathophysiology of the stress system. **Ann N Y Acad Sci** **771**:1-18.:1-18.
478. Strohle A, Holsboer F, Rupprecht R (2000). Increased ACTH concentrations associated with cholecystokinin tetrapeptide-induced panic attacks in patients with panic disorder. **Neuropsychopharmacology** **22**:251-256.
479. Stumpf WE, Clark SA, O'Brien LP, Reid FA (1988). 1,25(OH)₂ vitamin D₃ sites of action in spinal cord and sensory ganglion. **Anat Embryol (Berl)** **177**:307-310.
480. Stumpf WE, Privette TH (1989b). Light, vitamin D and psychiatry. Role of 1,25 dihydroxyvitamin D₃ (solatriol) in etiology and therapy of seasonal affective disorder and other mental processes. **Psychopharmacology (Berl)** **97**:285-294.
481. Sullivan GM, Apergis J, Gorman JM, LeDoux JE (2003). Rodent doxapram model of panic: behavioral effects and c-Fos immunoreactivity in the amygdala. **Biol Psychiatry** **53**:863-870.
482. Sullivan GM, Coplan JD, Kent JM, Gorman JM (1999). The noradrenergic system in pathological anxiety: a focus on panic with relevance to generalized anxiety and phobias. **Biol Psychiatry** **46**:1205-1218.
483. Swanson LW, Simmons DM (1989). Differential steroid hormone and neural influences on peptide mRNA levels in CRH cells of the paraventricular nucleus: a hybridization histochemical study in the rat. **J Comp Neurol** **285**:413-435.
484. Swerdlow NR, Britton KT, Koob GF (1989). Potentiation of acoustic startle by corticotropin-releasing factor (CRF) and by fear are both reversed by alpha-helical CRF (9-41). **Neuropsychopharmacology** **2**:285-292.
485. Szabo C (1996). Physiological and pathophysiological roles of nitric oxide in the central nervous system. **Brain Res Bull** **41**:131-141.
486. Taghzouti K, Louilot A, Herman JP, Le Moal M, Simon H (1985). Alternation behavior, spatial discrimination, and reversal disturbances following 6-hydroxydopamine lesions in the nucleus accumbens of the rat. **Behav Neural Biol** **44**:354-363.
487. Tanigaki N, Manno K, Sugihara K, Miki N, Ichida S, Yoshida H (1987). [Specific inhibitory action of a novel antidepressant paroxetine on 5-HT uptake]. **Nippon Yakurigaku Zasshi** **89**:175-180.
488. Tecott LH (2003). The genes and brains of mice and men. **Am J Psychiatry** **160**:646-656.
489. 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. **Behav Brain Res** **80**:33-40.
490. Thoeringer CK, Sillaber I, Roedel A, Erhardt A, Mueller MB, Ohl F, Holsboer F, Keck ME (2007). The temporal dynamics of intrahippocampal corticosterone in response to stress-related stimuli with different emotional and physical load: An in vivo microdialysis study in C57BL/6 and DBA/2 inbred mice. **Psychoneuroendocrinology** **32**:19-28.

491. Thompson JC, Fender HR, Ramus NI, Villar HV, Rayford PL (1975). Cholecystokinin metabolism in man and dogs. **Ann Surg** **182**:496-504.
492. Thys-Jacobs S (2000). Micronutrients and the premenstrual syndrome: the case for calcium. **J Am Coll Nutr** **19**:220-227.
493. Tilders FJ, Schmidt ED, de Goeij DC (1993). Phenotypic plasticity of CRF neurons during stress. **Ann N Y Acad Sci** **697**:39-52.:39-52.
494. Timpl P, Spanagel R, Sillaber I, Kresse A, Reul JM, Stalla GK, Blanquet V, Steckler T, Holsboer F, Wurst W (1998b). Impaired stress response and reduced anxiety in mice lacking a functional corticotropin-releasing hormone receptor 1. **Nat Genet** **19**:162-166.
495. Tirassa P, Costa N (2007). CCK-8 induces NGF and BDNF synthesis and modulates TrkA and TrkB expression in the rat hippocampus and septum: Effects on kindling development. **Neurochem Int** **50**:130-138.
496. Tomlinson JW, Walker EA, Bujalska IJ, Draper N, Lavery GG, Cooper MS, Hewison M, Stewart PM (2004). 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1: a tissue-specific regulator of glucocorticoid response. **Endocr Rev** **25**:831-866.
497. Trechsel U, Bonjour JP, Fleisch H (1979). Regulation of the metabolism of 25-hydroxyvitamin D3 in primary cultures of chick kidney cells. **J Clin Invest** **64**:206-217.
498. Trullas R, Skolnick P (1993). Differences in fear motivated behaviors among inbred mouse strains. **Psychopharmacology (Berl)** **111**:323-331.
499. Tryfonidou MA, Holl MS, Oosterlaken-Dijksterhuis MA, Vastenburger M, van den Brom WE, Hazewinkel HA (2003). Growth hormone modulates cholecalciferol metabolism with moderate effects on intestinal mineral absorption and specific effects on bone formation in growing dogs raised on balanced food. **Domest Anim Endocrinol** **25**:155-174.
500. Tucker P, Adamson P, Miranda R, Jr., Scarborough A, Williams D, Groff J, McLean H (1997). Paroxetine increases heart rate variability in panic disorder. **J Clin Psychopharmacol** **17**:370-376.
501. Ueda N, Yoshimura R, Shinkai K, Sakata Y, Nakamura J (2003). Higher plasma 5-hydroxyindoleacetic acid levels are associated with SSRI-induced nausea. **Neuropsychobiology** **48**:31-34.
502. Uhr M, Holsboer F, Muller MB (2002). Penetration of endogenous steroid hormones corticosterone, cortisol, aldosterone and progesterone into the brain is enhanced in mice deficient for both mdr1a and mdr1b P-glycoproteins. **J Neuroendocrinol** **14**:753-759.
503. Valentino RJ, Foote SL, Aston-Jones G (1983). Corticotropin-releasing factor activates noradrenergic neurons of the locus coeruleus. **Brain Res** **270**:363-367.
504. Valentinuzzi VS, Buxton OM, Chang AM, Scarbrough K, Ferrari EA, Takahashi JS, Turek FW (2000). Locomotor response to an open field during C57BL/6J active and inactive phases: differences dependent on conditions of illumination. **Physiol Behav** **69**:269-275.
505. van Gaalen MM, Stenzel-Poore MP, Holsboer F, Steckler T (2002). Effects of transgenic overproduction of CRH on anxiety-like behaviour. **Eur J Neurosci** **15**:2007-2015.
506. van Hoof HJ, van der Mooren MJ, Swinkels LM, Sweep CG, Merkus JM, Benraad TJ (1999). Female sex hormone replacement therapy increases serum free 1,25-dihydroxyvitamin D3: a 1-year prospective study. **Clin Endocrinol (Oxf)** **50**:511-516.
507. van Megen HJ, Westenberg HG, den Boer JA, Slaap B, Scheepmakers A (1997). Effect of the selective serotonin reuptake inhibitor fluvoxamine on CCK-4 induced panic attacks. **Psychopharmacology (Berl)** **129**:357-364.

508. Vanderhaeghen JJ, Goldman S, Lotstra F, Van Reeth O, Deschepper C, Rossier J, Schiffmann S (1985). Co-existence of cholecystinin- or gastrin-like peptides with other peptides in the hypophysis and the hypothalamus. **Ann N Y Acad Sci** **448:334-44**.:334-344.
509. Vasar E, Harro J, Lang A, Soosaar A, Oopik T, Koks S, Sihver S, Volke V (1993). Anti-exploratory effect of N-methyl-D-aspartate in elevated plus-maze. Involvement of NMDA and CCK receptors. **Eur Neuropsychopharmacol** **3:63-73**.
510. Veenstra TD, Prufer K, Koenigsberger C, Brimijoin SW, Grande JP, Kumar R (1998). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 receptors in the central nervous system of the rat embryo. **Brain Res** **804:193-205**.
511. Vegesna V, O'Kelly J, Uskokovic M, Said J, Lemp N, Saitoh T, Ikezoe T, Binderup L, Koeffler HP (2002). Vitamin D3 analogs stimulate hair growth in nude mice. **Endocrinology** **143:4389-4396**.
512. Ventura R, Cabib S, Puglisi-Allegra S (2002). Genetic susceptibility of mesocortical dopamine to stress determines liability to inhibition of mesoaccumbens dopamine and to behavioral 'despair' in a mouse model of depression. **Neuroscience** **115:999-1007**.
513. Videbech P, Petersen TH (2001). [Depression, stress and brain function]. **Ugeskr Laeger** **%19;163:6568-6572**.
514. Vieth R, Fraser D (2002). Vitamin D insufficiency: no recommended dietary allowance exists for this nutrient. **CMAJ** **166:1541-1542**.
515. Vieth R, Kimball S, Hu A, Walfish PG (2004). Randomized comparison of the effects of the vitamin D3 adequate intake versus 100 mcg (4000 IU) per day on biochemical responses and the wellbeing of patients. **Nutr J** **3:8**.
516. Voikar V, Koks S, Vasar E, Rauvala H (2001). Strain and gender differences in the behavior of mouse lines commonly used in transgenic studies. **Physiol Behav** **72:271-281**.
517. Voikar V, Polus A, Vasar E, Rauvala H (2005). Long-term individual housing in C57BL/6J and DBA/2 mice: assessment of behavioral consequences. **Genes Brain Behav** **4:240-252**.
518. von Bardeleben U, Holsboer F (1988). Human corticotropin releasing hormone: clinical studies in patients with affective disorders, alcoholism, panic disorder and in normal controls. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** **12 Suppl:S165-87**.:S165-S187.
519. Wahlsten D, Metten P, Phillips TJ, Boehm SL, Burkhart-Kasch S, Dorow J, Doerksen S, Downing C, Fogarty J, Rodd-Henricks K, Hen R, McKinnon CS, Merrill CM, Nolte C, Schalomon M, Schlumbohm JP, Sibert JR, Wenger CD, Dudek BC, Crabbe JC (2003). Different data from different labs: lessons from studies of gene-environment interaction. **J Neurobiol** **54:283-311**.
520. Walbert T, Jirikowski GF, Prufer K (2001). Distribution of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor immunoreactivity in the limbic system of the rat. **Horm Metab Res** **33:525-531**.
521. Waldinger MD, van De PA, Pattij T, van Oorschot R, Coolen LM, Veening JG, Olivier B (2002). The selective serotonin re-uptake inhibitors fluvoxamine and paroxetine differ in sexual inhibitory effects after chronic treatment. **Psychopharmacology (Berl)** **160:283-289**.
522. Wang H, Wong PT, Spiess J, Zhu YZ (2005). Cholecystinin-2 (CCK2) receptor-mediated anxiety-like behaviors in rats. **Neurosci Biobehav Rev** **29:1361-1373**.
523. Wang JY, Wu JN, Cherng TL, Hoffer BJ, Chen HH, Borlongan CV, Wang Y (2001). Vitamin D(3) attenuates 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity in rats. **Brain Res** **904:67-75**.

524. Wang Y, Chiang YH, Su TP, Hayashi T, Morales M, Hoffer BJ, Lin SZ (2000). Vitamin D(3) attenuates cortical infarction induced by middle cerebral arterial ligation in rats. **Neuropharmacology** **39**:873-880.
525. Wank SA (1995). Cholecystokinin receptors. **Am J Physiol** **269**:G628-G646.
526. Wehner JM, Sleight S, Upchurch M (1990). Hippocampal protein kinase C activity is reduced in poor spatial learners. **Brain Res** **523**:181-187.
527. Weinberger SB, Koob GF, Martinez JL, Jr. (1992). Differences in one-way active avoidance learning in mice of three inbred strains. **Behav Genet** **22**:177-188.
528. Weisberg P, Scanlon KS, Li R, Cogswell ME (2004). Nutritional rickets among children in the United States: review of cases reported between 1986 and 2003. **Am J Clin Nutr** **80**:1697S-1705S.
529. Welt T, Engelmann M, Renner U, Erhardt A, Muller MB, Landgraf R, Holsboer F, Keck ME (2006). Temazepam triggers the release of vasopressin into the rat hypothalamic paraventricular nucleus: novel insight into benzodiazepine action on hypothalamic-pituitary-adrenocortical system activity during stress. **Neuropsychopharmacology** **31**:2573-2579.
530. Weninger SC, Dunn AJ, Muglia LJ, Dikkes P, Miczek KA, Swiergiel AH, Berridge CW, Majzoub JA (1999). Stress-induced behaviors require the corticotropin-releasing hormone (CRH) receptor, but not CRH. **Proc Natl Acad Sci U S A** **96**:8283-8288.
531. White FJ, Wang RY (1984). Interactions of cholecystokinin octapeptide and dopamine on nucleus accumbens neurons. **Brain Res** **300**:161-166.
532. Wietrzyk J, Pelczynska M, Madej J, Dzimira S, Kusnierczyk H, Kutner A, Szelejewski W, Opoliski A (2004). Toxicity and antineoplastic effect of (24R)-1,24-dihydroxyvitamin D3 (PRI-2191). **Steroids** **69**:629-635.
534. Wilkins CH, Sheline YI, Roe CM, Birge SJ, Morris JC (2006). Vitamin D deficiency is associated with low mood and worse cognitive performance in older adults. **Am J Geriatr Psychiatry** **14**:1032-1040.
535. Williams JA, Gryson KA, McChesney DJ (1986). Brain CCK receptors: species differences in regional distribution and selectivity. **Peptides** **7**:293-296.
536. Willner P (1997). Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. **Psychopharmacology (Berl)** **134**:319-329.
537. Willner P, Muscat R, Papp M (1992). Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. **Neurosci Biobehav Rev** **16**:525-534.
538. Wimer RE, Wimer CC, Vaughn JE, Barber RP, Balvanz BA, Chernow CR (1976). The genetic organization of neuron number in Ammon's horns of house mice. **Brain Res** **118**:219-243.
539. Winslow JT, Insel TR (1990). Serotonergic and catecholaminergic reuptake inhibitors have opposite effects on the ultrasonic isolation calls of rat pups. **Neuropsychopharmacology** **3**:51-59.
540. Winter H, Irle E (2004). Hippocampal volume in adult burn patients with and without posttraumatic stress disorder. **Am J Psychiatry** **161**:2194-2200.
541. Wong ML, Licinio J (2001). Research and treatment approaches to depression. **Nat Rev Neurosci** **2**:343-351.
542. Wotjak CT, Ganster J, Kohl G, Holsboer F, Landgraf R, Engelmann M (1998). Dissociated central and peripheral release of vasopressin, but not oxytocin, in response to repeated swim

- stress: new insights into the secretory capacities of peptidergic neurons. **Neuroscience** **85**:1209-1222.
543. Wotjak CT, Naruo T, Muraoka S, Simchen R, Landgraf R, Engelmann M (2001). Forced swimming stimulates the expression of vasopressin and oxytocin in magnocellular neurons of the rat hypothalamic paraventricular nucleus. **Eur J Neurosci** **13**:2273-2281.
 544. Yamamoto T, Shibata S, Shimazoe T, Iwasaki K, Ohno M, Minamoto Y, Furuya Y, Miyamoto K, Watanabe S, Ueki S, . (1989). [Behavioral pharmacological properties of the novel antidepressant paroxetine, a selective 5-HT uptake inhibitor]. **Nippon Yakurigaku Zasshi** **94**:189-206.
 545. Yang YM, Chung JM, Rhim H (2007). Cholecystokinin-8S-induced intracellular calcium signaling in acutely isolated periaqueductal gray neurons of the rat. **Biol Pharm Bull** **30**:297-302.
 546. Yildiz F, Kars A, Cengiz M, Yildiz O, Akyurek S, Selek U, Ozyigit G, Atahan IL (2005). 1,25-Dihydroxy vitamin D3: can it be an effective therapeutic option for aggressive fibromatosis. **Med Hypotheses** **64**:333-336.
 547. Young EA, Abelson JL, Cameron OG (2004). Effect of comorbid anxiety disorders on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to a social stressor in major depression. **Biol Psychiatry** **56**:113-120.
 548. Young EA, Haskett RF, Murphy-Weinberg V, Watson SJ, Akil H (1991). Loss of glucocorticoid fast feedback in depression. **Arch Gen Psychiatry** **48**:693-699.
 549. Yousef G, Ryan WJ, Lambert T, Pitt B, Kellett J (1998). A preliminary report: a new scale to identify the pseudodementia syndrome. **Int J Geriatr Psychiatry** **13**:389-399.
 550. Yukihiro S, Posner GH, Guggino SE (1994). Vitamin D3 analogs stimulate calcium currents in rat osteosarcoma cells. **J Biol Chem** **269**:23889-23893.
 551. Zakon HH (1998). The effects of steroid hormones on electrical activity of excitable cells. **Trends Neurosci** **21**:202-207.
 552. Zanello JM, Netto CF, Guimaraes FS, Zangrossi H, Jr. (2004). Systemic and intra-dorsal periaqueductal gray injections of cholecystokinin sulfated octapeptide (CCK-8s) induce a panic-like response in rats submitted to the elevated T-maze. **Peptides** **25**:1935-1941.
 553. Zehnder D, Bland R, Williams MC, McNinch RW, Howie AJ, Stewart PM, Hewison M (2001). Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin d(3)-1 alpha-hydroxylase. **J Clin Endocrinol Metab** **86**:888-894.
 554. Zehnder D, Hewison M (1999). The renal function of 25-hydroxyvitamin D3-1[alpha]-hydroxylase. **Molecular and Cellular Endocrinology** **151**:213-220.
 555. Zobel AW, Nickel T, Kunzel HE, 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. **J Psychiatr Res** **34**:171-181.
 556. Zobel AW, Yassouridis A, Frieboes RM, Holsboer F (1999). Prediction of medium-term outcome by cortisol response to the combined dexamethasone-CRH test in patients with remitted depression. **Am J Psychiatry** **156**:949-951.
 557. Zofkova I, Kancheva RL (1994). Lack of stimulatory effect of 1,25(OH)₂ vitamin D3 on beta-endorphin and cortisol secretion. **J Endocrinol Invest** **17**:693-695.
 558. Zwanzger P, Eser D, Aicher S, Schule C, Baghai TC, Padberg F, Ella R, Moller HJ, Rupprecht R (2003). Effects of alprazolam on cholecystokinin-tetrapeptide-induced panic and

hypothalamic-pituitary-adrenal-axis activity: a placebo-controlled study.
Neuropsychopharmacology **28**:979-984.

559. Zwanzger P, Eser D, Volkel N, Baghai TC, Moller HJ, Rupprecht R, Padberg F (2007). Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) on panic attacks induced by cholecystinin-tetrapeptide (CCK-4). **Int J Neuropsychopharmacol** **10**:285-289.

10 Danksagung

Die vorliegende Dissertation wurde am Max-Planck-Institut (MPI) für Psychiatrie in München in der Arbeitsgruppe von PD Dr Martin Ekkehard Keck durchgeführt. Ich bedanke mich bei Dr Keck für die Bereitschaft, die Betreuung und die Bewertung dieser Arbeit zu übernehmen sowie für einige von ihm organisierte angenehme Zusammenkünfte mit anderen Mitarbeitern des Instituts.

Ich danke Dr Christoph Thoeringer und Dr Angelika Erhardt, die mir bei Experimenten und bei Anfertigung dieser Arbeit mit ihren Fachkenntnissen beigestanden haben und Dr Angelika Rödel, die mich in die Kunst des Experimentierens mit Mäusen eingeführt hatte, für viele lehrreiche und angenehme Stunden. Ich danke Daniela Harbich für ihre Hilfe bei den Experimenten; Dr Marianne Müller für die Aufnahme in ihre Arbeitsgruppe für die Zeit der schriftlichen Fertigstellung der Arbeit; Dr Matthias Schmidt, Dr Karin Ganea und Dr Vera Sterlemann für ihre kollegiale Unterstützung. Dr Tobias Welt danke ich für seine Ratschläge bei der Fertigstellung der Endversion der Arbeit. Für die Hilfe bei statistischen Fragen danke ich insbesondere Dr Yassouridis, Dr Markus Ising und Dr Anja Siegmund sowie Amar Ahmad. Dr Manfred Uhr danke ich für die Möglichkeit der Calcium- und Paroxetinbestimmung in seinem Labor.

Ich bedanke mich außerdem bei Dr Shaun Seaman, Dr Daria Salyakina, Dr Martin Kohli, Barbara Meier und Alex Amador für ihre bereichernde Gesellschaft im MPI.

Ich möchte besonders dem Max-Planck-Institut unter der Leitung von Prof Dr Dr Florian Holsboer für die Möglichkeit danken, eine wissenschaftliche Arbeit unter optimalen Rahmenbedingungen durchführen zu können.

Mein herzlicher Dank gilt meinen Freunden und meiner Familie, vor allem meinen Eltern, die mich moralisch und finanziell bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützten.

11 Lebenslauf von Pauline Naumann

Persönliche Daten:

Adresse: Ghersburgstr.18 App.138
83043 Bad Aibling
Tel. 0176/64254397 oder 08061/2840111
E-Mail: paulinenaumann77@yahoo.de

Geburtsdatum und -ort: 16.Oktober 1977; Kustanai, Kasachstan

Schulbildung:

1984-1991 Grundschule und Gesamtschule in Kustanai, Kasachstan
1991-1994 Gesamtschule in Kaliningrad, Russland
1994-1998 Hans-Leinberger-Gymnasium, Landshut, Deutschland

Berufsbildung:

1999-2001 Vorklinisches Studium an der Ludwig-Maximilian-Universität München
2001-2004 Klinisches Studium an der Ludwig-Maximilian-Universität München
25.04.2006 3.Staatsexamen

Famulaturen:

Chirurgie und Innere Medizin (Klinikum Landshut-Achdorf)
Pädiatrie (Kinderarztpraxis in München)
Allgemeinmedizin (Praxis in München)
Psychiatrie (LMU-Universitätsklinik Nussbaumstr, München)

Praktisches Jahr:

April-Mai 2005: Chirurgie, Klinikum Innenstadt, München
Juni-Juli 2005: Chirurgie, Royal Lancaster Infirmary, England
August-November 2005: Psychiatrie, Schlosstalklinik Winterthur, Schweiz
Dezember 2005-März 2006: Innere Medizin, Unispital Zürich

Berufliche Tätigkeit:

ab 15.08.2006 Assistenzärztin in der Neurologischen Klinik Bad Aibling