

Aus dem
Institut für Pharmakologie und Toxikologie
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Funktionen des postsynaptischen Serotonin_{1A}-Rezeptors:
Wirkungen von Antidepressiva**

INAUGURAL-DISSERTATION
Zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Julia Rothe
Tierärztin aus Saarbrücken

Berlin 2008

Journal-Nr.: 3272

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. L. Brunnberg
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. H. Fink
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. N.-C. Juhr
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. R. Morgenstern

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

animal behavior, antidepressants, depression, sex differentiation, physical activity, serotonin, stress, swimming, 5HT1A receptor (MeSH), transgenic mice (MeSH)

Tag der Promotion: 18.03.2009

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86664-574-5

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2008

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© **mensch und buch** verlag 2009

choriner str. 85 - 10119 berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

*Meinen Eltern
und Kiki*

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|-------------|--|-----------|
| I. | Abkürzungsverzeichnis | 7 |
| 1. | EINLEITUNG | 9 |
| 2. | LITERATURÜBERSICHT | 11 |
| 2.1. | Depression | 11 |
| 2.1.1. | Einleitung | 11 |
| 2.1.2. | Epidemiologie | 13 |
| 2.1.2.1. | Zusammenhang zwischen Stress und Depression | 13 |
| 2.1.3. | Ätiologie | 14 |
| 2.1.4. | Antidepressiva | 15 |
| 2.2. | Tierexperimentelle Untersuchungen in der Depressionsforschung | 18 |
| 2.2.1. | Gültigkeitskriterien für Tiermodelle | 18 |
| 2.2.2. | Tierexperimentelle Untersuchungen zur Depression | 18 |
| 2.2.2.1. | Verhaltenstests der Depression | 19 |
| 2.2.2.1.1. | Auf sozialem Stress beruhend | 19 |
| 2.2.2.1.2. | Auf Umgebungsstress beruhend | 19 |
| 2.2.2.2. | Depressionsmodelle | 20 |
| 2.2.2.2.1. | Läsion | 20 |
| 2.2.2.2.2. | Anhedonie | 20 |
| 2.2.2.2.3. | Genetische Ansätze | 21 |
| 2.3. | Serotonin | 24 |
| 2.3.1. | Vorkommen und Funktionen | 24 |
| 2.3.2. | Metabolismus | 24 |
| 2.3.3. | Lokalisation und Innervationsgebiete serotonerger Neuronen | 25 |
| 2.3.4. | Serotonin-Rezeptoren | 26 |
| 2.3.4.1. | Serotonin _{1A} -Rezeptor | 26 |
| 2.4. | Fragestellungen: Die Rolle des Serotonin_{1A}-Rezeptors in der Depression | 29 |
| 2.4.1. | Serotonin _{1A} -Rezeptor und depressionsähnliches Verhalten im Tierversuch | 29 |
| 2.4.2. | Serotonin _{1A} -Rezeptor und Stress | 31 |
| 2.4.3. | Serotonin _{1A} -Rezeptor und Geschlechterdifferenzen | 32 |

| | | |
|-------------|--|----|
| 3. | EIGENE UNTERSUCHUNGEN | 33 |
| 3.1. | Material | 33 |
| 3.1.1. | Versuchstiere | 33 |
| 3.1.2. | Substanzen | 33 |
| 3.2. | Methoden | 34 |
| 3.2.1. | Versuchsdurchführung | 34 |
| 3.2.2. | Versuche zum depressionsähnlichen Verhalten | 35 |
| 3.2.2.1. | Porsolt-Schwimmtest und Open-field Test | 35 |
| 3.2.2.2. | Sucrose-preference Test | 38 |
| 3.2.3. | Radiotelemetrie | 39 |
| 3.2.4. | Rezeptorautoradiographie | 41 |
| 3.2.5. | Versuchsauswertung und Statistik | 42 |
| 3.3. | Ergebnisse | 44 |
| 3.3.1. | Verhaltenspharmakolog. Untersuchungen zur Wirkung von Antidepressiva ... | 44 |
| 3.3.1.1. | Porsolt-Schwimmtest und Open-field Test | 44 |
| 3.3.1.1.0. | Vorversuche | 44 |
| 3.3.1.1.1. | Nachauswertungen 8-OH-DPAT | 46 |
| 3.3.1.1.2. | Buspiron | 49 |
| 3.3.1.1.3. | Citalopram | 52 |
| 3.3.1.1.4. | Reboxetin | 54 |
| 3.3.1.1.5. | Tianeptin | 56 |
| 3.3.1.2. | Sucrose-preference Test | 58 |
| 3.3.2. | Untersuchungen zur Auswirkung von Stress | 61 |
| 3.3.2.1. | Radiotelemetrie | 61 |
| 3.3.2.1.1. | Wochenwerte | 61 |
| 3.3.2.1.2. | Stressreize | 63 |
| 3.3.3. | Geschlechterdifferenzen in der Serotonin _{1A} -Rezeptorexpression | 68 |
| 3.3.3.1. | Rezeptorautoradiographie | 68 |
| 4. | DISKUSSION | 72 |
| 4.1. | Serotonin_{1A}-Rezeptor und depressionsähnliches Verhalten im Tierversuch | 72 |
| 4.1.0. | Unbehandelte Tiere | 73 |
| 4.1.1. | 8-OH-DPAT | 76 |
| 4.1.2. | Buspiron | 78 |
| 4.1.3. | Citalopram | 79 |
| 4.1.4. | Reboxetin | 81 |
| 4.1.5. | Tianeptin | 83 |

| | | |
|-------------|--|-----|
| 4.2. | Serotonin_{1A}-Rezeptor und Stress | 85 |
| 4.3. | Serotonin_{1A}-Rezeptor und Geschlechterdifferenzen | 88 |
| 4.4. | Schlussbetrachtungen und Ausblicke | 91 |
| 5. | ZUSAMMENFASSUNG | 92 |
| 6. | SUMMARY | 94 |
| 7. | ANHANG | 96 |
| 7.1. | Übersicht Immobilitätszeiten und Strecken | 96 |
| 7.2. | Übersicht Verbräuche | 99 |
| 7.3. | Versuchspläne mit Tierzahlen | 100 |
| 8. | LITERATURVERZEICHNIS | 102 |
| II. | Danksagung | 118 |
| III. | Eidesstattliche Erklärung | 119 |

I. Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------------|---|
| ^3H | Tritium |
| 5-HIAA | engl. für 5-Hydroxyindolessigsäure |
| 5-HT | 5-Hydroxytryptamin, Serotonin |
| 8-OH-DPAT | 8-Hydroxy-2-(Di-N-Propylamino)Tetralin |
| B_{max} | maximale Bindungskapazität |
| cAMP | engl. für zyklisches Adenosinmonophosphat |
| CaCl_2 | Kalziumchlorid |
| C-Terminus | Carboxyl-Terminus |
| DNA | engl. für Desoxyribonukleinsäure |
| CRH | engl. für <i>Corticotropin-releasing</i> Hormon |
| EMA | Europäische Arzneimittelagentur |
| G-Protein | Guaninnukleotid bindendes Protein |
| HPA | engl. für Hypothalamus-Hypophyse-Nebennierenrinde |
| ICD | engl. für Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme |
| i.p. | intraperitoneal |
| IP_3 | Inositoltriphosphat |
| KO | <i>knock out</i> |
| mRNA | engl. für <i>messenger</i> Ribonukleinsäure |
| NaCl | Natriumchlorid |
| N-Terminus | Amino-Terminus |
| PET | Positronenemissionstomographie |
| s.c. | subcutan |
| SNRI | engl. für Selektive Noradrenalin Wiederaufnahmehemmer |
| SSRE | engl. für Selektive Serotonin Wiederaufnahmeverstärker |
| SSRI | engl. für Selektive Serotonin Wiederaufnahmehemmer |

| | |
|----------|--|
| TZA | Trizyklische Antidepressiva |
| Tris-HCl | Tris-(Hydroxymethyl)Aminomethan-Chlorwasserstoff |
| TX | transgene Tiere |
| WHO | engl. für Weltgesundheitsorganisation |
| WT | Wildtypiere |
| ZNS | Zentrales Nervensystem |

1. EINLEITUNG

Depression ist eine der häufigsten Volkskrankheiten. Depression ist keine bloße Traurigkeit oder Verstimmung, sie kann lebensgefährlich sein und zum Suizid führen. Betroffene kommen aus allen sozialen Schichten und Berufen, sind jeden Alters und Geschlecht. Depressionen sind behandelbar, bis zu 70% der Patienten können erfolgreich therapiert werden.

Ziel der Depressionsforschung ist es, die Heilungschancen zu verbessern, den Wirkungseintritt von Antidepressiva zu beschleunigen, neuartige Antidepressiva zu entwickeln und die Zahl von non-respondern (Patienten, bei denen durch etablierte Therapien keine Verbesserung der Symptome erzielt werden kann) zu minimieren.

Die Pathophysiologie der Depression ist sehr komplex. Das serotonerge System steht seit Anfang der fünfziger Jahre im Interessensfokus der Forscher. Die zufällige Entdeckung der antidepressiven Wirkung des Tuberkulostatikums Iproniazid gab den Anstoß zur Entwicklung der Monoaminmangel-Hypothese (Schildkraut, 1965), die in der Imbalance von Neurotransmittern die Ursache für Depressionen sah.

Jüngere Befunde aus Untersuchungen an depressiven Patienten zeigen Veränderungen in der Dichte und Bindungskapazität von Serotonin (5-HT)-Rezeptoren. Einem Rezeptorsubtyp wird dabei vermehrt Aufmerksamkeit gewidmet: dem 5-HT_{1A}-Rezeptor. Eine Besonderheit dieses Rezeptors ist, dass er in zwei Lokalisationen vorkommt. Er wird als somatodendritischer Autorezeptor in der Raphe exprimiert und postsynaptisch als Heterorezeptor in den Projektionsgebieten serotonerger Neurone.

In der Grundlagenforschung werden tierexperimentelle Versuche durchgeführt um Funktionen von Rezeptoren oder Transportern in vivo nachvollziehen zu können. Verschiedene Läsionsversuche, bei denen das serotonerge Transmissionssystem ausgeschaltet wurde, und die Generierung von 5-HT_{1A}-Rezeptor-Knock out (KO)-Tieren haben die Beteiligung dieses Rezeptors am depressionsähnlichen Verhalten der Maus mehrfach belegt.

An unserem Institut existiert eine Mauslinie, die den 5-HT_{1A}-Rezeptor in Gehirnregionen überexprimiert, in denen er postsynaptisch vorkommt: den äußeren Schichten des Cortex und im Hippocampus. Diese Tiere ermöglichen es, die Rolle des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors detailliert zu untersuchen.

Ziel dieser Arbeit ist es, drei Fragestellungen an diesen Tieren zu untersuchen.

1. Zur Beleuchtung der Rolle des 5-HT_{1A}-Rezeptors im depressionsähnlichen Verhalten der Maus und der Bedeutung des Verhältnis von somatodendritischen zu postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptoren wird das Verhalten der transgenen Mäuse mit dem von Wildtypieren in zwei Verhaltenstests, dem Porsolt-Schwimmtest und dem Open-field Test, und einem Tiermodell der Depression, dem Sucrose-preference Test, getestet und verglichen. Dazu werden die Tiere mit vier Antidepressiva, die unterschiedlich am serotonergen Transmissionssystem angreifen und einer Referenzsubstanz behandelt.

2. Stress kann beim Menschen Depressionen hervorrufen (Chrousos und Gold, 1992). In Tierexperimenten können Veränderungen in der Stressachse ein depressionsähnliches Verhalten verursachen. Die Aufzeichnung der Stressreaktion auf definierte Stressreize in Form einer Zunahme der Körpertemperatur soll klären, ob es einen Unterschied zwischen den Genotypen gibt. Es wird ein möglicher Zusammenhang zwischen Stressresistenz und dem postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptor diskutiert werden.

3. Frauen erkranken deutlich häufiger an Depressionen als Männer, als Ursache dafür werden unterschiedliche Rezeptorverteilungsmuster im Gehirn diskutiert. In einer geschlechtervergleichenden Rezeptorautoradiographie soll bei beiden Genotypen das Verteilungsmuster des 5-HT_{1A}-Rezeptors untersucht werden und ein möglicher Zusammenhang zum depressionsähnlichen Verhalten der Maus gefunden werden.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Depression

2.1.1. Einleitung

Das lateinische Wort „*deprimere*“ (erniedrigen, herunterdrücken) ist der Ursprung des Begriffes Depression, welcher im Volksmund häufig synonym mit Schwermut und Melancholie verwendet wird.

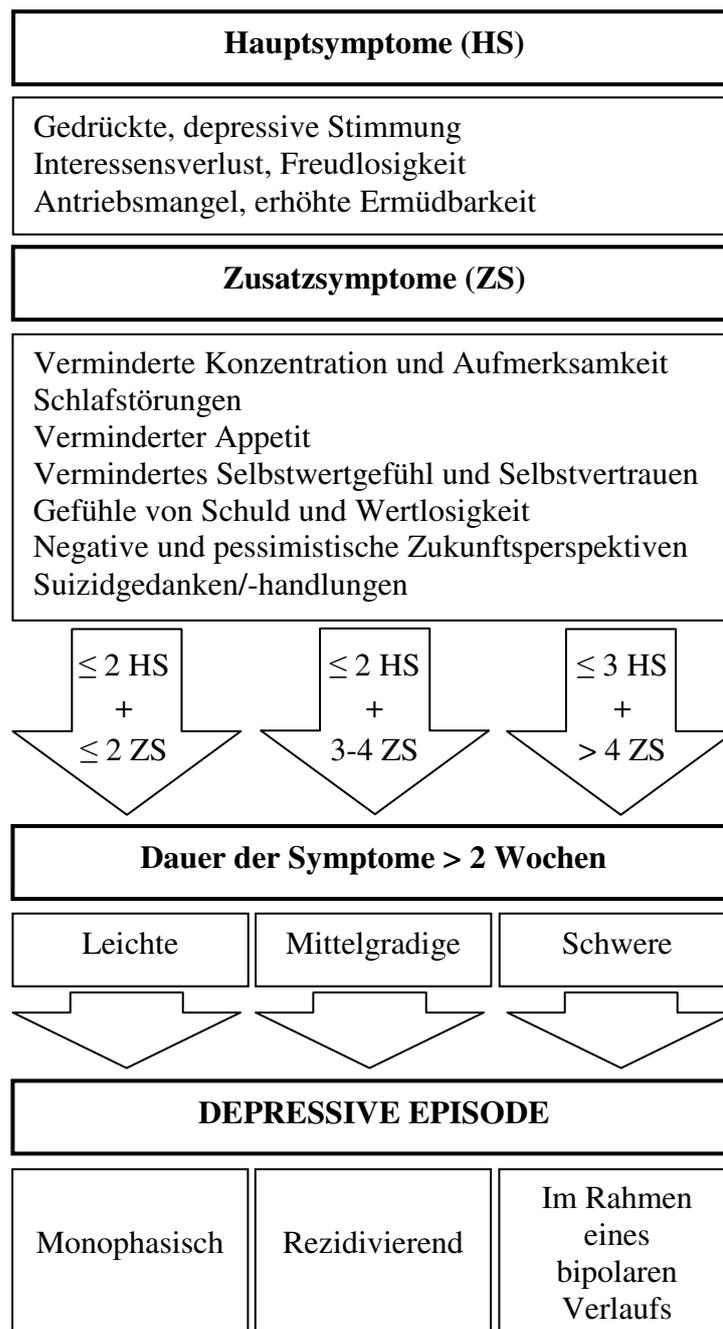
Depressionen sind eine Ausprägungsform der sogenannten affektiven Störungen, die zu den psychischen Erkrankungen gehören. Affektive Störungen zeichnen sich durch eine Verschiebung der Grundstimmung aus, die entweder in eine gesteigerte, erregte Stimmung (Manie) oder in eine gedrückte, gehemmte Stimmung (Depression) erfolgen kann. Diese Verschiebung kann in nur eine oder abwechselnd in beide Richtungen erfolgen (bipolare affektive Störung).

Die genaue Klassifizierung der affektiven Störungen ist in der ICD (Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme) festgelegt. Sie wurde 1948 von der WHO (World Health Organization) für alle Krankheiten eingeführt und wird seit 1986 vom DIMDI (Deutsches Institut für medizinische Dokumentation und Information) ins Deutsche übertragen. Ziel der ICD ist eine objektive Diagnosestellung, bei der mögliche Entstehungsursachen nicht miteinbezogen werden. Die Krankheiten werden streng nach Symptomatik, Schweregrad und zeitlichem Verlauf eingeteilt. Dies ist von besonderer Bedeutung bei psychischen Erkrankungen wie der Depression, da in diesem Gebiet mehrere Klassifikationssysteme nebeneinander benutzt wurden, was leicht zu Unklarheiten, insbesondere bei Überweisungen, führte. Die heute gültige Version ist die ICD-10 (WHO, 2005). Die beta-Version der ICD-11 wird 2010 veröffentlicht (WHO, 2007). Das fünfte Kapitel der ICD-10 befasst sich mit den psychischen Erkrankungen, und davon die Punkte 30 bis 39 mit den affektiven Störungen.

Eine Depression ist zu diagnostizieren, wenn die Hauptsymptome wie eine gedrückte Stimmung, ein verminderter Antrieb und die Unfähigkeit, Freude und Interesse zu empfinden, vorliegen. Zusätzlich können häufig Konzentrationsstörungen, ein vermindertes Selbstwertgefühl, vermehrte Schuldgefühle, Schlaf- und Appetitstörungen bei depressiven Patienten beobachtet werden. In sehr schweren Fällen bestehen Halluzinationen, Stupor und eine hohe Suizidgefahr. Selten sind alle Symptome gleichzeitig gegeben. Um eine depressive Episode zu diagnostizieren, muss eine organische Ätiologie ausgeschlossen worden sein und das Krankheitsbild muss über zwei Wochen bestanden haben. Je nach Ausprägungsgrad und

Anzahl der vorliegenden Symptome ist ein Schweregrad festzulegen. Es wird zwischen einzelnen depressiven Episoden, einer rezidivierenden depressiven Störung und einer Phase im Rahmen einer bipolaren Störung unterschieden. Abbildung 1 fasst die Diagnosefindung zusammen.

Abbildung 1: Fließschema modifiziert nach ICD-10 (WHO, 2005) zur Diagnosefindung: Symptome, Schweregrad und zeitlicher Verlauf.



2.1.2. Epidemiologie

Die Prävalenz psychischer Erkrankungen ist sehr hoch. Von 870 Millionen Europäern leiden geschätzte 100 Millionen an Depressionen und Angstzuständen, weit mehr als die Hälfte davon sind Frauen. Neuropsychiatrische Erkrankungen bilden somit den zweitgrößten Anteil der Krankheitslast nach Herz-Kreislaufkrankungen. Suizid war 1998, nach dem Verkehrsunfall, die zweit häufigste Todesursache unter jungen Erwachsenen bis 35 Jahren (World Health Organization. Regional Office for Europe, 2005). Die Depression allein stellt 6,2% des DALY-Verlustes (Disease Adjusted Life Years), welches als Maß zur Einschätzung der Bedeutung einer Krankheit auf die Gesellschaft benutzt wird. Diese Zahl ist wahrscheinlich noch viel zu tief angesetzt (Falagas et al., 2007).

Es ist nicht möglich genaue Zahlen zu Ersterkrankungsalter und Dauer einer depressiven Episode zu bestimmen. Gehäuft tritt die Depression zwischen 18 und 25 Jahren zum ersten Mal auf, kann aber Menschen jeden Alters befallen. Über 60% der Patienten erkranken nach einer Episode erneut, bei ca. 20% entsteht ein chronischer Verlauf. Insgesamt ist eine Zunahme der Krankheitshäufigkeit zu verzeichnen (Compton et al., 2006).

2.1.2.1. Zusammenhang zwischen Stress und Depression

Die Lebensbedingungen haben sich in den letzten fünfzig Jahren sehr verändert. Die Zahl der an Erkrankungen an Depression ist in dieser Zeit stark gestiegen. Die Bedeutung der Familie hat sich gewandelt und immer mehr Menschen leben allein in Singlehaushalten (Bundeszentrale für politische Bildung, 2005). Zudem hat sich das soziale Umfeld stark verändert. Die Anforderungen am Arbeitsplatz sind groß, auch die Angst diesen zu verlieren. Allein in den Jahren 1991 bis 2004 ist die Zahl der Arbeitslosen in Deutschland von 2,6 Millionen auf 4,4 Millionen Menschen gestiegen (Bundesagentur für Arbeit, 2004).

Es ist bekannt, dass chronischer Stress beim Menschen Depressionen hervorrufen kann (Chrousos und Gold, 1992). Veränderungen im Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden (HPA)-System sind konsistente biologische Befunde bei depressiven Erkrankungen. Häufig wird eine vermehrte Sekretion der Stresshormone Corticotropin-releasing Hormon (CRH), Adrenocorticotropes Hormon (ACTH) und Cortisol gefunden (Linkowski et al., 1987; Nemeroff et al., 1984).

Stress wirkt sich negativ auf die Neurogenese im adulten Hippocampus aus (Bremner, 2006). Eine verminderte Neurogenese ist auch bei Depressiven beobachtet worden (Gould et al.,

1997; Paizanis et al., 2007; Pittenger und Duman, 2008). Auch das Volumen des Hippocampus ist nach einer Depression vermindert, wobei diese Veränderung von der Dauer der Erkrankung und nicht dem Alter des Patienten abhängig ist (Sheline et al., 2003; Sheline et al., 1999; Sheline et al., 1996). Interessanterweise sind diese Veränderungen teilweise nach Aussetzen des Stressors oder nach chronischer Gabe von Antidepressiva wieder reversibel (Lucassen et al., 2004; Vermetten et al., 2003).

Jacobson und Sapolsky (1991) beschreiben einen negativen feed back-Mechanismus des Hippocampus auf die HPA-Achse, wobei eine hohe hippocampale Aktivität eine verminderte Aktivität des HPA-Systems bedingt. Trotz der bisherigen Befunde gilt ein ätiologischer Zusammenhang zwischen verminderter Neurogenese, Stress und Depression noch nicht als gesichert (Paizanis et al., 2007). Nach dem heutigen Stand der Forschung sind die morphologischen Veränderungen die Folge und nicht die Ursache von Stress und Depression.

2.1.3. Ätiologie

Die Erkenntnisse zur Ätiologie der Depression wachsen stetig, sie ist jedoch noch nicht vollständig aufgeklärt. Die Depression ist eine multifaktorielle Erkrankung, bei der genetische Faktoren und Umweltfaktoren interagieren (Sullivan et al., 2000). Anhand von Zwillings- und Familienstudien konnte eine Heritabilität von 30-40% bestimmt werden. Die individuelle Disposition in Kombination mit traumatischen Ereignissen wie Scheidung, Verlust der Eltern oder anderer Familienmitglieder, Arbeitslosigkeit oder Krankheiten wie Angststörungen und Schlaganfälle, ist als möglicher Auslöser für eine Depression anzusehen.

Erste Beobachtungen, die den Forschungsschwerpunkt auf die Monoamine lenkten, waren Berichte über Stimmungsaufhellungen von Patienten, die mit dem Tuberkulostatikum Iproniazid behandelt wurden. Diese Stimmungsaufhellungen konnten auf das Medikament zurückgeführt werden. Anfang der fünfziger Jahre konnte der Wirkungsmechanismus aufgeklärt werden. Der Wirkstoff hemmt das Enzym Monoaminoxidase (siehe Kapitel 2.3.2.), wodurch mehr Monoamine im synaptischen Spalt zur Verfügung stehen (siehe Übersichtsarbeit von Elhwuegi, 2004). 1965 wurde von Schildkraut (1965) die Monoaminmangel-Hypothese formuliert, welche die Dysregulation und/oder die Beeinträchtigung biogener Amine als die Ursache von depressiven Erkrankungen beschreibt.

Zuerst stand Noradrenalin im Focus weiterführender Untersuchungen und wurde als Auslöser für die Entstehung von Depressionen angesehen (Axelrod et al., 1961). Ende der Sechziger stellte der Nobelpreisträger Carlsson seine Ergebnisse zu Serotonin (5-HT) als Target für die

Wirkung der bis dato bekannten Antidepressiva vor (Carlsson et al., 1968; Lapin und Oxenkrug, 1969) und verlagerte so den Forschungsschwerpunkt.

Klinische Studien haben gezeigt, dass der Spiegel des 5-HT-Vorläufers Tryptophan im Plasma depressiver Patienten vermindert ist (Coppen et al., 1973). Der 5-HT-Metabolit, 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA), ist im Liquor von Suizidpatienten vermindert, was auf einen reduzierten 5-HT-Umsatz hinweist (Asberg et al., 1976).

Neuere Ergebnisse weisen auf eine deutlich komplexere Ätiologie hin. Parsey et al. (2006) stellten mittels einer Positronenemissionstomographie (PET) fest, dass Patienten mit einer unbehandelten Depression eine höhere 5-HT_{1A}-Rezeptordichte aufweisen als Kontrollpersonen bzw. Patienten, die mit Antidepressiva behandelt wurden. Bei Suizidpatienten konnte unter anderem eine erhöhte Dichte von 5-HT_{1A}-Rezeptoren in der Raphe (Stockmeier, 2003) und von α_2 -Adreorezeptoren vor allem im Hypothalamus nachgewiesen werden (Meana et al., 1992).

Drevets et al. (1999) führte eine post mortem PET-Studie mit Suizidopfern und Depressiven, die an einem natürlichen Tod verschieden waren durch und konnte bei diesen ein verringertes Rezeptorbindungspotential im mesotemporalen Cortex und in der Raphe nachweisen. In der in vivo PET-Studie von Hirvonen et al. (2007) konnten die von Drevets beschriebenen Veränderungen bei Patienten mit einer unbehandelten Depression bestätigt werden. Hirvonen beschreibt ein vermindertes 5-HT_{1A}-Rezeptorbindungspotential im gesamten Gehirn von nicht therapierten depressiven Patienten.

Eine weitere Studie (Lemondé et al., 2004) zeigt, dass der C(-1019)G 5-HT_{1A}-Gen Polymorphismus zu einer erhöhten Expression von 5-HT_{1A}-Rezeptoren in den Raphekernen führt. Diesen Polymorphismus findet man bei depressiven Patienten doppelt so häufig wie bei nicht depressiven.

Für die Entstehung einer Depression sind nach heutigem Wissensstand mehr als Neurotransmitterimbancen verantwortlich. Die pathofunktionelle Bedeutung der Rezeptorveränderungen ist noch nicht vollständig beleuchtet, die Ergebnisse geben noch kein einheitliches Bild.

2.1.4. Antidepressiva

Nach der Aufklärung des Wirkungsmechanismus von Iproniazid wurde gezielt nach Substanzen gesucht, die entsprechend der Monoaminmangel-Hypothese der Depression den Neurotransmittergehalt im synaptischen Spalt erhöhen.

Große klinische Bedeutung erlangten die *trizyklischen Antidepressiva (TZA)*, deren Name sich von ihrer Struktur ableitet. Sie zeichnen sich durch eine gute klinisch antidepressive Wirkung aus, haben aber bedingt durch ihre unspezifische Bindung an Adreno-, 5-HT-, Dopamin-, Acetylcholin- und Histaminrezeptoren sehr viele unerwünschte Wirkungen (u.a. Seh-, Kreislauf- und Herzrhythmusstörungen). Heute werden sie meist nur noch bei schweren Formen der Depression eingesetzt. Bekannte Vertreter der TZA sind Amitriptylin und Clomipramin.

Die Weiterentwicklung der TZA brachte Anfang der neunziger Jahre die *Selektiven Serotonin Wiederaufnahmehemmer (SSRI)* hervor. Paroxetin, Fluoxetin und Citalopram sind z. Z. die gebräuchlichsten Medikamente in der Therapie der Depression. Citalopram ist die wichtigste Substanz dieser Gruppe und zugleich das Medikament mit der höchsten Selektivität für den 5-HT-Transporter. Durch dessen Hemmung wird der Gehalt von 5-HT im synaptischen Spalt erhöht. Die SSRI zeichnen sich durch eine starke antriebsteigernde und besonders gute Wirkung bei Frauen aus (Antonijevic, 2006). Das Nebenwirkungsprofil (v.a. gastrointestinale Beschwerden) ist deutlich günstiger als bei den TZA (Pollock, 2001).

Die *Selektiven Noradrenalin Wiederaufnahmehemmer (SNRI)* bewirken kurzfristig die Erhöhung der NoradrenalinKonzentration im synaptischen Spalt. Das SNRI, welches die höchste Selektivität aufweist, ist Reboxetin (Wong et al., 2000).

Die *dualen Antidepressiva* hemmen die Wiederaufnahme von zwei Monoaminen, entweder Noradrenalin und Dopamin (Bupropion) oder Noradrenalin und 5-HT (Duloxetin, Venlafaxin). In klinischen Studien wird, neben einem schnelleren Wirkungseintritt, von einer ausgeprägten antidepressiven Wirkung und einer Linderung somatischer Begleitsymptome (Schmerzen) sowie von einer sehr guten Verträglichkeit berichtet.

Ein vollkommen neuartiges, *atypisches Antidepressivum* stellt Tianeptin dar. Es verstärkt die Wiederaufnahme von Serotonin (*Selektive Serotonin Wiederaufnahmeverstärker (SSRE)*) und wirkt sowohl in der Klinik als auch im Tiermodell antidepressiv. Es widerspricht damit dem bisherigen Verständnis der Wirkmechanismen von Antidepressiva, dem die Erhöhung des Transmittergehaltes im synaptischen Spalt zu Grunde lag (McEwen und Olie, 2005).

Azapirone sind *5-HT_{1A}-Rezeptorpartialagonisten*. Buspiron ist ein wichtiger Vertreter der Azapirone und wurde in der Klinik als nicht sedierendes Anxiolytikum mit eher mäßigem Erfolg eingesetzt. Da es in Europa als Antidepressivum in der Monotherapie enttäuschte, wird es hier mit anderen Antidepressiva kombiniert um so einen früheren Wirkungseintritt der letzteren zu erzielen. Gerade wenn die Komorbidität mit einer generalisierten Angststörung vorliegt, scheint sich diese Augmentationstherapie zu bewähren (Harvey und Balon, 1995).

Die schlechte Wirkung und Akzeptanz als Monotherapeutikum konnte auf eine ungünstige Pharmakokinetik zurückgeführt werden (zu kurz andauernde hohe Plasmapeaks). Durch die Entwicklung von extended-release Formulierungen konnten zu hohe Blutkonzentrationen vermieden werden und die Compliance wurde durch nur einmal tägliche Einnahme verbessert. Die so erzielte antidepressive Wirkung ist der von SSRI gleichzusetzen. In den USA hat sich die Monotherapie mit Bupropion mittlerweile etabliert (Sakr und Andheria, 2001).

Ungefähr zwei Drittel der an Depression erkrankten Menschen sprechen auf eine Therapie mit den etablierten Antidepressiva an. Die Zahl von non-respondern ist jedoch noch sehr hoch, weswegen ständig nach neuen antidepressiv wirkenden Substanzen gesucht wird (Rubio et al., 2003; Thase, 2008).

Eine solche neuartige Substanz ist Agomelatin. Agomelatin ist ein *Melatoninrezeptoragonist* und ein kompetitiver Antagonist am 5-HT_{2C}-Rezeptor. Agomelatin soll eine Wirksamkeit zeigen, die mit derzeitigen Standardtherapien mit SSRI und SNRI vergleichbar ist, bei gleichzeitig besserer Verträglichkeit (geringere sexuelle Dysfunktion und Gewichtszunahme der Patienten). Es soll die gestörte Schlafarchitektur depressiver Patienten normalisieren. Ein Zulassungsantrag wurde 2006 abgelehnt, nachdem der Ausschuss für Humanarzneimittel der Europäischen Arzneimittelagentur (EMA) aus den eingereichten Studienunterlagen keinen ausreichenden antidepressiven Effekt erkennen konnte (EMA, 2006), jedoch führt die Herstellerfirma weitere Studien zur Bestätigung der antidepressiven Wirkung durch. Der US-Zulassungsantrag ist 2008 eingereicht worden (Novartis, 2006).

Eine Dysregulation des HPA-Systems wird sehr häufig bei Depressiven beschrieben (siehe 2.1.2.1.). CRH-Rezeptorantagonisten und Steroidsynthesehemmer (z. B. das Fungizid Ketokonazol) zeigen in Studien an Tieren und Menschen antidepressive Wirkungen, die mit den klinisch etablierten Substanzen vergleichbar sind. Unerwünschte Wirkungen wie erhöhte Leberenzymwerte und Studien mit zu kleinen Fallzahlen sind Ursachen dafür, dass solche Substanzen noch nicht in der Therapie der Depression eingesetzt werden (siehe Übersichtsarbeit Rupprecht et al., 2004).

2.2. Tierexperimentelle Untersuchungen in der Depressionsforschung

2.2.1. Gültigkeitskriterien für Tiermodelle

Tiermodelle sind hilfreich und noch unverzichtbar, um neurobiologische Prozesse psychischer Erkrankungen zu studieren.

Ein aussagekräftiges Tiermodell soll drei Gültigkeitskriterien erfüllen: *Face*, *construct* und *predictive validity* (McArthur und Borsini, 2006).

Die Augenscheinvalidität oder offensichtliche Validität (*face validity*) soll als Maß der Analogie des klinischen Erscheinungsbildes zwischen Mensch und Tier dienen. Hierbei ist die phänomenologische Similarität von entscheidender Bedeutung, d.h. die Ähnlichkeit der zu beobachtenden Symptome.

Die Ähnlichkeit der Ursache wird in der Konstruktgültigkeit eines Tiermodells (*construct validity*) bewertet, d.h. dass die im Tiermodell beobachtete Verhaltensauffälligkeit durch eine ähnliche Ursache bedingt wird wie die Erkrankung beim Menschen.

Letztendlich besitzt ein Modell Vorhersagevalidität (*predictive validity*), wenn Ergebnisse zur Wirksamkeit neuer Pharmaka bei der Übertragung von Resultaten eines Screenings aus dem Tiermodell in die Klinik bestätigt werden.

Das ideale Tiermodell erfüllt diese drei Gültigkeitskriterien. Besonders bei Syndromen wie der Depression, die keine nosologische Einheit bilden und denen eine multifaktorielle Ätiopathogenese zugrunde liegt, ist es nicht möglich, ein exaktes Abbild zu modellieren. Meistens ist hier die *construct validity* das limitierende Gültigkeitskriterium. Viele Symptome der Depression wie Stimmungen, kreisende Gedanken oder Todeswünsche sind im Tiermodell nicht nachvollziehbar.

2.2.2. Tierexperimentelle Untersuchungen zur Depression

Im Folgenden soll ein kurzer Auszug über gängige tierexperimentelle Untersuchungsmethoden zur Depressionsforschung dargestellt werden.

In *Verhaltenstests* der Depression werden die Veränderungen der Reaktionen von Tieren auf bestimmte (meist akute) Stressreize beobachtet, nachdem diesen die zu untersuchende Substanz (meist mit antidepressiver Wirkung) appliziert wurde. Diese Effekte unter Substanzeinfluss werden mit dem Verhalten von Kontrolltieren verglichen.

Wird in den Verhaltenstests der Depression ein Verhalten als Reaktion auf einen äußeren Reiz bewertet, so wird in den *Depressionsmodellen* versucht, einen depressionsähnlichen Zustand beim Tier zu induzieren (von innen) und den resultierenden Phänotyp zu untersuchen.

2.2.2.1. Verhaltenstests der Depression

2.2.2.1.1. Auf sozialem Stress beruhend

Das *Maternal-separation Model* war eines der ersten Modelle, das den Zusammenhang von sozialem Stress und Depression untersuchte. Die Jungtiere werden von ihren Müttern getrennt, worauf sie zuerst mit Protest reagieren und nach einer Weile resignieren („*despair*“). Dieses Verhalten wird dahingehend interpretiert, dass das Tier aufgibt, einen Ausweg aus der Situation, in der es sich gerade befindet, zu suchen. Es wird als depressionsähnlich angesehen und ist durch Antidepressiva teils reversibel (Lehr, 1989). Die Studie von Boccia (2007) beschreibt eine Induktion depressionsähnlichen Verhaltens bei den Muttertieren, wenn sie von ihren Jungtieren getrennt werden. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass es nicht nur beim Jungtier zu endokrinen Disbalancen (insbesondere CRH-Erhöhung und verminderte Glucocorticoidgehalte (Francis und Meaney, 1999)) kommt, sondern ähnliche Veränderungen auch beim Muttertier erzeugt werden. Millstein und Holmes (2007) hingegen können in ihrer Studie an verschiedenen Mausstämmen keinen gesicherten Zusammenhang zwischen sozialem Stress durch Separation und Isolation von Mutter- und Jungtier in den ersten Lebenstagen und depressionsähnlichem Verhalten beschreiben.

Ein weiterer Ansatz, um Auswirkungen von sozialem Stress auf das Verhalten zu untersuchen, ist das *Resident-intruder Paradigm*. Zu einer einzeln gehaltenen Ratte (*Resident*) wird eine weitere Ratte (*Intruder*) gesetzt. Die Resident-Ratte exploriert die Intruder-Ratte, die wiederum Aggressions- und/oder Fluchtverhalten zeigt. Die akute Gabe von Antidepressiva reduziert die Aggressionen der Tiere und erhöht die Anzahl der Fluchtversuche, was als Antriebssteigerung bewertet werden kann (Mitchell, 2005).

2.2.2.1.2. Auf Umgebungsstress beruhend

Ende der siebziger Jahre entwickelte Porsolt einen Test, der heute der Standardversuch zum Screening neuer Substanzen mit potentieller antidepressiver Wirkung ist (Cryan und Holmes, 2005; Porsolt et al., 1978). Im *Porsolt-Schwimmtest* oder *Forced-swim Test* werden Ratten oder Mäuse in einem mit Wasser gefüllten Zylinder schwimmen gelassen. Die Tiere

versuchen dieser Situation zu entkommen. Nach einer Weile geben sie auf und verharren unbeweglich (immobil) im Wasser. Das Verhalten wird als „*despair*“ bezeichnet. Die Zeit, in der die Tiere nicht aktiv schwimmen, sich nur treiben lassen, wird gemessen (Immobilitätszeit). Sie wird durch die Wirkung von Antidepressiva typischerweise verkürzt (siehe 3.2.2.1). Nach dem gleichen Prinzip funktioniert der 1985 von Stéru vorgestellte *Tail-suspension Test* (Cryan et al., 2005a; Steru et al., 1985). Die Tiere werden an ihren Schwänzen aufgehängt. Auch hier resignieren die Mäuse nach anfänglichen Ausbruchsversuchen („*despair*“) und bleiben schließlich regungslos hängen. Interessanterweise führt schon die einmalige akute Gabe der meisten Antidepressiva in diesen Tests zu einer Verkürzung der Immobilitätszeit. Dies macht sie, im Gegensatz zu den anderen Tests und Modellen, die eine chronische Behandlung mit den Substanzen erfordern, so wichtig für die Forschung. Mit wenig Zeitaufwand können Wirkstoffe mit potentieller antidepressiver Wirkung getestet werden.

2.2.2.2. Depressionsmodelle

2.2.2.2.1. Läsion

Ein Model mit einem vollkommen anderem Ansatz sich dem Wesen der Depression zu nähern ist die Ektomie des Bulbus olfactorius (*olfaktorische Bulbektomie*) der Ratte (Cairncross et al., 1977). Den Versuchstieren werden beide Riechkolben chirurgisch vollständig entfernt. Die Operation induziert das „*olfactory bulbectomy syndrome*“. Die bulbektomierten Jungtiere zeichnen sich durch eine erhöhte Stressanfälligkeit, gestörten Schlafrhythmus, Gewichtsverlust, Hyperaktivität und ein anhedonisches Verhalten (siehe 2.2.2.2.2.) aus. Dieser Phänotyp wird auf die fehlende Pheromonwirkung auf das Limbische System zurückgeführt, die sich in degenerativer Veränderungen vor allem in Hippocampus und Amygdala manifestiert (Shepherd, 2006). Das erzeugte Verhaltensbild ähnelt einer menschlichen Depression und ist durch die chronische Gabe von Antidepressiva annähernd normalisierbar.

2.2.2.2.2. Anhedonie

Stress und Depression korrelieren eng (siehe 2.1.2.1.). Im *Cronic-mild-stress Model* werden die Versuchstiere abwechselnd leichten Stressreizen (verändertes Lichtregime, Wasser- und

Futterentzug, Einzelhaltung) über einen längeren Zeitraum ausgesetzt (Willner, 1997). Nach einer Zeitspanne von mindestens 4 Wochen zeigen sie einen gestörten Schlafrhythmus, gestörtes Sexualverhalten und/oder Gewichtsschwankungen, eine Symptomatik, die ähnlich bei depressiven Patienten beobachtet wird. Als Maß der Anhedonie (Verlust der Fähigkeit Freude zu empfinden) wird der Konsum einer Zuckerlösung herangezogen, der bei gestressten, anhedonischen Tieren deutlich unter dem nicht gestresster Kontrolltiere liegt. Unter gleichzeitiger Gabe von Antidepressiva widerstehen die Tiere den oben beschriebenen Stressreizen und trinken gleich viel Sucroslösung wie die Kontrolltiere (Papp et al., 1991). Anhedonische Tiere zeigen auch im Porsolt-Schwimmtest ein depressionsähnliches Verhalten (Strekalova et al., 2004).

2.2.2.2.3. Genetische Ansätze

Eine weitere Möglichkeit, geeignete Tiermodelle für die Depressionsforschung zu entwickeln, ist die Zucht von Tieren mit veränderten Rezeptorzahlen und -verteilungsmustern oder die Weiterzucht von Tieren mit bestimmten Verhaltensmerkmalen. Aus solchen Zuchtversuchen sind die *Flinders sensitive* Ratten hervorgegangen. Sie zeichnen sich durch eine Hypersensibilität der cholinergen Rezeptoren auf das organische Phosphat Diisopropyl-Fluorophosphat (DFP) aus, welches irreversibel an Acetylcholinrezeptoren bindet. Die Tiere zeigen, analog zum klinischen Bild einer Depression, eine Hypomotilität, ein verringertes Körpergewicht, Defizite im Lernverhalten und eine erhöhte Immobilitätszeit im Porsolt-Schwimmtest. Die Verhaltensveränderungen normalisieren sich nach chronischer Gabe von Antidepressiva (Overstreet, 1993). Die *Swim-low-active*, resp. *Swim-high-active* Ratten sind ein anderes Beispiel für Zuchtversuche. Diese zwei Linien entstanden durch die Zucht nach ihrem Schwimmverhalten selektierter Sprague-Dawley Ratten. Die *Swim-low-active* Ratten zeigen im Porsolt-Schwimmtest eine verlängerte Immobilitätszeit, die durch Antidepressiva wieder auf die Dauer „normaler“, nicht auf besondere Merkmale gezüchtete Sprague-Dawley Ratten verkürzt wird (Weiss et al., 1998).

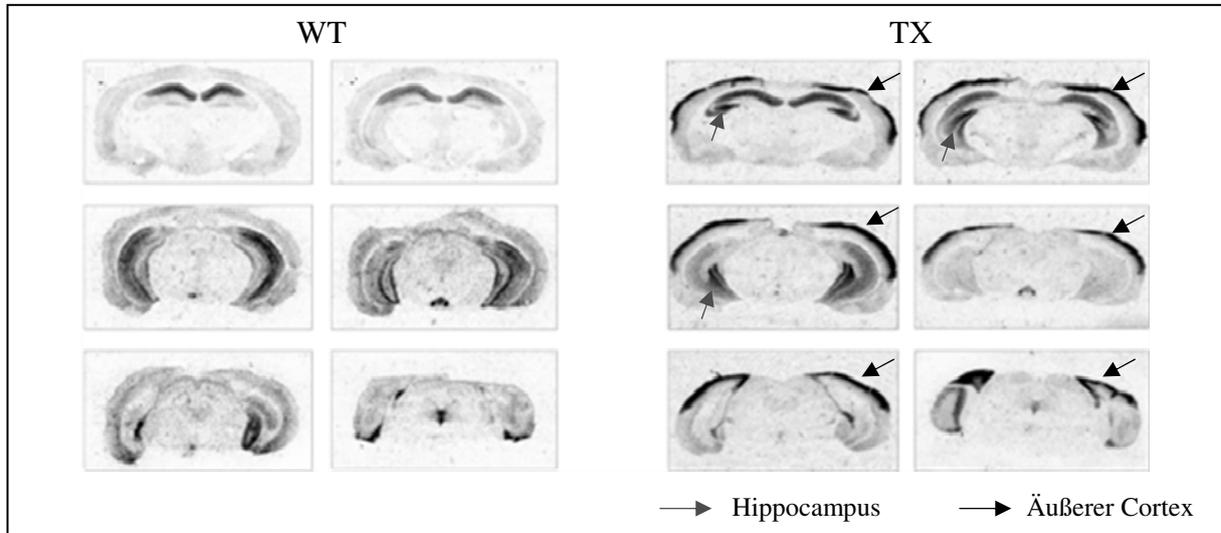
Eine weitere Herangehensweise sind gezielte Eingriffe ins Genom, um so die spezifische Bedeutung von Rezeptoren, Transportern oder anderen Proteinen zu beleuchten. Die gebräuchlichste Methode ist der Knock out (KO). 1998 gelang es drei unabhängigen Arbeitsgruppen (Heisler et al., 1998; Parks et al., 1998; Ramboz et al., 1998) Mäuse mit einem *5-HT_{1A}-Rezeptor-Knock out* (KO) herzustellen. Diese Tiere bestätigen die Bedeutung des 5-HT_{1A}-Rezeptors für die Entstehung von Depressionen zumindest im Tiermodell. Sie

zeigen im *Tail-suspension Test* ein Verhalten, das dem nach der Gabe von Antidepressiva ähnlich ist, ein gesteigertes Angstverhalten und keine Hypothermie nach Applikation des 5-HT_{1A}-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT. Ein Nachteil von KO-Modellen im Allgemeinen ist, dass mit ausgeprägten Kompensationsmechanismen zu rechnen ist. So beschreibt Ramboz (1998) eine Hochregulierung der 5-HT_{1B}-Autorezeptoren bei den 5-HT_{1A}-Rezeptor-KO-Mäusen. Eine Besonderheit des 5-HT_{1A}-Rezeptors ist, dass er in zwei Lokalisationen exprimiert wird: prä- und postsynaptisch (siehe 2.3.4.). Da von dem KO beide Rezeptorlokalisierungen betroffen sind, konnten mit Hilfe dieses Mausmodells keine Erkenntnisse zu den jeweils spezifischen Funktionen des 5-HT_{1A}-Rezeptors je nach Lokalisation gewonnen werden.

Der komplementäre Ansatz zu einem KO ist die Überexpression. Um die mögliche Rolle des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors (siehe 2.4.) in der Ätiopathogenese der Depression isoliert betrachten zu können, wurde eine Mauslinie von der Arbeitsgruppe von Prof. Theuring, Charité, generiert, die eine *Überexpression* des 5-HT_{1A}-Rezeptors in den äußeren Cortexschichten und im Hippocampus aufweist (siehe Abbildung 2) (Bert et al., 2006; Kusserow et al., 2004). In diesen Bereichen des Gehirns wird der 5-HT_{1A}-Rezeptor als postsynaptischer Heterorezeptor exprimiert (siehe 2.3.4.1.). Da von der Überexpression nur eine Lokalisation des 5-HT_{1A}-Rezeptors betroffen ist, bieten diese Tiere die Möglichkeit, die Funktionen des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors „isoliert“ zu untersuchen. Transgene Tiere beider Geschlechter zeigen ein unverändertes Angstverhalten und eine leicht verminderte motorische Aktivität. Männliche transgene Mäuse weisen eine niedrigere Körpertemperatur auf als Wildtyptiere. Interessanterweise reagieren die transgenen Tiere im Gegensatz zu den KO-Tieren extrem sensitiv auf die Rezeptoraktivierung mit dem 5-HT_{1A}-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT (8-Hydroxy-2-(Di-N-Propylamino)Tetralin). Schon relativ niedrige Dosen lösen bei den transgenen Tieren eine Hypothermie aus. Die motorische Aktivität der transgenen Tiere ist schon nach Gabe geringer Dosen stark reduziert und ein Serotonin-Syndrom wird früh ausgelöst (Bert et al., 2006). Alle Ergebnisse bisheriger pharmakologischer Untersuchungen zeigen, dass über den überexprimierten Rezeptor entsprechende biologische Effekte ausgelöst werden können.

Da die Überexpression in Gehirnarealen lokalisiert ist, die in engem Zusammenhang zur Depression stehen, sind diese Tiere ein viel versprechendes Modell, um die Rolle des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors im depressionsähnlichen Verhalten der Maus und die Wirkungen von Antidepressiva zu untersuchen.

Abbildung 2: Rezeptorautoradiographie mit [³H]-OH-DPAT (Bert et al., 2006).



Dargestellt sind beispielhaft 6 coronale Gehirnschnitte von einem männlichen WildtypTier (WT) und einem transgenen Tier (TX). Die 5-HT_{1A}-Rezeptorüberexpression ist mit Pfeilen markiert.

2.3. Serotonin

Vor über fünfzig Jahren wurde Serotonin unabhängig und fast gleichzeitig von zwei Forschergruppen, Erspamer/Asero und Rapport, entdeckt (siehe Übersichtsarbeit von Whitaker-Azmitia, 1999). Serotonin oder 5-Hydroxytryptamin (5-HT) ist ein Indolamin und gehört mit Dopamin, Noradrenalin und Adrenalin zur Gruppe der Monoamine.

2.3.1. Vorkommen und Funktionen

Im Säugetier befindet sich 90% des Serotoningehaltes in den enterochromaffinen Zellen des Darmes, die restlichen 10% verteilen sich auf Thrombozyten, Mastzellen und das Gehirn. Serotonin ist an einer Vielzahl von ZNS-Funktionen beteiligt. Dazu gehören die neuronale Entwicklung, Thermoregulation, Schmerzempfinden, die Regulation der Motorik und des Schlaf-Wachrhythmus, des Appetit- und Sexualverhaltens, sowie Aggressionen, Angstverhalten und Emotionen (siehe Übersichtsarbeit von Barnes und Sharp, 1999). Bei Störungen dieses komplexen Systems können sehr unterschiedliche Krankheitsbilder entstehen, darunter die affektiven Störungen.

2.3.2. Metabolismus

5-HT wird im Zytosol des Perikaryons aus der essentiellen Aminosäure L-Tryptophan synthetisiert, die von der geschwindigkeitbestimmenden Tryptophanhydroxylase 2 zu 5-Hydroxytryptophan hydroxiliert wird. Dies wird wiederum durch eine Decarboxylase in 5-Hydroxytryptamin umgewandelt.

Nach seiner Synthese wird Serotonin zu den Axonendigungen der Präsynapse transportiert und zusammen mit spezifischen Transporterproteinen bis zur Freisetzung in Vesikeln gespeichert. In diese Vesikel gelangt es über die vesikulären Monoamintransporter. Kommt es zur exozytotischen Freisetzung des Serotonins in den synaptischen Spalt, bindet es sowohl an somatodendritischen, als auch an postsynaptischen Rezeptoren. Durch die Stimulation somatodendritischer 5-HT_{1A}-Rezeptoren kann Serotonin über seinen selektiven Plasmatransporter zurück in die serotonerge Nervenendigung aufgenommen werden und dadurch die Transmission beendet werden. In der Zelle folgt dann entweder die Wiederaufnahme in die Vesikel oder der enzymatische Abbau.

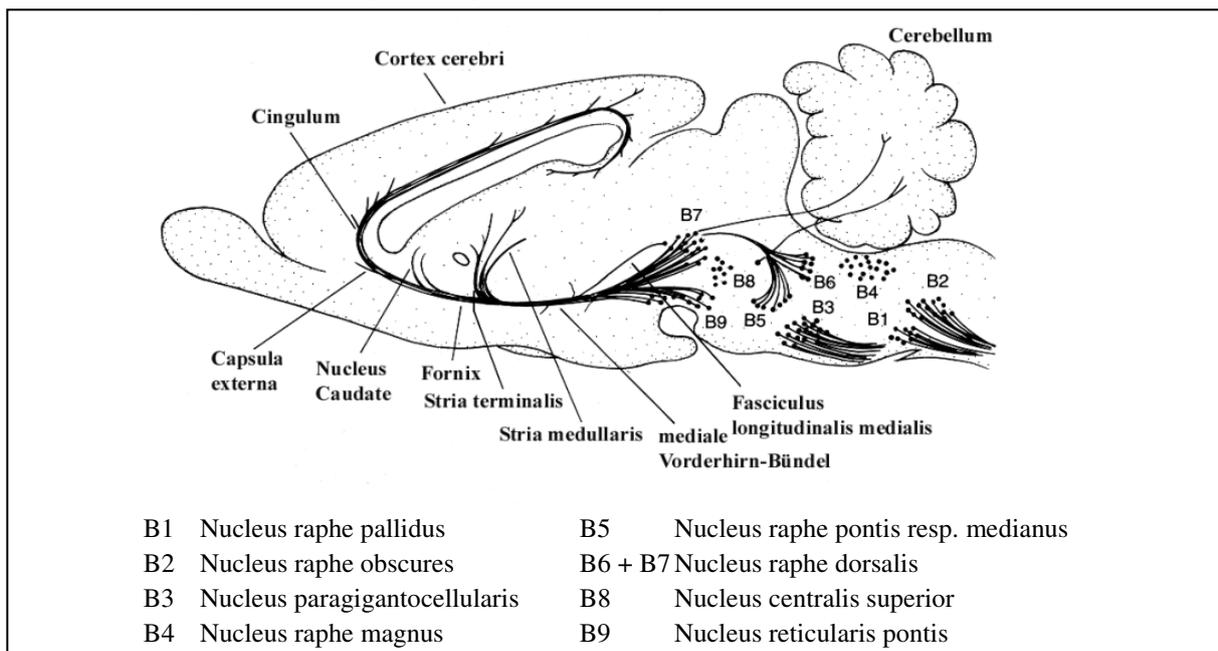
Das für den Abbau von Serotonin zuständige Enzym ist die mitochondriale Monoaminoxidase A. Dies baut das 5-Hydroxytryptamin zu 5-Hydroxyindolacetaldehyd ab,

welches durch eine Aldehyddehydrogenase überwiegend in 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA) oder durch eine Alkoholdehydrogenase zu 5-Hydroxythryptophol metabolisiert wird. Beide Endprodukte werden über die Niere ausgeschieden (Löffler, 2007).

2.3.3. Lokalisation und Innervationsgebiete serotonerger Neuronen

Im Hirnstamm entwickeln sich embryonal zwei separate Zellhaufen (*Cluster*) zu den serotonergen Neuronen, rostral direkt caudal der Scheitelbeuge, caudal in der Medulla oblongata. Dahlström und Fuxe (1964) unterschieden innerhalb der beiden Gruppen verschiedene Untergruppen von Neuronenansammlungen, B1-9 benannt. Die Neuronen der rostralen Raphekerne (B4-9) projizieren aufsteigend ins gesamte Vorderhirn und in das Kleinhirn, die caudale Gruppe (B1-3) innerviert vor allem die Medulla oblongata und das Rückenmark (Abbildung 3). Die beiden wichtigsten Kerne der rostralen Gruppe sind die Nuclei raphe dorsalis et medianus (B6/7 und B5). Der dorsale Raphekern innerviert hauptsächlich Striatum, Frontalkortex, laterales Septum und den medialen Hippocampus. Hypothalamus, medianes Septum, dorsaler und ventraler Hippocampus werden dagegen vorzugsweise von dem Nucleus raphe medianus versorgt (Hopf, 2003).

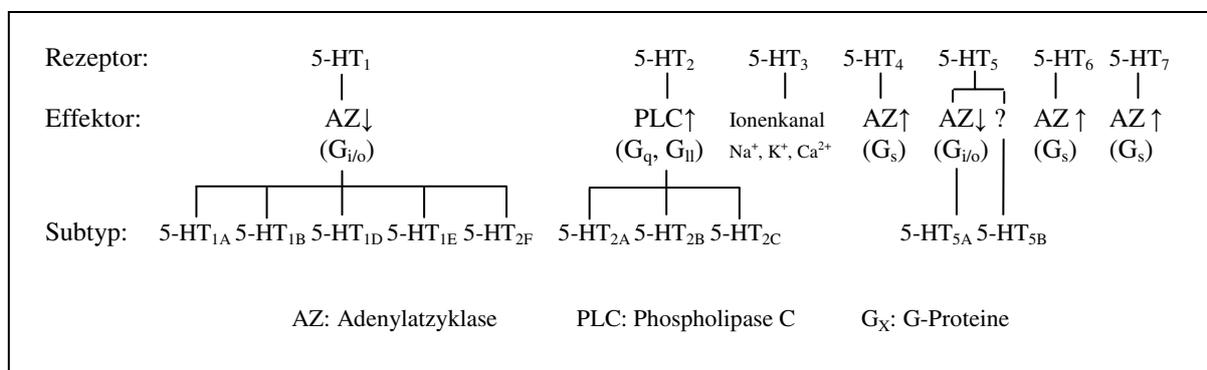
Abbildung 3.: Einteilung der serotonergen Kerne sowie schematische Darstellung der serotonergen Zellgruppen und der wichtigsten Projektionsgebiete, verändert nach Dahlström und Fuxe (1964).



2.3.4. Serotonin-Rezeptoren

Die heute von dem Serotonin Receptor Nomenclature Committee of the International Union of Pharmacology (NC-IUPHAR) anerkannte Einteilung der 5-HT-Rezeptoren erfolgt nach molekularer Struktur und nach Liganden-Bindungsaffinität (Hoyer und Martin, 1997). Es werden 7 Hauptklassen unterschieden von denen alle, außer dem 5-HT₃-Rezeptor (Ionenkanal), G-Protein gekoppelte Rezeptoren sind. In Abbildung 4 ist eine Zusammenfassung der 5-HT-Rezeptoren und ihrer intrazellulären Effektoren dargestellt.

Abbildung 4: Zusammenfassung Serotonin-Rezeptoren, vereinfacht nach Hoyer und Martin (1997).



2.3.3.1. Serotonin_{1A}-Rezeptor

Der 5-HT_{1A}-Rezeptor ist ein sehr gut charakterisierter Subtyp der 5-HT-Rezeptoren. Er zeigt die größte Verbreitung im ZNS und tritt besonders häufig in limbischen Hirnarealen wie Hippocampus, lateralem Septum, Amygdala und entorhinalem Kortex auf, also in Gebieten, die besonders mit Emotionen oder Gemütsverfassung assoziiert sind. Die genaue Verteilung ist von Spezies zu Spezies unterschiedlich. Der 5-HT_{1A}-Rezeptorsubtyp existiert im Säuger-ZNS an zwei Lokalisationen eines Neurons. Er kommt präsynaptischer als somatodendritischer Autorezeptor auf Dendriten und Zellsomata serotonerger Neurone in den Nuclei raphe dorsalis et medianus vor. Die Bezeichnung „präsynaptisch“ ist daher nicht ganz korrekt, wird aber auf Grund der besseren Gegenüberstellung zum Begriff des postsynaptischen Rezeptors im Folgenden verwendet. Für den präsynaptischen Rezeptor ist eine Rezeptorreserve gefunden worden. Welche Bedeutung diese in der Entstehung der Depression einnimmt, ist noch nicht geklärt (Blier und Ward, 2003).

Zusätzlich wird der 5-HT_{1A}-Rezeptor als postsynaptischer Heterorezeptor in den Projektionsgebieten, auf vielen nicht-serotonergen Neuronen in Schichten des Neocortex

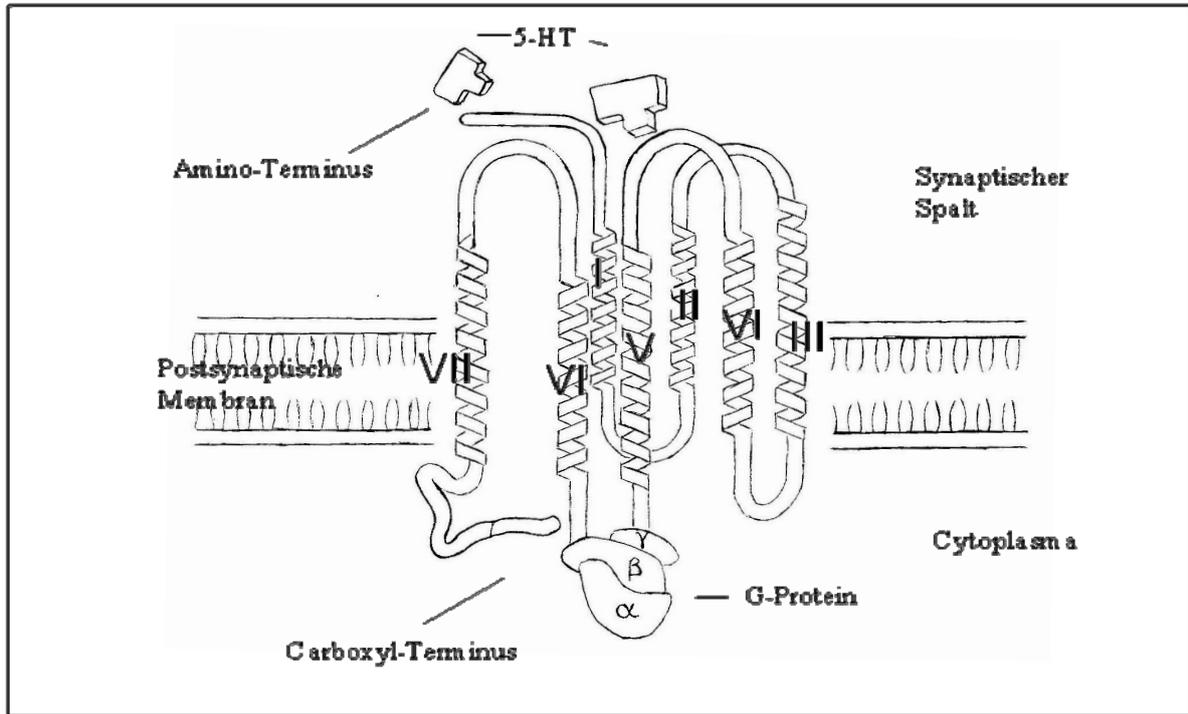
(insbesondere II und III) und Hippocampus (Pyramidenzellschicht der CA1-Region) sowie auf glutamatergen Terminalen exprimiert. Er vermindert die Entladungsfrequenz der nachgeschalteten Neurone (Barnes und Sharp, 1999).

Der 5-HT_{1A}-Rezeptor ist ein G-Protein (Guaninnukleotide bindendes Protein) gekoppelter Rezeptor (siehe Abbildung 5).

Sämtliche G-Protein gekoppelten Rezeptoren zeigen einen sehr ähnlichen Aufbau: Es sind Proteine aus 400-500 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht zwischen 60 und 80kD. Aufgrund der aus ihrer cDNA abgeleiteten Primärstruktur lassen sie sich in sieben Transmembrandomänen anordnen, wobei der Amino-Terminus extra- und der Carboxyl-Terminus intrazellulär liegen (Löffler, 2007). Der 5-HT_{1A}-Rezeptor benutzt ein heterotrimeres G-Protein für die Signaltransduktion. Die heterotrimeren, großen G-Proteine (im Gegensatz zu den kleinen G-Proteinen, Bsp. Ras) sind an Aminosäuren zellinnerer Schleifen gebunden. Die Signaltransduktion geschieht durch Aktivierung einer der drei Untereinheiten (α , β , und γ) des G-Proteins. Bindet ein Ligand an eine Domäne, so führt diese Anlagerung zu einer Konformationsänderung zwischen der 3. und 7. Transmembrandomäne. Durch diese kann der Rezeptor jetzt als GTP-Austauschfaktor für das gebundene G-Protein fungieren (GDP gegen GTP). Durch die Bindung von GTP wird der G-Protein-Komplex instabil. Die α -Untereinheit dissoziiert von der $\beta\gamma$ -Untereinheit ab und kann die für die biologische Antwort zuständigen Proteine aktivieren oder inaktivieren und löst somit über die jeweiligen *second messenger* (Effektor) Reaktionskaskaden aus. Die G-Proteine verschiedener Rezeptoren sind an unterschiedliche intrazelluläre Effektoren gekoppelt.

Beim 5-HT_{1A}-Rezeptor wird ein inhibitorisches G-Protein aktiviert (G_i). Die α -Untereinheit G_{i α} ist nach Bindung von GTP imstande, die aktive Form der katalytischen Untereinheit C des Adenylatzyklasesystems (intrazellulärer Effektor) in die inaktive zu überführen und so die cAMP-Produktion zu hemmen. Dies führt zum Öffnen von K⁺-Kanälen, über deren Kaliumausstrom die Zelle hyperpolarisiert wird. Diese Membranhyperpolarisation führt durch die geringere Leitfähigkeit von spannungsaktivierten Na⁺- und Ca²⁺-Ionenkanälen zu einem verminderten Na⁺- und Ca²⁺-Einstrom in die Zelle. Durch eine nachfolgende Aktivierung der *second messenger* IP₃ (Inositoltriphosphat) und der Proteinkinase C kommt es zu einer zeitlichen Amplifikation des ursprünglichen transduzierten Signals, so dass eine langanhaltende hyperpolarisierende Wirkung mit einer Senkung der neuronalen Entladungsrate eintritt (Albert et al., 1996; Jacobs und Azmitia, 1992; Raymond et al., 1999).

Abbildung 5: Schematische Darstellung des 5-HT_{1A}-Rezeptors, modifiziert nach CNSforum.com (2008).



I-VII Transmembrandomänen

2.4. Fragestellungen: Die Rolle des Serotonin_{1A}-Rezeptors in der Depression

Die Beteiligung des 5-HT_{1A}-Rezeptors in der Pathophysiologie der Depression ist vielfach belegt (siehe 2.1.3.). Bis jetzt ist nicht geklärt, welche genaue Bedeutung den Rezeptoren je nach Lokalisation in der Entstehung einer depressiven Störung zukommt. Es gibt Hinweise sowohl auf eine somatodendritische als auch eine postsynaptische Beteiligung. Meltzer (2004) wies in einer in vivo PET-Studie bei Depressiven ein vermindertes Rezeptorbindungspotential des 5-HT_{1A}-Rezeptors in der Raphe dorsalis nach, also der somatodendritischen Autorezeptoren. Lopez-Figueroa (2004) beschreibt in einer in situ-Hybridisation-Studie an Depressiven einen verminderten mRNA-Gehalt des 5-HT_{1A}-Rezeptors im Hippocampus (postsynaptisch exprimierter 5-HT_{1A}-Rezeptor).

Bedingt durch die zwei Lokalisationen des Rezeptors ist es schwierig, pharmakologisch hervorgerufene Effekte am prä- oder postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptor zu unterscheiden. Das Verhalten der 5-HT_{1A}-Rezeptor-KO-Tiere im Tail-suspension Test (siehe 2.2.2.2.3.) beweist zwar eine Beteiligung des 5-HT_{1A}-Rezeptors am depressionsähnlichen Verhalten der Maus, da aber beide Lokalisationen von dem KO betroffen sind, war auch hier keine Unterscheidung der vermittelten Effekte möglich. Matasuda (1995) gelang es, die Beteiligung des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors am „antidepressiven“ Verhalten der Maus im Porsolt-Schwimmtest nachzuweisen. Durch die systemische Gabe von 5,7-Dihydroxytryptamin zerstörte er die serotonergen Neuronen, der postsynaptische 5-HT_{1A}-Rezeptor bleibt intakt. In dem anschließend durchgeführten Porsolt-Schwimmtest nahm die Immobilitätszeit nach der Rezeptoraktivierung mit dem 5-HT_{1A}-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT ab, d.h. die Tiere verhielten sich, als wären sie mit einem Antidepressivum behandelt worden.

Die Mauslinie mit der Überexpression des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors in Cortex und Hippocampus bietet die Möglichkeit, dieses Ergebnis zu verifizieren und die Rolle des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors im depressionsähnlichen Verhalten der Maus genauer zu untersuchen. Es sollen drei Fragenkomplexe bearbeitet werden.

2.4.1. Serotonin_{1A}-Rezeptor und depressionsähnliches Verhalten im Tierversuch

Welche Rolle spielt der 5-HT_{1A}-Rezeptor im depressionsähnlichen Verhalten der Maus und welche Bedeutung hat dabei das Verhältnis von somatodendritischen zu postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptoren?

Um diese Fragestellung zu beantworten, wird das Verhalten transgener Mäuse und Wildtypmäuse unter dem Einfluss von vier Antidepressiva und einer Referenzsubstanz, die

unterschiedlich am serotonergen und noradrenergen Transmissionssystem angreifen, in zwei Verhaltenstests verglichen. Es werden der Porsolt-Schwimmtest und der Open-field Test durchgeführt. Zusätzlich wird das Verhalten beider Mauslinien in einem Motorik-unabhängigen Depressionsmodell, dem Sucrose-preference Test, untersucht.

Der Parameter für die antidepressive Wirkung eines Pharmakons im Porsolt-Schwimmtest, die Immobilitätszeit, ist von der motorischen Aktivität der Versuchstiere abhängig. In bereits veröffentlichten Untersuchungen an den transgenen Tieren mit der Überexpression hat sich gezeigt, dass der 5-HT_{1A}-Rezeptoragonist 8-OH-DPAT die motorische Aktivität der transgenen Tiere im Open-field Test in schon relativ niedrigen Dosen stark beeinflusst (Bert et al., 2006). Deswegen müssen, um die „antidepressive“ Wirkung der getesteten Substanzen im Porsolt-Schwimmtest bewerten zu können, zusätzlich die Auswirkungen dieser in einem Test zur Beurteilung der freien Bewegung, dem Open-field, untersucht werden.

8-OH-DPAT ist ein voller 5-HT_{1A}-Rezeptoragonist am prä- und postsynaptischen Rezeptor und verkürzt im Porsolt-Schwimmtest die Immobilitätszeit (De Vry et al., 2004). Aus dem Vergleich der Immobilitätszeiten von transgenen und Wildtyptieren wird die Bedeutung des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors ersichtlich werden. Ist dieser für die Vermittlung eines „antidepressiven“ Effekts verantwortlich, sollte die Immobilitätszeit der transgenen Tiere unter der der Wildtyptiere liegen.

Buspiron ist ein Azapiron. Aufgrund einer Rezeptorreserve der somatodendritischen 5-HT_{1A}-Rezeptoren (siehe 2.3.4.1.) kann Buspiron an diesen als voller Agonist, an den postsynaptischen nur als Partialagonist wirken (Harvey und Balon, 1995). Wir postulieren, dass die 5-HT_{1A}-Überexpression bei den transgenen Mäusen zu einer postsynaptischen Rezeptorreserve in den Projektionsgebieten Hippocampus und Cortex geführt hat, da die durchschnittliche Bindungskapazität (B_{max}) der 5-HT_{1A}-Rezeptoren bei männlichen transgenen Tieren in einer Radioligandbindungsstudie mit [³H]8-OH-DPAT am gesamten Gehirn doppelt so hoch war wie die der Wildtyptiere. Die Affinität (K_D) war dabei nicht verändert (Bert et al., 2008). Stimmt diese Hypothese, sollte Buspiron bei den transgenen Tieren die Wirkung eines vollen 5-HT_{1A}-Rezeptoragonisten entfalten, und somit Effekte erzeugen, die vergleichbar mit denen von 8-OH-DPAT sind. Auf Grund der nicht vorhandenen Rezeptorreserve bei den Wildtyptieren ist in dieser Gruppe nicht mit dem bei den transgenen erwarteten Effekt zu rechnen.

Der SSRI Citalopram nimmt eine Schlüsselrolle in der Fragestellung ein. SSRI verhindern nach akuter Gabe die Wiederaufnahme von Serotonin aus dem synaptischen Spalt und erhöhen so den Serotoningehalt. Anders als bei 8-OH-DPAT und Buspiron wird hier nicht

direkt der Rezeptor aktiviert, sondern die verfügbare Menge an Transmitter zur Rezeptoraktivierung erhöht. Spielt der postsynaptische 5-HT_{1A}-Rezeptor eine bedeutende Rolle in der Erzeugung der antidepressiven Wirkung dieser Substanzklasse, sollten die mit Citalopram behandelten transgenen Tiere eine deutlich kürzere Immobilitätszeit als die Kontrollgruppe zeigen.

Reboxetin ist ein SNRI. Dieser Substanz, die die Wiederaufnahme von Noradrenalin aus dem synaptischen Spalt hemmt, ist hier die Rolle der Negativkontrolle zugeordnet: Reboxetin wirkt selektiv auf das noradrenerge System, die antidepressive Wirkung ist unabhängig von dem 5-HT_{1A}-Rezeptor. Deswegen wäre zu erwarten, dass sich die Immobilitätszeiten der Mäuse beider Genotypen nicht unterscheiden.

Tianeptin beschleunigt die Wiederaufnahme von Serotonin aus dem synaptischen Spalt und widerspricht in seiner Wirkungsweise nach akuter Gabe der Monoaminmangel-Hypothese. Mögliche Unterschiede im Schwimmverhalten beider Genotypen könnten einen Hinweis auf eine Beteiligung des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors im Wirkungsmechanismus von Tianeptin geben.

2.4.2. Serotonin_{1A}-Rezeptor und Stress

Chronischer Stress kann beim Menschen Depressionen hervorrufen (Chrousos und Gold, 1992). In Tierexperimenten wurde beobachtet, dass Veränderungen in der Stressachse ein depressionsähnliches Verhalten verursachen. Eigene Beobachtungen der Tiere im Heimatkäfig lassen vermuten, dass die transgenen Tiere weniger stressempfindlich sind als die Wildtypiere. Sie wirken weniger schreckhaft und sind leichter zu „handeln“. Diese Hypothese soll geprüft werden.

Stress ruft im Organismus eine Anpassungsreaktion hervor, die sogenannte Stressreaktion. Diese beinhaltet eine Erhöhung des Grundumsatzes, die durch eine Erhöhung der Körpertemperatur erzielt wird. Die wiederum kann als ein Parameter für Stress genutzt werden.

Der Vergleich der Körpertemperaturveränderungen beider Genotypen als Reaktion auf definierte Stressreize soll Aufschluss über eine mögliche Stressresistenz der transgenen Tiere liefern. Diese Stressresistenz wäre an einem geringeren Temperaturanstieg als der in der Kontrollgruppe erkennbar. Am frei beweglichen, unbeeinflussten Tier sind die genauesten Messergebnisse zu erhalten. Deswegen wird die Radiotelemetrie (intrapertoneal implantierter Transmitter) als berührungsfreie Messmethode verwendet werden, um die Auswirkungen auf

die Körpertemperatur von Immobilisations- und Injektionsstress und dem Einführen einer rektalen Sonde zu erfassen.

2.4.3. 5-HT_{1A}-Rezeptor und Geschlechterdifferenzen

In Vorversuchen mit unbehandelten Mäusen beider Genotypen konnten im Porsolt-Schwimmtest Unterschiede im Verhalten männlicher und weiblicher Tiere beobachtet werden. Während männliche transgene Mäuse einen ausgeprägten „antidepressiven Phänotyp“ in Form kürzerer Immobilitätszeiten als die Wildtypiere zeigten, konnte ein solcher Unterschied zwischen den Genotypen bei den Weibchen nicht nachgewiesen werden. Wird ein Zusammenhang dieser verschiedenen Verhalten mit der Expression des 5-HT_{1A}-Rezeptors zu erkennen sein?

Ein unterschiedliches Verteilungsmuster von 5-HT_{1A}-Rezeptoren bei männlichen und weiblichen Mäusen konnte bereits nachgewiesen werden (Schiller et al., 2006).

In einer Rezeptorautoradiographie mit [³H]8-OH-DPAT sollen nun geschlechtervergleichend das Verteilungsmuster des 5-HT_{1A}-Rezeptors beider Genotypen untersucht werden, um so eine mögliche Interaktion zwischen 5-HT_{1A}-Rezeptorexpression und „antidepressiven“ Verhalten erkennen zu können.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material

3.1.1. Versuchstiere

Zwei Mauslinien werden untersucht. Die Untersuchungen erfolgen an homozygoten transgenen und Wildtypieren.

Die *transgene Linie 35* (TX) wurde von der Arbeitsgruppe von Prof. Theuring an der Charité, Berlin, durch eine Pronucleus-DNA-Injektion der Kodierungssequenz des murinen 5-HT_{1A}-Rezeptor-Gens generiert (Kusserow et al., 2004). Es wurde der genetische Hintergrund des NMRI-Stammes verwendet. Die Überexpression des 5-HT_{1A}-Rezeptors ist in Hirnarealen lokalisiert, in denen der Rezeptor postsynaptisch exprimiert wird und physiologischerweise bei der Maus nicht in so hoher Dichte vorkommt: vor allem in den äußeren Cortexschichten und im Hippocampus (Bert et al., 2006).

Die *Vergleichsgruppe* (Kontrolltiere, WT) besteht aus NMRI-Wildtypieren. Sie sind die Nachzucht gekaufter Tiere von Harlan-Winkelmann, Borcheln, Deutschland. Dies ist der Züchter der Tiere aus denen die transgenen Mäuse (Hintergrund NMRI) generiert wurden.

Die Versuchstiere werden im Tierstall des Instituts für Pharmakologie und Toxikologie, Fachbereich Veterinärmedizin, der Freien Universität Berlin geboren, aufgezogen und bis Versuchsende gehalten. Die Raumtemperatur beträgt ganzjährig 23±2°C, die relative Luftfeuchtigkeit liegt bei 60±5%. Das Lichtregime sieht eine Tagphase von 6:00 bis 18:00 Uhr vor (ohne Zeitumstellung zur Sommerzeit). Die Mäuse leben in Gruppen von 5-8 Tieren in Makrolon Standardkäfigen Typ IV (40cm x 60cm x 25cm). Standardpellets von Altromin 1324 (Lage, Deutschland) und Trinkwasser stehen *ad libitum* zur Verfügung.

Die genaue Anzahl der verwendeten Tiere ist aus den Versuchsplänen zu entnehmen (siehe Anhang S. 100). Jedes Tier war nur ein Mal im Versuch.

3.1.2. Verwendete Substanzen

Die Substanzen (siehe Tabelle 1) werden in physiologischer (0,9%iger) Kochsalzlösung ca. eine Stunde von Versuchsbeginn frisch angesetzt und 30min vor Versuchsdurchführung appliziert. Die Injektion erfolgt intraperitoneal (i.p.). Das Injektionsvolumen beträgt 10ml/kg Körpergewicht.

Tabelle 1: Verwendete Substanzen und deren Hersteller

| Substanz | Hersteller/ Bezugsquelle |
|--|--|
| 8-OH-DPAT <i>8-Hydroxy-2-(Di-N-Propylamino)Tetralin</i> | Research Biochemicals Int., Natick, USA |
| Buspiron <i>8-[4-(4-Pyrimidin-2-Piperazin-1-Butyl)-8-Azaspiro[4,5]Decan-7,9-Dion</i> | Tocris, Avonmouth, UK |
| Citalopram <i>1-[3-(Dimethylamino)Propyl]-1-(4-Fluorphenyl)-1,3-Dihydroisobenzofuran-5-Carbonitril]</i> | Tocris, Avonmouth, UK |
| Reboxetin <i>2-[(2-Ethoxyphenoxy)-Phenyl-Methyl]Morpholin</i> | Zur Verfügung gestellt von Pfizer, Groton, USA |
| Tianeptin <i>[3-Chloro-6-Methyl-5,5-Dioxo-6,11-Dihydro-(c,f)-Dibenzo-(Thiazepin)-11-)-Amino]-7-Heptan Säure</i> | European Pharmacopoeia, Strassbourg, F |
| Kochsalz <i>Natriumchlorid (NaCl)</i> | Merck, KGaA, Darmstadt, D |

3.2. Methoden

3.2.1. Versuchsdurchführung

Die Durchführung der Tierversuche in dieser Arbeit wurde unter den Tierversuchsnummern G 0165/08, G 0107/06 und G 0151/05 des Landesamts für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin genehmigt.

Zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung sind die Tiere durchschnittlich 11 Wochen alt. Es werden Tiere beider Geschlechter untersucht.

Die Verhaltenstests (Porsolt-Schwimmtest und Open-field Test) werden vormittags zwischen 8:00 und 12:00 Uhr durchgeführt. Die Tiere werden in ihren Käfigen am Vortag des Versuchs zur Akklimatisierung in den Versuchsraum gebracht. Im Versuchsraum befindet sich eine schallisolierte Untersuchungskammer (1,7m x 1,9m x 2,4m), in der die Versuchsaapparaturen zur Durchführung aufgestellt sind. Die Leuchtstoffröhren in der Kammer erreichen eine

Beleuchtungsstärke von 400 Lux im Zentrum der Versuchsapparaturen. Über diesen ist eine Videokamera (Panasonic CCD, Japan) installiert, die an einen Monitor (Panasonic, Japan) und einen Videorecorder (Panasonic, Super VHS FS88, Japan) außerhalb der Kammer im Versuchsraum, angeschlossen ist. So wird es dem Experimentator ermöglicht, den Vorgang aufzuzeichnen und auszuwerten ohne die Tiere in ihrem Verhalten zu stören. Die Auswertung erfolgt mittels der Software VideoMot von TSE Systems GmbH (Bad Homburg, Deutschland).

Der Sucrose-preference Test und die Radiotelemetrierversuche werden im Tierstall durchgeführt. Die Tiere werden dafür in Einzelkäfigen Makrolon Typ III (42cm x 27cm x 16cm) gehalten. Das Wiegen (Typ BP2100, Sartorius AG, Göttingen) der Trinkflaschen im Sucrose-preference Test erfolgt täglich kurz nach dem Einschalten der Beleuchtung, gegen 7:00 Uhr Sommerzeit. Die Messungen der Radiotelemetrie finden zwischen 8:00 und 12:00 Uhr statt.

Die Gehirnentnahme und Gefrierschnittanfertigung erfolgt an der Freien Universität Berlin, die Markierung, Inkubation und Auswertung an der Technischen Universität Dresden in Kooperation mit Prof. Oehler und Dr. Schiller.

3.2.2. Versuche zum Depressions-ähnlichen Verhalten

3.2.2.1. Porsolt-Schwimmtest und Open-field Test

Porsolt-Schwimmtest

Der *Porsolt-Schwimmtest* oder *Forced-swim Test* ist der Standardtest zum Screening und zur Beurteilung der Wirkung von antidepressiven Substanzen (siehe 2.2.2.1.2.).

Durchführung

Die Maus wird in einem mit Wasser ($23^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$) gefülltem Becherglas (Durchmesser 19cm) gesetzt und schwimmen gelassen (Abbildung 6). Die Höhe des Wasserspiegels (15cm) ist so bemessen, dass die Maus sich nicht mit der Schwanzspitze am Boden abstoßen kann. Als Sichtschutz nach außen wird das Glas mit schwarzem Kunstleder ummantelt. Nach dem Durchlauf wird das Tier zum Trocken in einen mit Einmalhandtüchern ausgelegten Käfig gesetzt. Das Wasser vom Becherglas wird nach jedem Tier gewechselt.

Die Versuchszeit beträgt sechs Minuten. Innerhalb dieser Zeitspanne werden die Intervalle gestoppt, in denen die Maus nur noch solche Schwimmbewegungen ausführt, die sie benötigt, um an der Wasseroberfläche zu bleiben („*despair*“, siehe 2.2.2.1.). Sie unternimmt dann keine

aktiven Fluchtversuche und verharrt fast unbeweglich im Wasser. Die Summe dieser Intervalle wird als Immobilitätszeit [s] bezeichnet. In Tabelle 2 ist das Dosierungsschema für die zu untersuchenden Substanzen dargestellt.

Abbildung 6: Maus im Wasserglas während des *Porsolt-Schwimmtests* in der typischen „despair“-Haltung



Tabelle 2: Dosierungsprotokoll für den *Porsolt-Schwimmtest*

| Versuch | Porsolt-Schwimmtest | | | | |
|-------------------|----------------------------|-----------------|-------------------|------------------|------------------|
| Substanz | 8-OH-DPAT | Buspiron | Citalopram | Reboxetin | Tianeptin |
| ♂: Dosis mg/kg | 0,1/ 0,25/ 0,75 | 1 / 3 | 5 / 10 | 10 / 20 / 40 | 10 / 20 |
| ♀: Dosis mg/kg | 0,04/ 0,1/ 0,25 | 1 / 3 | 5 / 10 | 20 | 10 / 20 / 30 |

Open-field Test

Der *Open-field Test* wird vor allem zur Untersuchungen des emotionalen und des Erkundungsverhaltens eingesetzt. Er ermöglicht die freie Bewegung der Tiere, die Motorik und Lokomotion, zu beurteilen.

Durchführung

Die Maus wird in das Zentrum des *Open-fields* gesetzt. Das *Open-field* hat eine quadratische Grundfläche (Seitenlänge 53cm), die mit einer schwarzen Kunstledermatte ausgelegt ist (Abbildung 7). Die weißen HolzWände sind 37cm hoch und verhindern das Entweichen der Versuchstiere. Nach einem Versuchsdurchlauf wird die Maus wieder in ihren Käfig gebracht,

das *Open-field* wird mit einer 50%igen Propanollösung (Meliseptol, B.Braun Melsungen AG, Deutschland) gereinigt und trockengewischt.

Die Versuchszeit beträgt zehn Minuten. Innerhalb dieser Zeitspanne wird die zurückgelegte Strecke [cm] gemessen. In Tabelle 3 ist das Dosierungsschema der zu untersuchenden Substanzen aufgeführt.

Abbildung 7: Maus im *Open-field*

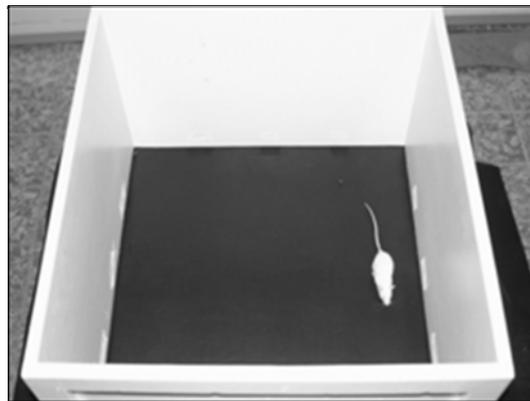


Tabelle 3: Dosierungsprotokoll für den *Open-field Test*

| Versuch | Open-field Test | | | | |
|-------------------|---|-----------------|-------------------|------------------|------------------|
| Substanz | 8-OH-DPAT | Buspiron | Citalopram | Reboxetin | Tianeptin |
| ♂: Dosis mg/kg | Bereits publiziert (Bert et al., 2006) | 1 / 3 | 5 / 10 | - | 20 |
| ♀: Dosis mg/kg | | 1 / 3 | 5 / 10 | 20 | 30 |

3.2.2.1. Sucrose-preference Test

Der *Sucrose-preference Test* wird zur Beurteilung des Freudverhaltens (Hedonie, siehe 2.2.2.2.2.) herangezogen. Die Bewertung der Wirksamkeit antidepressiver Substanzen ist hier unabhängig von der motorischen Aktivität der Versuchstiere.

Durchführung

Nachdem die Tiere einen, bzw. drei Monate einzeln gehalten wurden, wird ihnen in der Habituationsphase das Trinkwasser in zwei Flaschen angeboten, die links und rechts der Futterraufe liegen (0. Versuchstag, Abbildung 8). In den darauffolgenden zwei Tagen befindet sich, täglich wechselnd, in einer der beiden Flaschen, eine Saccharoselösung (1%ig nach einem Monat, 2%ig nach 3 Monaten). Die andere ist mit normalem Trinkwasser gefüllt. Täglich werden das Wasser und die frisch angesetzte Saccharoselösung in die gut ausgespülten Flaschen gefüllt (Protokoll siehe Tabelle 4).

Die aufgenommene Menge wird aus der Differenz der Einwaage und dem abgelesenen Wert errechnet. Tiere gelten als anhedonisch, wenn ihr Saccharosekonsum weniger als 65% vom Gesamtkonsum aus beiden Flaschen beträgt (Strekalova et al., 2004).

Abbildung 8: Versuchsaufbau des *Sucrose-preference Tests*. Es werden zwei Trinkflaschen angeboten.



Tabelle 4: Versuchsprotokoll für den *Sucrose-preference Test*. Nach einem bzw. drei Monaten Einzelhaltung werden den Tieren zwei Trinkflaschen (rechts und links) angeboten.

| Einzelhaltung | | 0. Versuchstag | | 1. Versuchstag | | 2. Versuchstag | |
|----------------|--------|----------------|--------|----------------|--------|----------------|----------------|
| Inhalt Flasche | | Inhalt Flasche | | Inhalt Flasche | | Inhalt Flasche | |
| - | rechts | links | rechts | links | rechts | links | rechts |
| - | Wasser | Wasser | Wasser | Saccharoselsg. | Wasser | Wasser | Saccharoselsg. |

3.2.3. Radiotelemetrie

Die *Radiotelemetrie* ermöglicht es, Körpertemperatur und Aktivität von Versuchstieren berührungsfrei und weitgehend unbeeinflusst durch den Menschen, zu messen. Da die Erhöhung der Körpertemperatur ein guter Indikator für Stress beim Nager ist, stellt die Radiotelemetrie das beste Verfahren zur berührungsfreien Messung der Körpertemperatur dar.

Durchführung

Den Mäusen wird im Alter von 8 Wochen in Narkose (ca 2/3 der Dosis Ketamin 100mg/kg, Xylazin 10mg/kg) der Transmitter vom Typ TA-F20 (DSI, St. Paul, USA, Gewicht 3,8g, Größe siehe Abbildung 9A) in die Bauchhöhle implantiert. Die Operationswunde wird in zwei Schichten mit resorbierbarem Faden verschlossen. *Post operationem* werden die Tiere in der Aufwachphase unter eine Wärmelampe gelegt. Das Trinkwasser wird zur Schmerzbehandlung über drei Tage mit einer Metamizol/Zuckerlösung versetzt (250mg Metamizol in 500ml Wasser). Die Wundheilung wird täglich kontrolliert. Nach 14 Tagen Rekonvaleszenz beginnen die Messungen. Dazu werden die Mäuse in ihren Käfigen auf die Receiver RPC-1 (DSI, St. Paul, USA, siehe Abbildung 9B) gestellt, der Transmitter wird mit Hilfe eines Magneten durch die Haut angeschaltet. Die aufgenommenen Daten werden in dem angeschlossenen Computer gesammelt und anschließend ausgewertet.

Zunächst werden die Tagesrhythmik der Körpertemperatur und der Aktivität der transgenen und Wildtypmäuse über sieben aufeinander folgende Tage bestimmt. Im Anschluss wird an den selben Tieren die Reaktion auf gezielte Stressreize (kurzes Handling (Fixation der Tiere per Rückengriff), Injektionen von NaCl und 8-OH-DPAT, Einführen einer rektalen Sonde) gemessen (siehe Tabelle 5). 20 Minuten nach Beginn der Aufzeichnung (Vorlaufzeit), werden die Tiere den Stressreizen ausgesetzt. Die Temperaturmittelwerte der Vorlaufzeit werden in der Auswertung dann gleich Null gesetzt (Basiswert). Die Reaktionen auf die Stressreize in Form von Temperaturveränderungen werden anschließend als Abweichungen von diesem Nullwert in den Kurven dargestellt.

Abbildung 9: **A:** Transmitter TA-F20, Pfeillänge entspricht 1cm, **B:** Schwarze Maus (zum besseren Kontrast) in einem Makrolon III Käfig auf einem Receiver RPC-1.

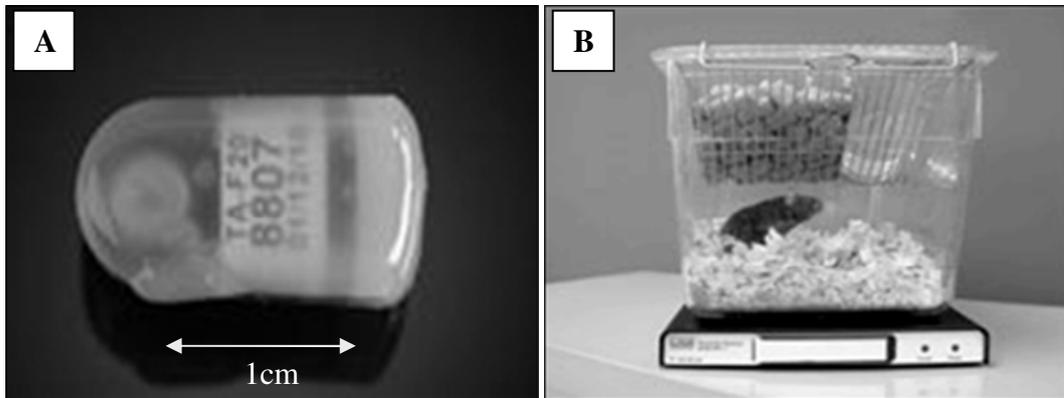


Tabelle 5: Versuchsprotokoll für die fünf Durchläufe der *Radiotelemetriemessungen* mit den jeweiligen Stressreizen.

| Durchlauf | Vorlaufzeit | 1. Stressreiz | Messung | 2. Stressreiz | Messung |
|-----------|-------------|---------------------------------|---------|----------------------|---------|
| 1. Woche | 20min | Handling/ Immobilisation | 60min | - | - |
| 2. Woche | 20min | NaCl-Injektion | 30min | NaCl- Injektion | 60min |
| 3. Woche | 20min | NaCl-Injektion | 30min | 0,5mg/kg 8-OH-DAT | 60min |
| 4. Woche | 20min | NaCl-Injektion | 30min | 1,0mg/kg 8-OH-DAT | 60min |
| 5. Woche | 20min | Einführen der rektalen Sonde | 60min | - | - |

3.2.4. Rezeptorautoradiographie

Die *Rezeptorautoradiographie* ermöglicht es genaue Erkenntnisse über die Verteilung bestimmter Strukturen in Geweben zu sammeln. Sie funktioniert als „Selbstaufzeichnung“ von Strahlung eines spezifischen radioaktiv-markierten Liganden des zu untersuchenden Rezeptors, auf einem entsprechend sensitiven Medium. Die Bindung des radioaktiven Liganden erfolgt zwar hochaffin an den spezifischen Bindungsstellen, aber auch unspezifisch an anderen Strukturen wie Proteinen und Lipiden. Um diesen unspezifischen Anteil zu eliminieren wird zusätzlich zum radioaktiven Liganden ein weiterer ebenso spezifischer, aber unmarkierter Ligand (Displacer) eingesetzt. Der weist eine vergleichbare Affinität zur Zielstruktur auf, wird aber in einer 5000fach höheren Konzentration verwendet und verdrängt deswegen den markierten Liganden aus seiner spezifischen Bindung. Messbar bleibt, nach dem Waschen, nur die unspezifische Bindungsaffinität des markierten radioaktiven Liganden. Aus der Subtraktion der unspezifischen Bindung von der Gesamtbindung ergibt sich die spezifische Bindung.

Durchführung

Es wird die Methode angewendet, wie sie von Schiller et al. (2006) beschrieben worden ist.

Die Tiere (n=10 pro Genotyp und Geschlecht, Alter ca. 12 Wochen) werden nach einer Isoflurannarkose dekapitiert, die Gehirne präpariert und sofort auf zerstoßenem Trockeneis eingefroren. Bis zur weiteren Analyse werden die Gehirne dicht in Alufolie verschlossen und bei minus 80°C gelagert.

Mit Hilfe des Einbettmediums Tissue freezing (Tissue-tek, Sakura Fintek Europe BV, Niederlande) wird das zu schneidende Gehirn auf dem Objektisch des Gefriermikrotoms (Microm HM 560, Thermo Fisher Scientific Inc., USA) fixiert. Bei einer Temperatur von minus 17°C werden 20µm dicke coronale Gehirnschnitte angefertigt. Diese werden auf speziell beschichtete Objektträger (Superfrost, Roth, Karlsruhe) aufgezogen und bei Raumtemperatur getrocknet. Die anschließende Lagerung erfolgt bei minus 20°C.

Es werden zwei Ebenen zur Bestimmung der 5-HT_{1A}-Rezeptordichten geschnitten: Ebene 1 (Bregma 1,56 bis 1,66mm) und Ebene 2 (Bregma -2,06 bis -2,16mm). Zur Orientierung wird der Hirnatlas von Franklin und Paxinos (1997) herangezogen.

Für die Inkubation werden die Hirnschnitte aufgetaut und erneut getrocknet. Die Inkubation erfolgt in Färbeküvetten. Nach einer 15 minütigen Waschung zur Entfernung des endogenen Liganden (50mM Tris HCl, 120mM NaCl, 4mM CaCl₂, pH 7,4) folgt die einstündige

Hauptinkubation mit ^3H -markiertem 8-OH-DPAT (PerkinElmer, Rodgau-Jügesheim) in einer 2nM Lösung. Als sogenannter Displacer (unmarkierter Ligand) wird MM77-dihydrochlorid (Biotrend, Köln) in einer Konzentration von $10\mu\text{M}$ verwendet. Alle anschließenden Waschschrte finden getrennt nach Bindungsansatz (total/unspezifisch) auf Eis jeweils zwei mal 10min mit reinem Tris HCl-Puffer statt. Zuletzt werden die Objektträger in destilliertes Wasser getaucht, langsam unter Kaltluft getrocknet, um letztendlich in die Entwicklungskassetten (BAS Standard 2040, Fujifilm Corporation, Japan) gelegt und mit der *Imaging Plate* (TR24010, Fujifilm Corporation, Japan) bedeckt zu werden, dem sensiblen Medium (hauptsächlich BaFBr: Eu^{2+}), das als Bildspeicher dient. Die *Imaging Plates* zeichnen den lokalen Verlauf von Ionisationsspuren durch die Bildung von Farbzentren im Kristall auf. Für die gesamte Expositionszeit von 10 Tagen werden die Kassetten in bleigeschützten Kammern zum Schutz vor Fremdstrahlung aufbewahrt.

Die Auswertung der *Imaging Plates* erfolgt im Bio-Imaging Analyzer BAS 2000 (Fujifilm Corporation, Japan). Durch Abtasten mit einem Laser werden die gebildeten Farbzentren zur Phosphoreszenz angeregt, so dass die Orts- und Energieformation ausgelesen werden können. Für die Quantifizierung werden ^3H -Standards (RPN110, Amersham, Freiburg) mitgeführt.

3.2.5. Versuchsauswertung und Statistik

Die Irrtumswahrscheinlichkeit α wird in dieser Arbeit als $\alpha=0,05$ definiert. Bei Unterschreitung von α wird die Nullhypothese als widerlegt angenommen. Mit Hilfe des Programms SigmaStat Version 3.0 (Jandel Scientific, Deutschland) wird die Überschreitungswahrscheinlichkeit p berechnet. Ist $p < \alpha$ wird von einer signifikanten, nicht zufallsbedingten Abweichung der Nullhypothese ausgegangen. Ist $0,05 \leq p < 0,1$ wird von einer Tendenz zur Widerlegung der Nullhypothese gesprochen. Die Graphiken werden mit dem Programm SigmaPlot Version 8.0 (Jandel Scientific, Deutschland) erstellt.

Bei den im Text aufgeführten Werten handelt es sich immer um den Median und die 25./75. Perzentile. Die Gruppengröße „n“ ist in den Graphiken für den Porsolt-Schwimmtest und den Open-field Test aufgeführt. Tiere, die ein Schwimmverhalten wie in 3.3.1.1.2. beschrieben zeigen, wurden nicht in die Auswertung mit einbezogen.

Bei den in den verhaltenspharmakologischen Untersuchungen gemessenen Parametern wird insgesamt von einer nicht parametrischen Verteilung der Werte ausgegangen. Beim Vergleich mehrerer Gruppen erfolgt die Berechnung der Signifikanz mit der Rangvarianz-Analyse nach Kruskal-Wallis gefolgt vom Dunn's Test.

Im Sucrose-preference Test werden sechs männliche Tiere pro Genotyp getestet. Beträgt der Saccharosekonsum weniger als 65% des Gesamtaufgenommenen, wird ein anhedonisches Verhalten der Versuchstiere angenommen (Strekalova et al., 2004).

Für die Versuche der Radiotelemetrie werden je Genotyp acht männlichen Tieren Transmitter implantiert. Aus den gewonnenen Daten werden Kurven erstellt. Die Flächen unter den Kurven (AUC) werden mit dem Student t-Test auf signifikante Abweichungen untersucht. Über die Dauer des Versuchs übermitteln sieben Transmitter keine verlässlichen Daten mehr (Werte über 45°C). Die Daten der Tiere dieser Transmitter wurden nicht ausgewertet.

Für die Rezeptorautoradiographie werden je zehn Gehirne pro Genotyp und Geschlecht entnommen. Für alle mittigen Strukturen werden maximal sechs Werte pro Gruppe ausgewertet, bei allen „beidseitig“ vorhandenen Strukturen ergibt das maximal zwölf Werte. Eine geringere Anzahl an Werten [n] ist durch schiefe Schnittführung oder Quetschungen bedingt, die eine Auswertung unmöglich machen. Zur Überprüfung auf signifikante Abweichungen zwischen den Genotypen und Geschlechtern wird der Student t-Test angewendet.

3.3. Ergebnisse

3.3.1. Verhaltenspharmakologische Untersuchungen zur Wirkung von Antidepressiva

3.3.1.1. Porsolt-Schwimmtest und Open-field Test

Mit Hilfe der Mauslinie, die den postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptor überexprimiert, wird die Rolle dieses Rezeptors in dem Wirkungsmechanismus ausgewählter Antidepressiva und einer Referenzsubstanz untersucht. Für die Untersuchung der durch die Überexpression bedingten phänotypischen Veränderungen wird das Verhalten der transgenen Tiere und dem Wildtypstamm verglichen. Es werden pro Substanz mindestens zwei Dosierungen getestet: eine niedrige, bei der kein Effekt zu erwarten ist, und eine höhere, die Änderungen im Verhalten bedingen sollte.

Die Ergebnisse des Porsolt-Schwimmtests sind sehr stark von der Motorik der Tiere abhängig. Darum wird die Lokomotion der Tiere im Open-field Test nach entsprechender Substanzapplikation untersucht.

Es werden pro Substanz zuerst die Ergebnisse der männlichen Tiere dargestellt, im Anschluss die der weiblichen. Bei den im Text aufgeführten Werten handelt es sich immer um den Median und die 25./75. Perzentile.

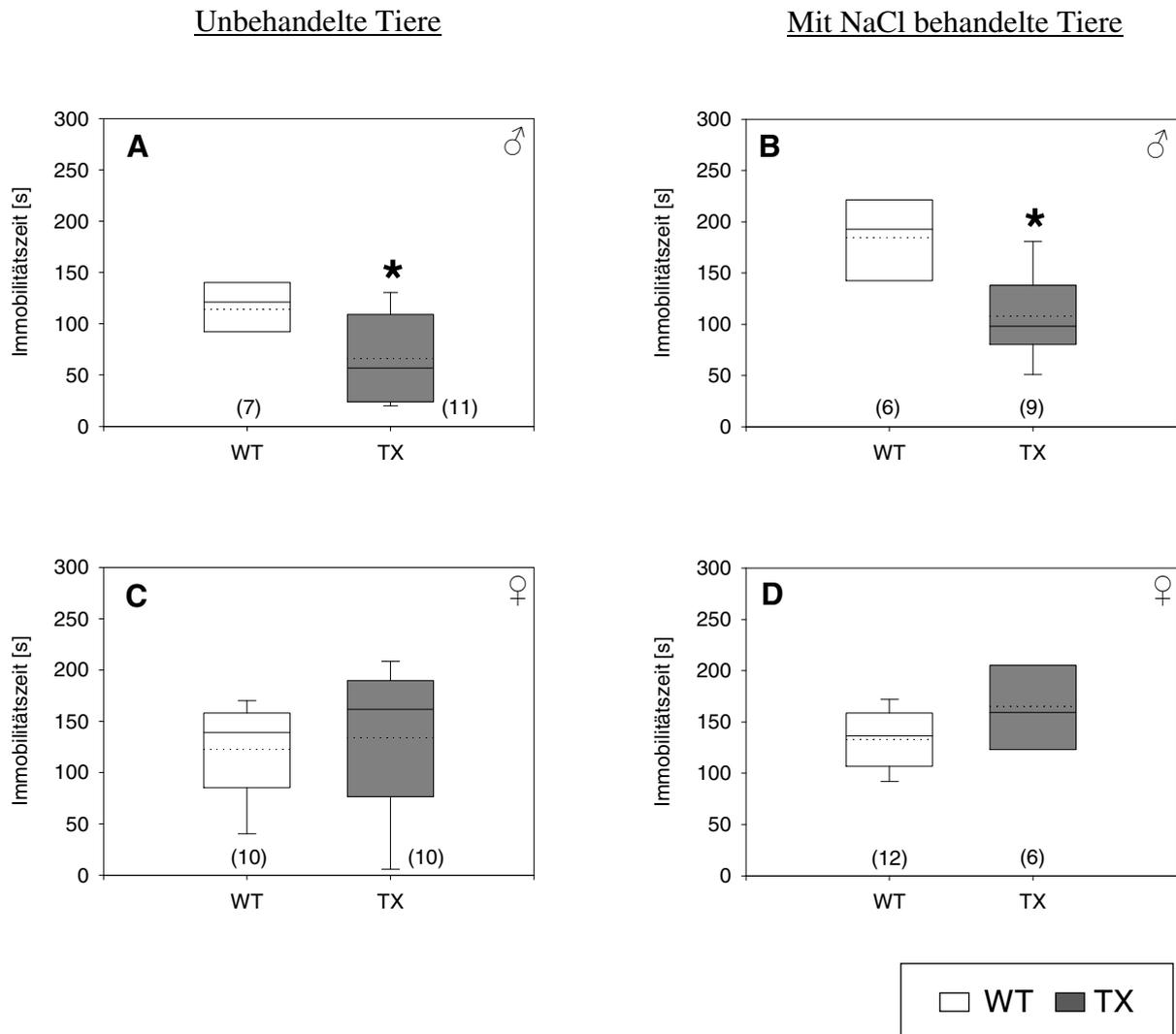
3.3.1.1.0. Vorversuche

Männliche Tiere (Abbildung 10 A, B)

Im Jahr 2005 wird der Porsolt-Schwimmtest erstmals im Institut für Pharmakologie und Toxikologie mit den transgenen Mäusen durchgeführt. Die unbehandelten transgenen Tiere zeigen eine signifikant kürzere Immobilitätszeit als die unbehandelten Wildtypiere. Sie weisen ein Verhalten auf, das dem nach Gabe von Antidepressiva ähnelt. Die Versuchszeit beträgt damals acht Minuten. Da alle Mäuse in den letzten zwei Minuten sich nur reglos treiben lassen, wird in der Nachauswertung der Videobänder die Beobachtungszeit auf sechs Minuten verkürzt (Strekalova et al., 2004). Der zuerst gefundene „antidepressive“ Phänotyp der männlichen transgenen Mäuse kann auch nach der Verkürzung der Beobachtungszeit nachgewiesen werden. Die Immobilitätszeit der transgenen Tiere (57,0[23/109]s) ist signifikant kürzer als die der Wildtypiere (121,0[92/141]s, Abbildung 10 A). Das gleiche Bild ist nach der Applikation von NaCl zu beobachten. Transgene Tiere (98,0[83/138]s) zeigen wiederum ein „antidepressives“ Verhalten im Vergleich zu den Wildtypieren (192,5[147/222]s, Abbildung 10 B).

Weibliche Tiere (Abbildung 10 C, D)

Das Verhalten der weiblichen Tiere unterscheidet sich nicht signifikant in den beiden getesteten Genotypen, weder bei den unbehandelten Tieren (WT: 139,0[85/154]s, TX: 161,5[75/191]s, Abbildung 10 C) noch bei den mit NaCl behandelten Tieren (WT: 139,0[106/158]s, TX: 161[121/206]s, Abbildung 10 D).

Abbildung 10 A-D: Porsolt-Schwimmtest

Dargestellt sind die Immobilitätszeiten [s] im Porsolt-Schwimmtest unbehandelter (A und C) und mit NaCl behandelter (B und D) männlicher und weiblicher Wildtypiere (WT) und transgener Tiere (TX). Anzahl der Tiere (n). Box plots mit Median als durchgehende Linie, Mittelwert als gepunktete Linie und 25./75. Perzentile. Student t-Test, *p<0,05.

3.3.1.1.1. Nachauswertungen 8-OH-DPAT

Männliche Tiere (Abbildung 11 A, B)

Die Versuche mit dem vollen 5-HT_{1A}-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT werden bereits im Jahr 2005 durchgeführt, jedoch erst im Zusammenhang mit diesen Untersuchungen mit Hilfe der damaligen Videoaufzeichnung nachausgewertet.

8-OH-DPAT wird im Porsolt-Schwimmtest den Wildtyptieren in drei Dosierungen (0,1mg/kg, 0,25mg/kg und 0,75mg/kg) appliziert. Bei den transgenen Tieren wird auf die höchste Dosierung (0,75mg/kg) (siehe 3.1.1.) verzichtet. Es wird eine niedrigere Dosierung getestet (0,04mg/kg). Im Open-field Test werden pro Genotyp drei Dosierungen untersucht, bei den Wildtyptieren 0,1mg/kg, 0,5mg/kg und 1,0mg/kg und bei den transgenen Mäusen entsprechend niedrigere: 0,1mg/kg, 0,25mg/kg und 0,5mg/kg.

Kontrolltiere beider Genotypen, die mit NaCl behandelt worden sind, unterscheiden sich signifikant in der Immobilitätszeit. Die transgenen Tiere sind weniger immobil (107,0[88/135]s), sie zeigen länger aktive Schwimmbewegungen als die Wildtypiere (180,0[141/195]s, Abbildung 11 A, nicht gekennzeichnet).

8-OH-DPAT bewirkt bei den Wildtyptieren in keiner der getesteten Dosierungen eine signifikante Veränderung im Schwimmverhalten. Eine Tendenz zur Verkürzung der Immobilitätszeit, einer „antidepressiven“ Wirkung von 8-OH-DPAT, ist bei den bei den Wildtyptieren in den Dosierungen von 0,25mg/kg (110,0[79/155]s) und 0,75mg/kg gemessen worden (120,0[57/139]s).

Die Mäuse mit der Überexpression des 5-HT_{1A}-Rezeptors unterscheiden sich im Porsolt-Schwimmtest in der Dosis-Wirkungsbeziehung deutlich von den Wildtyptieren. Mit steigender Dosierung nimmt die Immobilitätszeit zu. Nach 0,25mg/kg 8-OH-DPAT (248,0[219/276]s) sind sie signifikant länger immobil als nach NaCl (107,0[88/135]s), 0,04mg/kg (106,5[100/116]s) oder 0,1mg/kg (134,0[129/153]s, Abbildung 11 A).

Die Ergebnisse der Untersuchungen im Open-field (Abbildung 11 B) wurden bereits veröffentlicht (Bert et al., 2006).

Im Open-field Test ist in keiner Dosierung von 8-OH-DPAT eine Beeinflussung der lokomotorischen Aktivität der Wildtypiere zu verzeichnen.

Die lokomotorische Aktivität der transgenen Tiere ist ab einer Dosierung von 0,25mg/kg (1592[141/3270]cm) beeinträchtigt. Die zurückgelegte Strecke unter Substanzwirkung (0,5mg/kg) ist signifikant kürzer als bei den Kontrolltieren (3081[2941/3901]cm).

Weibliche Tiere (Abbildung 11 C, D)

Es werden dieselben Dosierungen von 8-OH-DPAT wie bei den männlichen Tieren getestet, nur auf die Dosis von 0,75mg/kg wird im Porsolt-Schwimmtest verzichtet.

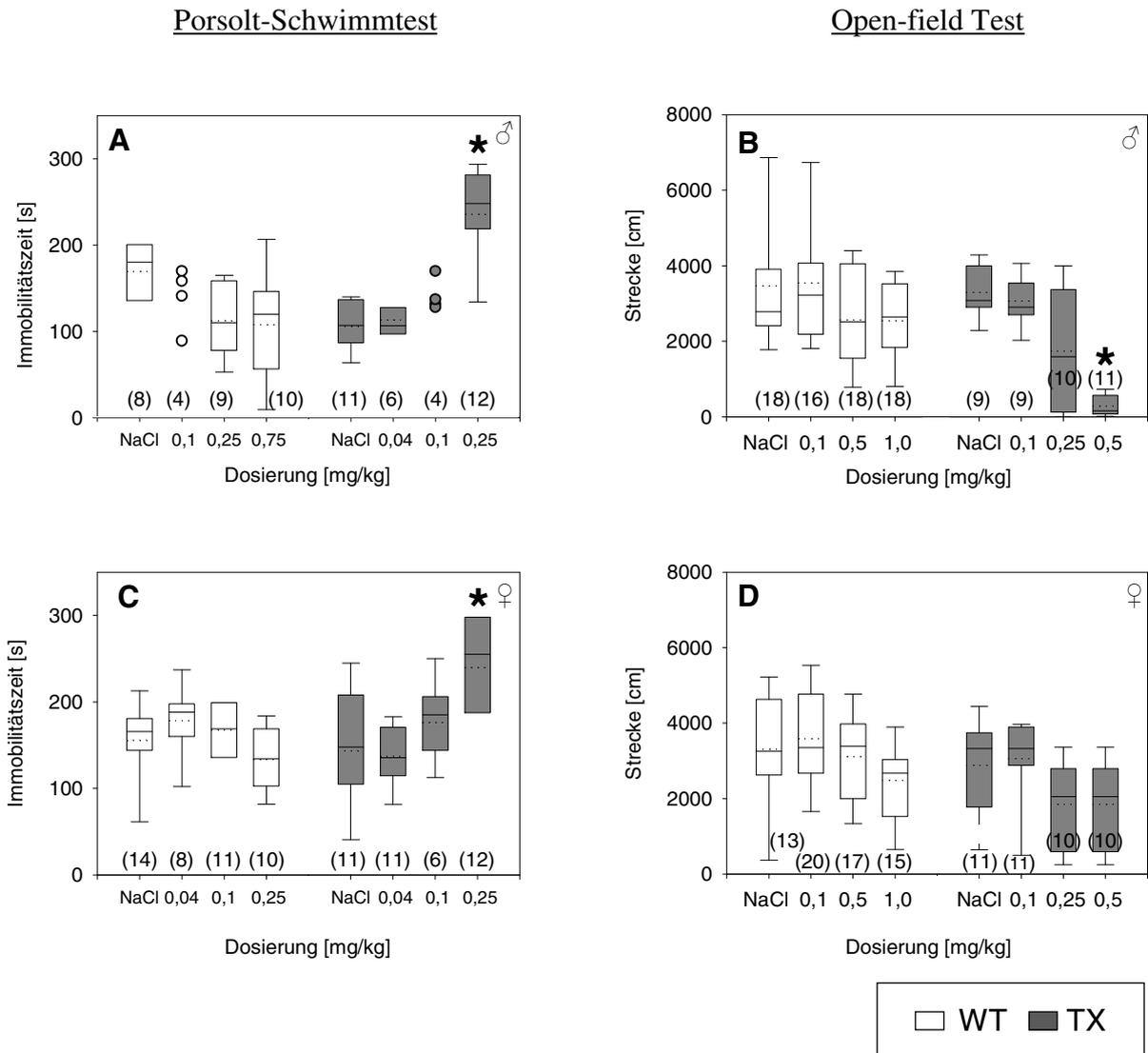
Im Porsolt-Schwimmtest ist bei den weiblichen Tieren nach NaCl-Applikation kein Unterschied zwischen den Genotypen in den Immobilitätszeiten feststellbar.

Nach Gabe von 8-OH-DPAT (0,04mg/kg (188,0[164/196]s), 0,1mg/kg (169,0[142/198]s), 0,25mg/kg (134,0[105/165]s)) zeigen die Wildtypiere im Porsolt-Schwimmtest keine Veränderung der Immobilitätszeit im Vergleich zur NaCl-Kontrollgruppe (166,0[149/180]s, Abbildung 11 C).

Die transgenen Mäuse zeigen nach den Dosierungen von 0,04mg/kg (135,5[116/170]s) und 0,1mg/kg (185,0[144/204]s) 8-OH-DPAT keine Zunahme der Immobilitätszeit im Vergleich zu der NaCl-Kontrollgruppe (148,0[107/198]s). Nach der Applikation von 0,25mg/kg ist eine signifikant längere Immobilitätszeit (255,0[211/297]s) verzeichnet worden (Abbildung 11 C).

Im Open-field Test kann in keiner Dosierung, anders als bei den männlichen Tieren, eine Beeinträchtigung der Motorik, im Sinne einer signifikanten Abnahme der Strecke in keinem Genotyp gemessen werden. Auch nach Injektion einer vierfach höheren Dosierung (1mg/kg) als im Porsolt-Schwimmtest (0,25mg/kg) ist keine verminderte lokomotorische Aktivität zu verzeichnen gewesen (Abbildung 11 D).

Abbildung 11 A-D: Effekte von 8-OH-DPAT



Dargestellt sind die Immobilitätszeiten [s] im Porsolt-Schwimmtest (A und C) und die zurückgelegten Strecken [cm] im Open-field Test (B und D). Wildtypiere (WT) und transgene Tiere (TX) wurden mit 8-OH-DPAT (0,04 bis 0,75mg/kg i.p.) behandelt. Anzahl der Tiere (n). Box plots mit Median als durchgehende Linie, Mittelwert als gestrichelte Linie und 25./75. Perzentile. ANOVA on ranks gefolgt von Dunn´s Test, *p<0,05 vs. NaCl. Bedingt durch ein beschädigtes Videoband konnten jeweils nur vier männliche Tiere der 0,1mg/kg Dosierung im Porsolt-Schwimmtest nachausgewertet werden. Die Tiere wurden als Punkte dargestellt. Die Open-field Test-Daten sind bereits veröffentlicht (Bert et al, 2006).

3.3.1.1.2. Buspiron

Männliche Tiere (Abbildung 12 A, B)

Der partielle 5-HT_{1A}-Rezeptoragonist Buspiron wird in zwei Dosierungen (1mg/kg und 3mg/kg) im Porsolt-Schwimmtest und im Open-field Test getestet.

Zwischen den mit NaCl behandelten Kontrollgruppen beider Genotypen wird im Porsolt-Schwimmtest kein signifikanter Unterschied in der Immobilitätszeit gemessen (WT: 147,0[59/169]s, TX: 160,0[122/184]s).

Die Wildtyptiere zeigen nach der Applikation von 1mg/kg Buspiron keine Veränderung in der Immobilitätszeit (149,0[136/178]s). Nach der Applikation der 3mg/kg Dosierung ist eine signifikante Verlängerung der Immobilitätszeit zu verzeichnen (202,5[181/213]s, Abbildung 12 A).

Ähnlich dem Bild der Wildtyptiere, zeigen die transgenen Mäuse unter der niedrigen Dosis von Buspiron (156[123/177]s) keine Abweichung im Verhalten von dem ihrer Kontrollgruppe (160[122/184]s). In der höheren Dosis (3mg/kg) müssen acht Tiere von zwölf aus der Wertung genommen werden. Sie verdrehen seitlich ihre Torsos und lassen sich treiben. Die Haltung wird meist kurz nach Immersion eingenommen und selten für länger als 20 Sekunden unterbrochen. Diese Tiere sind weder vor noch nach dem Versuchsdurchlauf im Käfig auffällig gewesen.

Im Open-field Test führt Buspiron bei den Wildtyptieren in der 3mg/kg Dosierung im Vergleich zur Kontrollgruppe (3391[2904/3707]cm) zu einer signifikanten Abnahme der zurückgelegten Strecke (2211[1881/3022]s). Die niedrigere Dosierung hat keinen Einfluss auf die lokomotorische Aktivität (2996[1870/3772]s, Abbildung 12 B).

Im Gegensatz dazu ist bei den transgenen Tieren schon in der 1mg/kg Dosis (3009[1400/3310]cm) eine signifikante Reduzierung der Strecke zu verzeichnen. Auch in der höheren Dosierung (1935[1579/2579]cm) ist die zurückgelegte Strecke signifikant kürzer als in der Kontrollgruppe (4458[4193/4812]cm, Abbildung 12 B).

Weibliche Tiere (Abbildung 12 C, D)

Es werden dieselben Dosierungen des partiellen 5-HT_{1A}-Rezeptoragonisten Buspiron (1mg/kg und 3mg/kg) wie bei den männlichen Tieren getestet.

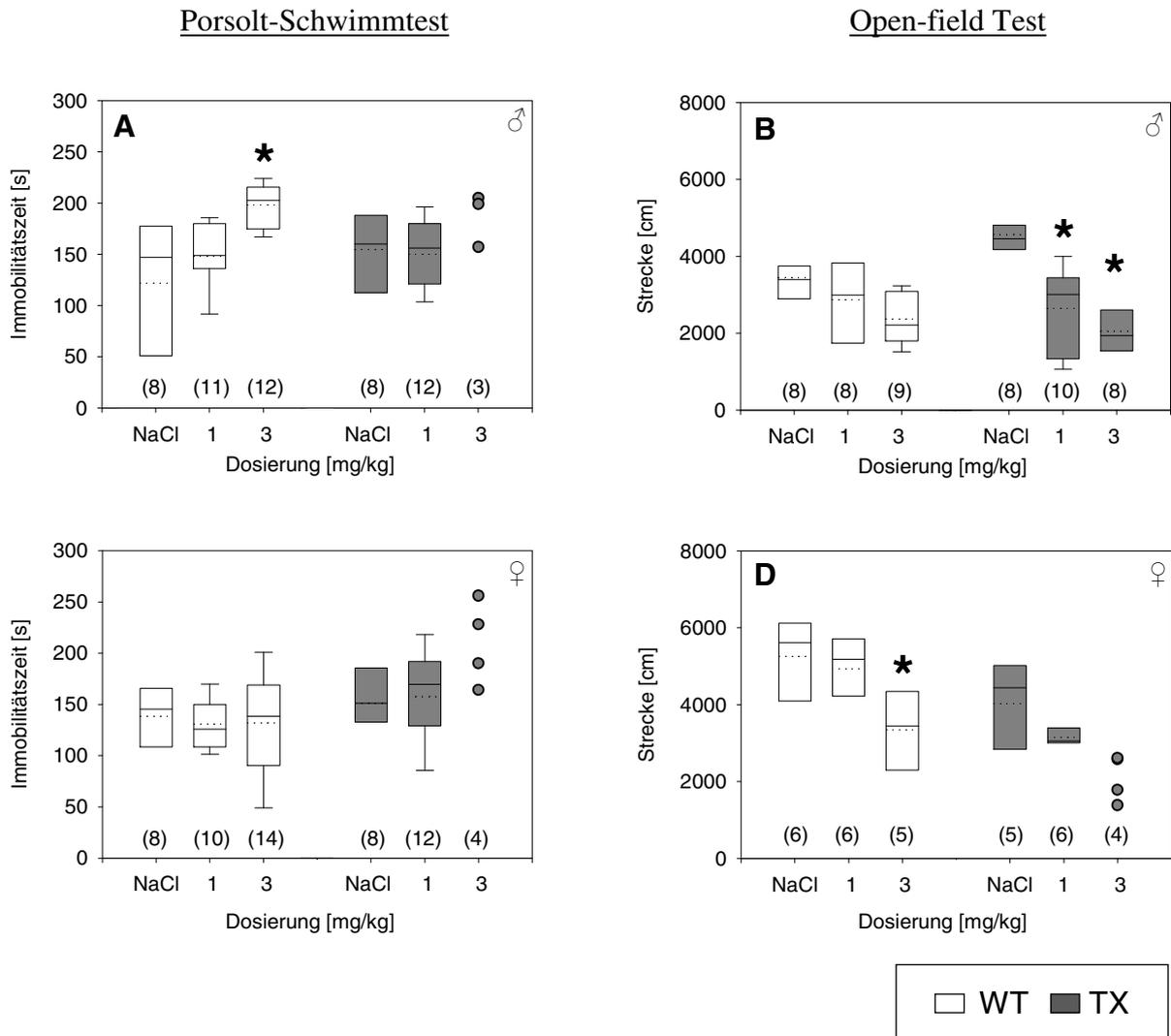
Im Porsolt-Schwimmtest ist kein Unterschied in den Immobilitätszeiten der Kontrolltiere beider Genotypen gemessen worden (Abbildung 12 C).

Die Schwimmzeiten der Wildtypiere werden durch Buspiron nicht beeinflusst.

Bei den weiblichen transgenen Mäusen zeigt sich ein dem der Männchen sehr ähnliches Bild. Auch hier müssen in der Gruppe der höheren Dosierung acht von zwölf Tieren, bedingt durch das oben beschriebene Schwimmverhalten, aus der Wertung genommen werden. Bei den vier übrigen Tiere deutet sich eine Tendenz zu einer verlängerten Immobilitätszeit, ähnlich der bei 8-OH-DPAT gesehen, an (Abbildung 12 C).

Im Open-field Test bewirkt Buspiron bei den Wildtypieren in der 3mg/kg Dosis (3446[2327/3973]cm) eine signifikante Abnahme der zurückgelegten Strecke, in der 1mg/kg Dosierung (5178[4533/5686]cm) ist noch kein Unterschied zur Kontrollgruppe (5619[4238/6048]cm) zu messen.

Die transgenen Mäuse legen unter der niedrigen Dosierung (3053[3013/3386]cm) eine kürzere Strecke zurück als die NaCl-Kontrollgruppe. Dieser Unterschied ist jedoch noch nicht signifikant (4444[2895/4857]cm). In der höheren (3mg/kg) wird diese Verkürzung deutlicher, konnte jedoch aufgrund der geringen n-Zahl nicht statistisch bewiesen werden (Abbildung 12 D).

Abbildung 12 A-D: Effekte von **Buspiron**

Dargestellt sind die Immobilitätszeiten [s] im Porsolt-Schwimmtest (**A** und **C**) und die zurückgelegten Strecken [cm] im Open-field Test (**B** und **D**). Männliche und weibliche Wildtypiere (WT) und transgene Tiere (TX) wurden mit Buspiron (1 und 3mg/kg i.p.) behandelt. Anzahl der Tiere (**n**). Box plots mit Median als durchgehende Linie, Mittelwert als gestrichelte Linie und 25./75. Perzentile. ANOVA on ranks gefolgt von Dunn's Test, * $p < 0,05$ vs. NaCl.

Wegen abartigen Schwimmverhaltens mussten je 7 weibliche und männliche TX von 10 bzw. 11 Tieren aus der Wertung genommen werden. Die restlichen Tiere wurden als Punkte dargestellt.

3.3.1.1.2. Citalopram

Männliche Tiere (Abbildung 13 A, B)

Der selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer Citalopram wird in zwei Dosierungen (5mg/kg und 10mg/kg) an beiden Genotypen getestet.

Die Immobilitätszeiten der Kontrollgruppen (NaCl) beider Genotypen unterscheiden sich auch in dieser Versuchsreihe nicht (Abbildung 13 A).

Bei den Wildtyp- und den transgenen Tieren bedingt die Applikation beider getesteten Dosierungen von Citalopram eine signifikante Abnahme der Immobilitätszeit (WT: NaCl: 158,5[150/184]s, 10mg/kg: 100,0[78/150]s, TX: NaCl: 195,0[170/211]s, 10mg/kg: 59,5[50/76]s, Abbildung 13 A).

Im Open-field Test legen die Wildtypmäuse nach der Injektion von 5mg/kg Citalopram eine signifikant längere Strecke (6312[6071/6657]cm) zurück als die Kontrolltiere (4757[3615/4836]cm, Abbildung 13 B). Dieser Effekt ist bei den transgenen Mäusen nicht zu beobachten. Die zurückgelegte Strecke ist selbst unter dem Einfluss von 10mg/kg Citalopram (5316[4674/5814]cm) kaum größer als in der NaCl-Kontrollgruppe (4472[3830/5020]cm, Abbildung 13 B).

Weibliche Tiere (Abbildung 13 C, D)

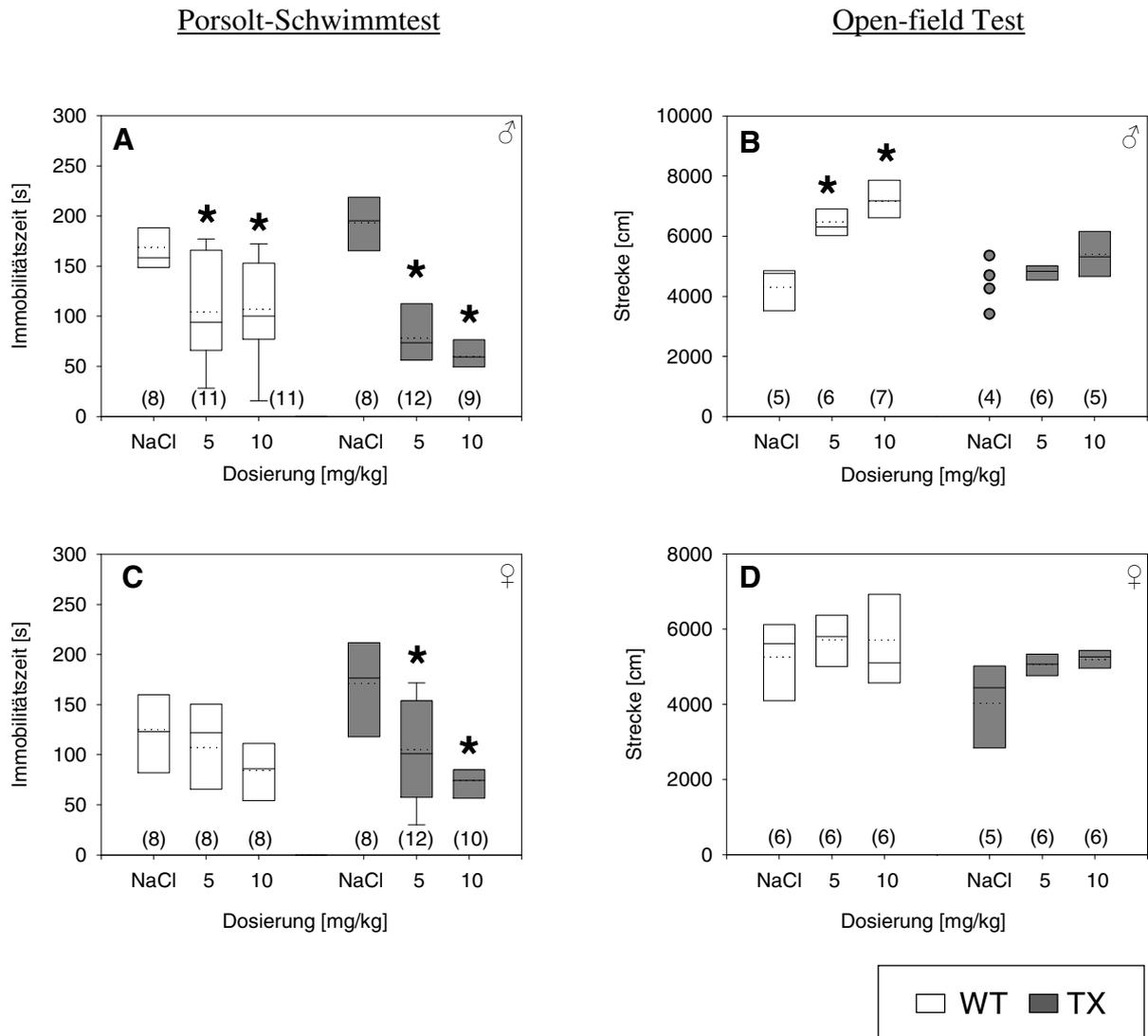
Bei den weiblichen Tieren wurden dieselben Dosierungen (5mg/kg und 10mg/kg) wie bei den männlichen Tieren getestet.

Anders als bei den Männchen haben die getesteten Dosierungen bei den weiblichen Wildtyptieren keinen signifikanten Einfluss auf die Immobilitätszeit (Abbildung 13 C).

In der Gruppe der transgenen Mäuse wird hingegen schon nach der Dosierung von 5mg/kg (101,0[64/152]s) eine signifikante Abnahme der Immobilitätszeit im Vergleich zu den NaCl-Kontrolltieren (176,5[128/206]s) gemessen (Abbildung 13 C).

Im Open-field Test unterscheidet sich das Verhalten der Weibchen von denen der Männchen. Hier ist weder bei den Wildtyp- noch bei den transgenen Tieren eine signifikante Veränderung der zurückgelegten Strecke nach Citalopram-Injektion gemessen worden (Abbildung 13 D).

Abbildung 13 A-D: Effekte von Citalopram



Dargestellt sind die Immobilitätszeiten [s] im Porsolt-Schwimmtest (A und C) und die zurückgelegten Strecken [cm] im Open-field Test (B und D). Männliche und weibliche Wildtypiere (WT) und transgene Tiere (TX) wurden mit Citalopram (5 und 10mg/kg i.p.) behandelt. Anzahl der Tiere (n). Box plots mit Median als durchgehende Linie, Mittelwert als gestrichelte Linie und 25./75. Perzentile. ANOVA on ranks gefolgt von Dunn's Test, *p<0,05 vs. NaCl.

3.3.1.1.4. Reboxetin

Männliche Tiere (Abbildung 14 A)

Es werden die Wirkungen von drei Dosierungen des selektiven Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmers Reboxetin (10mg/kg, 20mg/kg und 40mg/kg) auf das Verhalten Mäuse beider Genotypen untersucht.

In den mit NaCl behandelten Kontrollgruppen wird kein Unterschied in den Immobilitätszeiten der Genotypen gemessen.

Weder in der Wildtypgruppe noch bei den transgenen Tieren kann ein signifikanter Effekt von Reboxetin auf das Schwimmverhalten der Mäuse nachgewiesen werden. Eine Tendenz zur Verkürzung der Immobilitätszeit wird bei den Wildtyptieren in den Dosierungen 20mg/kg und 40mg/kg gemessen (NaCl: 146,5[72/185]s, 20mg/kg: 94,0[64/151]s, Abbildung 14 A).

Da nach der Applikation von 40mg/kg die Tiere schon im Käfig fast bewegungslos sind, war das Testen einer noch höheren Dosierung, um die Tendenz bestätigt zu sehen, nicht sinnvoll.

Auf die Untersuchung der Tiere im Open-field wurde verzichtet.

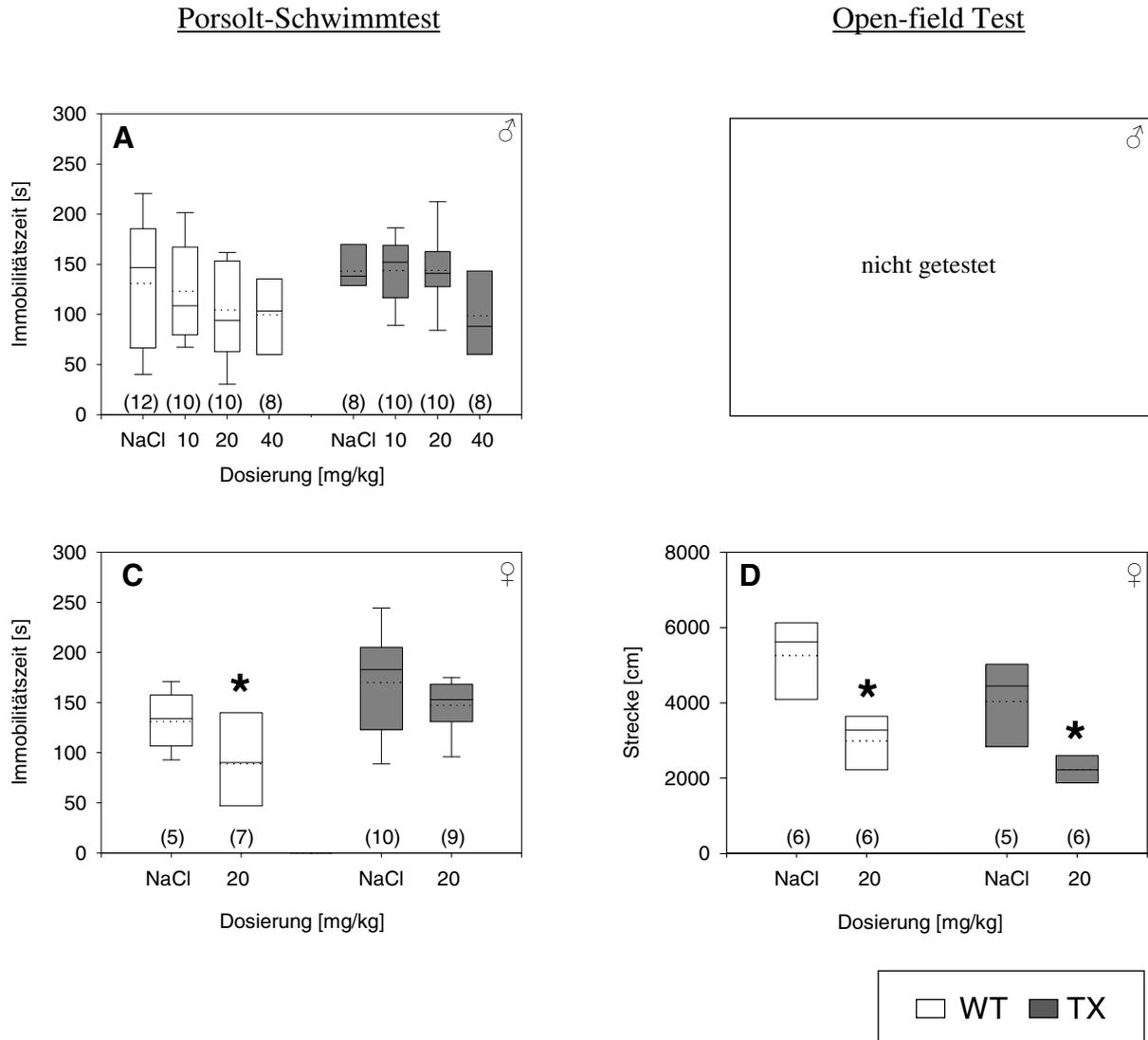
Weibliche Tiere (Abbildung 14 C, D)

An den weiblichen Tieren wird nur die 20mg/kg Dosierung Reboxetin getestet, da diese bei den Männchen zu einer deutlichen, wenn auch nicht signifikanten Verminderung der Immobilitätszeit bei den Wildtyptieren geführt hat.

Bei den Weibchen ist nach der Applikation von 20mg/kg Reboxetin in der Wildtypiergruppe eine signifikante Abnahme der Immobilitätszeit festgestellt worden. Dieser Effekt bleibt bei den transgenen Tieren aus (Abbildung 14 C).

Im Open-field Test verursacht die Substanzgabe bei beiden Genotypen eine signifikante Reduzierung der zurückgelegten Strecken (Abbildung 14 D).

Abbildung 14 A-D: Effekte von **Reboxetin**



Dargestellt sind die Immobilitätszeiten [s] im Porsolt-Schwimmtest (**A** und **C**) und die zurückgelegten Strecken [cm] im Open-field Test (**D**). Männliche und weibliche Wildtypiere (WT) und transgene Tiere (TX) wurden mit Reboxetin (10 bis 40mg/kg i.p.) behandelt. Anzahl der Tiere (**n**). Box plots mit Median als durchgehende Linie, Mittelwert als gestrichelte Linie und 25./75. Perzentile. ANOVA on ranks gefolgt von Dunn's Test, * $p < 0,05$ vs. NaCl.

3.3.1.1.5. Tianeptin

Männliche Tiere (Abbildung 15 A, B)

Von dem atypischen Antidepressivum Tianeptin, dem Serotonin Wiederaufnahmeverstärker, werden zwei Dosierungen (10mg/kg und 20mg/kg) getestet. Im Open-field Test wird die effektive Dosis des Porsolt-Schwimmtests untersucht.

Zwischen den Kontrollgruppen beider Genotypen wird kein signifikanter Unterschied in der Immobilitätszeit gemessen.

Bei den Wildtypen ist im Vergleich mit den NaCl-Kontrolltieren (122,5[117/134]s) eine deutliche Verkürzung der Immobilitätszeit nach der Applikation von 10mg/kg Tianeptin zu verzeichnen (102,5[78/142]s). Diese Abnahme ist in der 20mg/kg Dosierung signifikant (74,5[52/88]s, Abbildung 15 A).

Bei den transgenen Tieren hingegen kann in keiner der getesteten Dosierungen eine Verkürzung der Immobilitätszeit im Vergleich zur Kontrollgruppe gemessen werden.

Im Open-field Test wird nach der Gabe von 20mg/kg in keinem der beiden Genotypen eine Veränderung der Strecke unter dem Einfluss von Tianeptin nachgewiesen (Abbildung 15 B).

Weibliche Tiere (Abbildung 15 C, D)

Es werden drei Dosierungen (10mg/kg, 20mg/kg und 30mg/kg) Tianeptin im Porsolt-Schwimmtest an den weiblichen Mäusen untersucht, die höchste anschließend im Open-field Test.

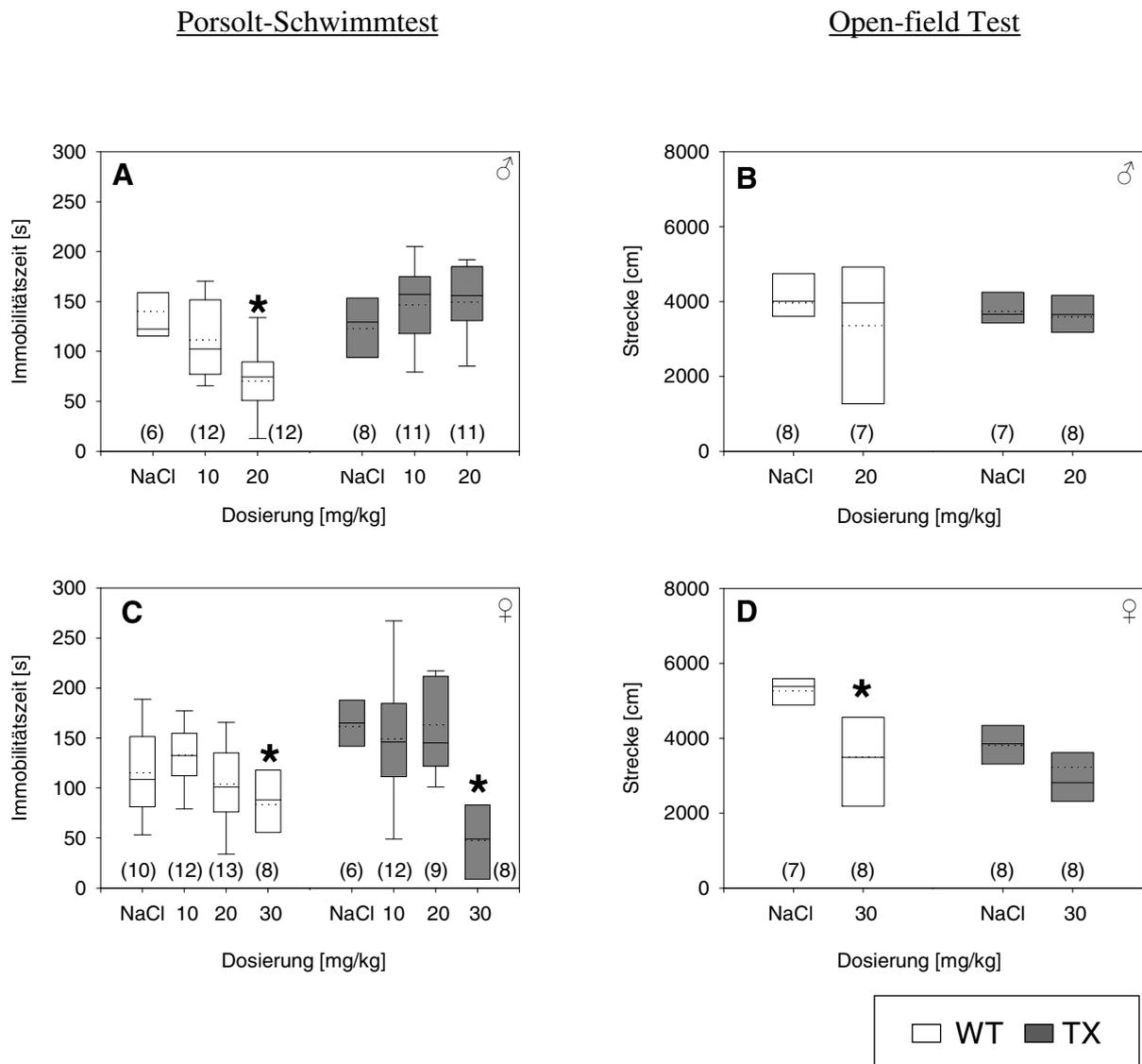
Die Applikation von Tianeptin bewirkt bei den Wildtypen ab der 20mg/kg Dosierung eine Abnahme der Immobilitätszeit (NaCl: 108,5[90/149]s, 20mg/kg: 101,0[82/133]s), die aber im Gegensatz zu den Männchen hier noch nicht signifikant ist. Eine signifikante Verkürzung der Immobilitätszeit wird in der 30mg/kg Gruppe der Wildtypen gemessen (88,0[59/114]s, Abbildung 15 C).

Bei den transgenen Tieren findet sich das gleiche Bild wie bei den Wildtypen wieder (NaCl: 165,0[154/185]s). Die zwei niedrigen Dosierungen (10mg/kg (146,0[117/177]s) und 20mg/kg (145,0[129/211]s)) bewirken noch keine Reduzierung der Immobilitätszeit, die höchste, 30mg/kg ruft eine signifikante Abnahme hervor (49,0[17/81]s, Abbildung 15 D).

Im Open-field Test bedingt die Applikation von Tianeptin (30mg/kg) bei den Wildtyptieren eine signifikante Verkürzung der zurückgelegten Strecke im Vergleich zu den NaCl-Kontrolltieren.

Bei den transgenen Mäusen ist dieser Effekt von Tianeptin nicht nachweisbar gewesen.

Abbildung 15 A-D: Effekte von Tianeptin



Dargestellt sind die Immobilitätszeiten [s] im Porsolt-Schwimmtest (A und C) und die zurückgelegten Strecken [cm] im Open-field Test (B und D). Männliche und weibliche Wildtyptiere (WT) und transgene Tiere (TX) wurden mit Tianeptin (10 bis 30mg/kg i.p.) behandelt. Anzahl der Tiere (n). Box plots mit Median als durchgehende Linie, Mittelwert als gestrichelte Linie und 25./75. Perzentile. ANOVA on ranks gefolgt von Dunn's Test, *p<0,05 vs. NaCl.

3.3.1.2. Sucrose-preference Test

Im Sucrose-preference Test soll überprüft werden, ob die Tiere mit der 5-HT_{1A}-Rezeptorüberexpression sich in ihrem hedonischen Verhalten von dem der Wildtypiere in einem motorikunabhängigen Modell unterscheiden. Als Stressreiz werden die Tiere einzeln gehalten. Der Versuch wird nach einem (mit 1%iger Saccharoselösung) und nach drei Monaten (mit 2%iger Saccharoselösung) Isolation durchgeführt.

Der durchschnittliche Tageskonsum über die drei Versuchstage liegt bei den Wildtypieren deutlich über dem der transgenen Tiere. Unter Berücksichtigung der durchschnittlichen Körpergewichte trinken die Wildtypiere nach einem Monat in Einzelhaltung 200g pro Kilogramm Körpergewicht, die transgenen Tiere nur 158g/kg KG. Nach drei Monaten fällt der Konsum auf 115g/kg KG bei den Wildtypieren, 96g/kg KG bei den transgenen (Mittelwerte).

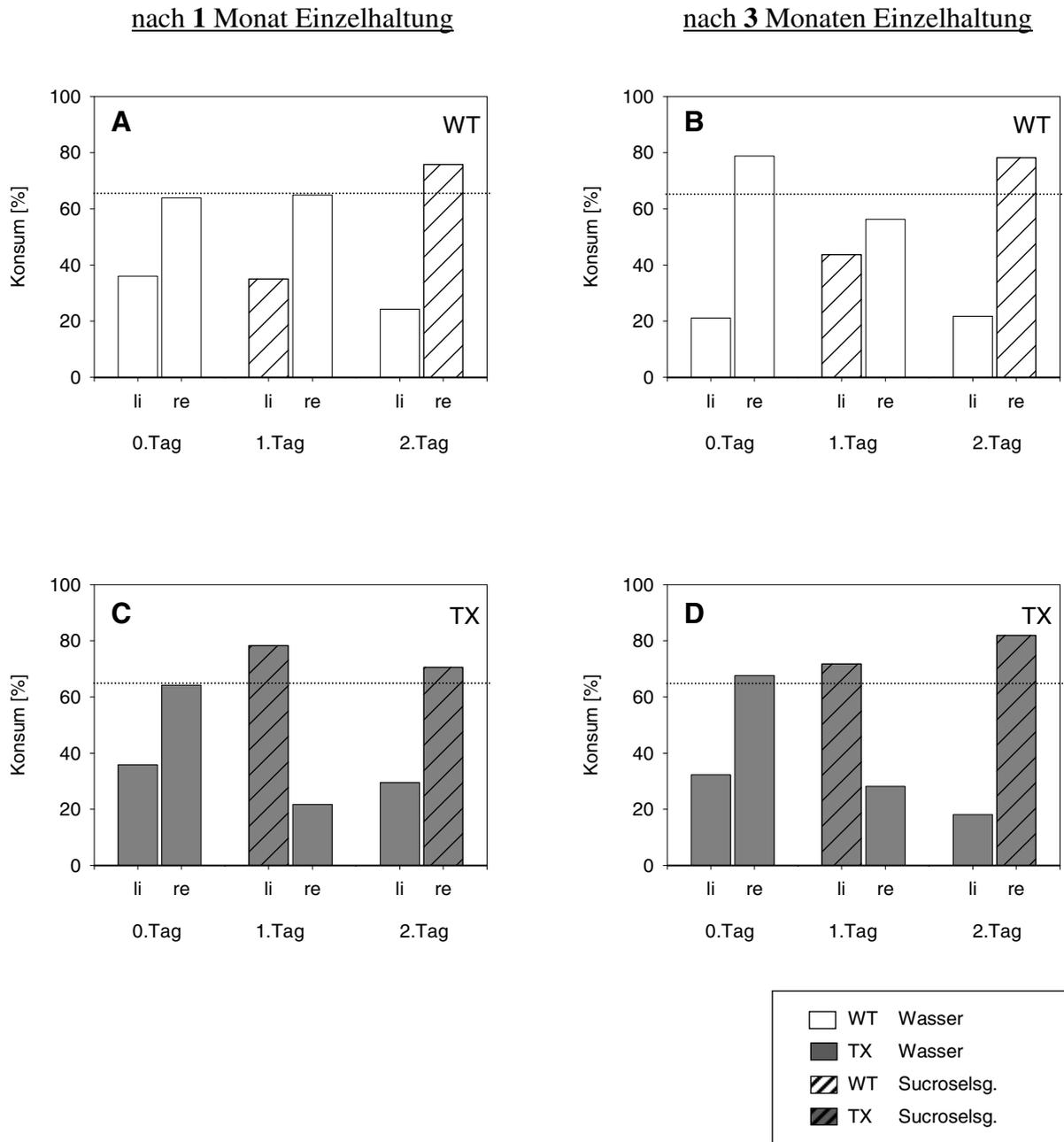
Nach einem Monat Einzelhaltung (Abbildung 16 A, C) wird am Tag der Habituation (0. Tag) den Tieren erstmals aus zwei Flaschen Wasser angeboten. Die Tiere beider Genotypen trinken zwar vermehrt aus der rechten Wasserflasche (WT: 64%, TX: 65%), die auf der gewohnten Seite liegt, benutzen aber auch die linke Flasche (WT: 36%, TX:35%).

Am ersten Versuchstag trinken die Wildtypiere weniger Zuckerlösung (35%) als Wasser (65%). Die transgenen Mäuse hingegen trinken mit 79% deutlich bevorzugt die Zuckerlösung (Wasser 21%).

Am zweiten Tag lag die Zuckerwasserflasche auf der rechten Seite. Beide Genotypen trinken in vergleichbarer Menge bevorzugt aus dieser.

Nach drei Monaten Einzelhaltung (Abbildung 16 B, D) verändert sich das Bild nicht. Am ersten Versuchstag trinken die transgenen Tiere mehr 2%ige Zuckerlösung (71%) als Wasser (29%). Im Gegensatz dazu trinken die Wildtypiere am ersten Tag deutlich weniger Zuckerlösung (43%) als Wasser (57%).

Abbildung 16 A-D: Sucrose-preference Test

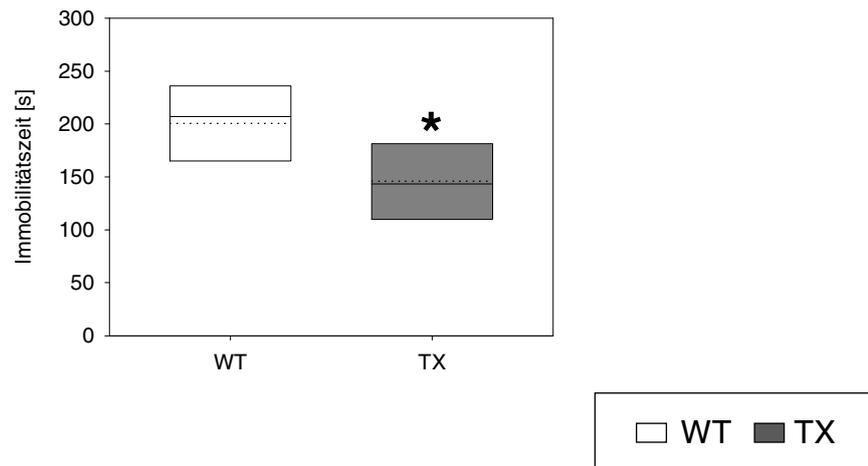


Dargestellt sind Mittelwerte der prozentualen Aufnahmen (Konsum in [%]) aus den Flaschen links (li) und rechts (re) im Sucrose-preference Test. Wildtypiere (WT) und transgene Tiere (TX) wurden bis zum 2. Versuchstag einen bzw. drei Monate einzeln gehalten. Ab dem 0. Tag wurden zwei Flaschen angeboten. Anzahl der Tiere $n=6$ männliche Tiere je Genotyp.

Die 65%-Marke ist als gestrichelte Linie dargestellt.

Zur Rücksicherung des im Sucrose-preference Test gefundenen Phänotyps wurde der Porsolt-Schwimmtest durchgeführt (Abbildung 17). Die Immobilitätszeit der transgenen Tiere (143[112/182]s) war signifikant kürzer als die der Wildtypiere (207[163/239]s).

Abbildung 17: Porsolt-Schwimmtest



Dargestellt sind die Immobilitätszeiten [s] im Porsolt-Schwimmtest unbehandelter männlicher Wildtypiere (WT) und transgener Tiere (TX) die zuvor im Sucrose-preference Test untersucht wurden. Anzahl der Tiere ($n=6$). Box plots mit Median als durchgehende Linie, Mittelwert als gepunktete Linie und 25./75. Perzentile. Student t-Test, $*p<0,05$.

3.3.2. Untersuchungen zur Auswirkung von Stress

3.3.2.1. Radiotelemetrie

Die Technik der Radiotelemetrie ermöglicht es, Daten zur Körpertemperatur und Aktivität zu gewinnen, die von der Versuchsdurchführung, der Manipulation des Experimentators, so gut wie unbeeinflusst sind. Die Körperinnentemperatur ist ein sehr sensibler Indikator für Stress bei Nagern.

Aus dem Vergleich der Temperaturverläufe beider Genotypen, dem Wildtyp und dem 5-HT_{1A}-Rezeptor überexprimierenden, sollen Rückschlüsse auf mögliche Zusammenhänge zwischen Stress und Effekten, die durch diesen Rezeptor vermittelt werden, gezogen werden.

3.3.2.1.1. Wochenwerte

Um einen Überblick über die Tagesrhythmik der Mäuse zu gewinnen wird zunächst über sieben Tage ununterbrochen aufgezeichnet.

Temperatur (Abbildung 18 A)

Mittags ist über 7 Tage die niedrigste Temperatur (ca. 36°C) gemessen worden, um Mitternacht, die höchste (ca. 38°C). Täglich ist zwischen 8 und 10 Uhr ein Peak von ca. 1°C über 2h verzeichnet worden.

In der Darstellung der Körpertemperatur ist deutlich zu erkennen, dass die Werte der transgenen Tiere (graue Dreiecke) fast immer unter denen der Wildtypiere (weiße Kreise) liegen. Beide Kurven bewegen sich in einer Temperaturspanne zwischen 35,5°C und 38,5°C. In dem Vergleich der Fläche unter der Kurve (AUC) des beispielhaften 2. Tages (24h) ist kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Genotypen festgestellt worden (AUC: TX: 52182,9±397,2, WT: 52999,6±495,3).

Aktivität (Abbildung 18 B)

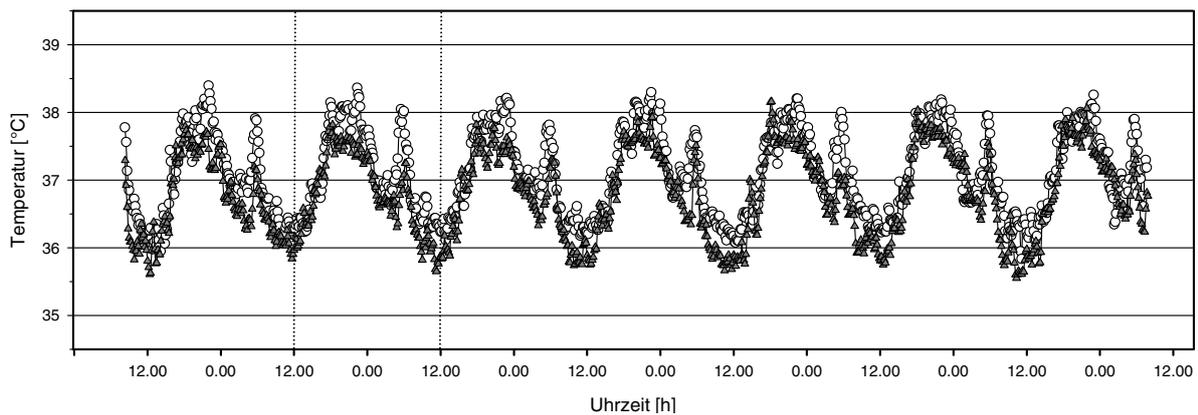
Die oben beschriebene Rhythmik ist in demselben Muster in der Aufzeichnung der Aktivität zu erkennen. Zur Mittagszeit ist keine Aktivität gemessen worden, nachts haben sich die Mäuse stark bewegt. Auch in der Aufzeichnung der Aktivität ist der kleine Vormittagspeak (siehe oben) zu finden.

Grundsätzlich liegt die Kurve der transgenen Tiere (graue Dreiecke) auch hier unter der der Wildtypiere (weiße Kreise). Die Fläche unter der Kurve des zweiten Tages unterscheidet sich

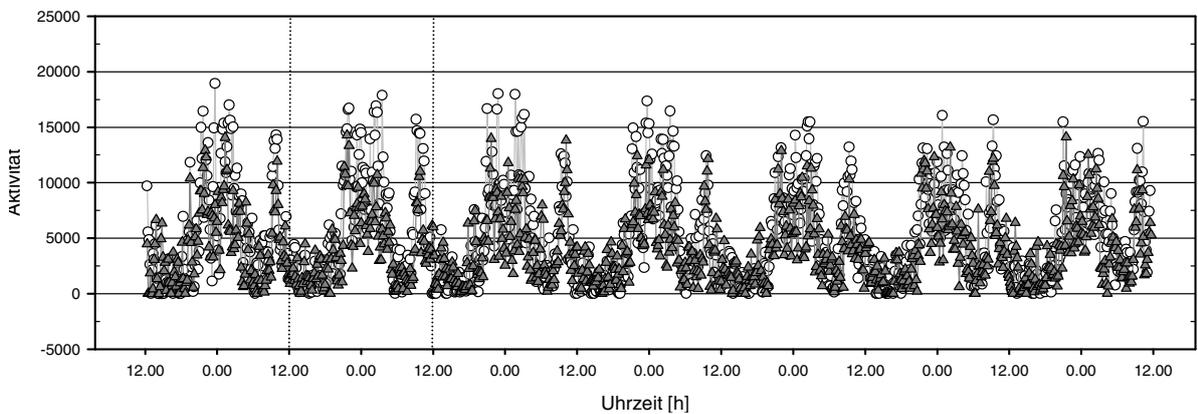
signifikant (AUC: TX: 5781190 ± 675404 , WT: 8357137 ± 584773 , $p = 0,012$, $t = 2,8834$). Die transgenen Tiere sind signifikant weniger aktiv als die Wildtypiere.

Abbildung 18 A, B: Wochenwerte

A: Temperatur



B: Aktivität



○ WT ▲ TX

Dargestellt sind die Mittelwerte der Temperatur und Aktivität der Aufzeichnung über sieben Tage von männlichen Wildtypieren (WT) und transgenen Tieren (TX). **N=8 je Genotyp**. Die zwei gepunkteten Linien begrenzen den Abschnitt des 2. Tages.

3.3.2.1.2. Stressreize

Nach der Aufzeichnung des Grundrhythmus der Tiere, werden sie einzelnen Stressreizen ausgesetzt.

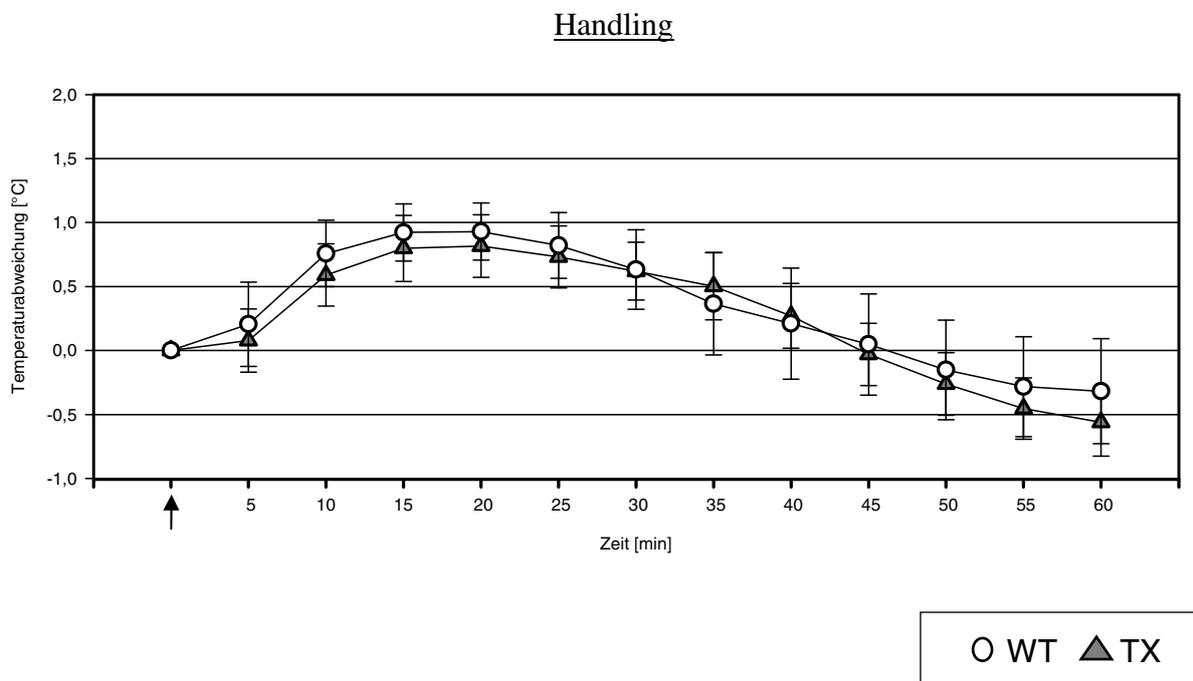
Handling (Abbildung 19)

Als erstes werden die Auswirkungen des Handlings untersucht. Nach dem Handling wird 60 Minuten aufgezeichnet. Der Basiswert (Mittelwert, siehe 3.2.3.) liegt bei 37,3°C bei den Wildtyptieren und 36,9°C bei den transgenen Tieren.

Die Temperaturverläufe beider Genotypen unterscheiden sich kaum. Die Kurven sind fast deckungsgleich, der Temperaturanstieg der transgenen Tiere ist weniger ausgeprägt als der der Wildtypiere. Innerhalb von 20 Minuten wird ein Maximum erreicht, nach 45 Minuten ist die Temperatur wieder auf den Ausgangswert gefallen.

Die Flächen unter den Kurven (AUC) sind statistisch nicht signifikant unterschiedlich.

Abbildung 19: Aufzeichnung über 60 Minuten



Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SEM der Temperaturabweichungen männlicher Wildtypiere (WT), $n=6$, und transgener Mäuse (TX), $n=8$, nach dem Handling (\uparrow).

NaCl-/NaCl-Injektion (Abbildung 20)

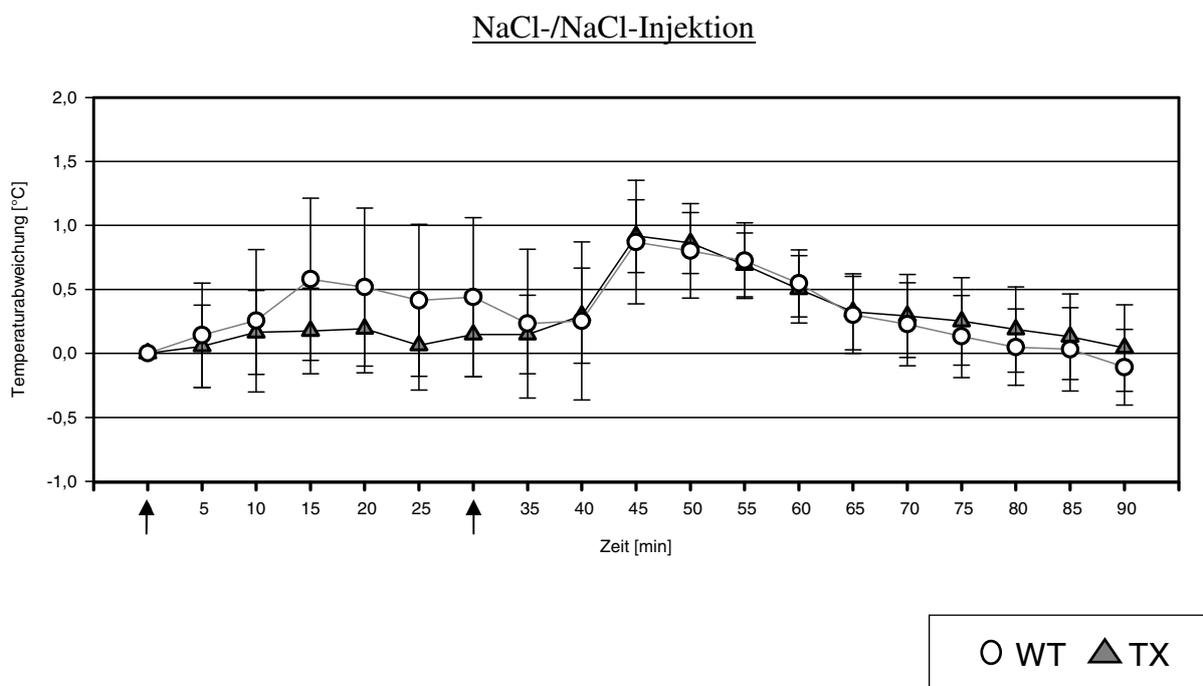
Um die Auswirkungen des Injektionsstresses zu untersuchen werden den Tieren im Abstand von 30 Minuten zweimal NaCl-Lösung i.p. injiziert. Nach der zweiten Injektion wird 60 Minuten aufgezeichnet. Der Basiswert (siehe S. 62) liegt bei 36,8°C bei den Wildtyptieren und 36,6°C bei den transgenen Tieren.

Es ist ein deutlicher Unterschied im Verlauf der beiden Kurven nach der ersten Injektion erkennbar. Die Wildtyptiere reagieren innerhalb von 15 Minuten mit einem Temperaturanstieg über 0,5°C und fallen in den anschließenden 15 Minuten fast wieder auf den Ausgangswert. Bei den transgenen Tieren hingegen ist kaum eine Abweichung vom Basiswert nach der Injektion zu erkennen.

Nach der zweiten Injektion ist bei beiden Genotypen ein fast identischer Kurvenverlauf sichtbar. Die Temperatur steigt in 15 Minuten um fast 1°C an und fällt in 45 Minuten langsam wieder auf den Ausgangswert.

Statistisch ist kein Unterschied in den Flächen unter den Kurven nachweisbar (bis zur 30. Minute und ab der 30. Minute bis zur 90. Minute getrennt betrachtet).

Abbildung 20: Aufzeichnung über 90 Minuten



Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SEM der Temperaturabweichungen vom Basiswert männlicher Wildtypiere (WT), $n=5$, und transgener Mäuse (TX), $n=7$, nach zwei NaCl-Injektionen (\uparrow).

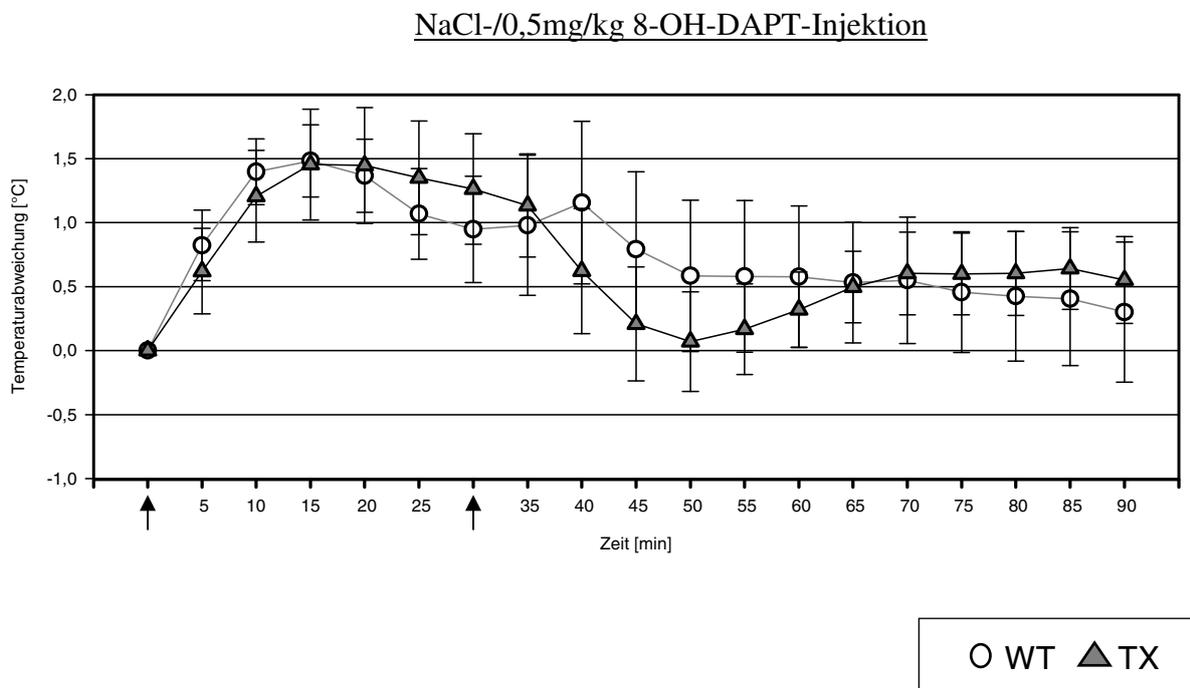
NaCl-/0,5mg/kg 8-OH-DPAT-Injektion (Abbildung 21)

Die beiden Injektionen werden im Abstand von 30 Minuten appliziert, anschließend wird 60 Minuten lang aufgezeichnet. Der Wert der Vorlaufzeit der gleich null gesetzt wird liegt bei 38,0°C bei den Wildtyptieren und 37,8°C bei den transgenen Tieren.

Nach der NaCl-Injektion steigt die Temperatur bei beiden Gruppen innerhalb von 15 Minuten auf über 1,5°C. Bei den Wildtyptieren sinkt die Temperatur in den nächsten 15 Minuten um 0,5°C. Die Temperatur der transgenen Tiere bleibt auf dem Plateau.

Nach Injektion von 0,5mg/kg des 5-HT_{1A}-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT, fällt die Temperatur der transgenen Mäuse innerhalb von 20 Minuten um 1°C wieder fast auf den Ausgangswert. Der hypotherme Effekt von 8-OH-DPAT bei den transgenen Tieren wurde bereits mittels rektaler Temperaturmessung beschrieben (siehe 3.1.1.). Bei den Wildtyptieren ist dagegen ein erst bei höherer Dosierung einsetzender Temperaturabfall gemessen worden. Statistisch ist kein Unterschied in den Flächen unter den Kurven nachweisbar (bis zur 30. Minute und ab der 30. Minute bis zur 90. Minute getrennt betrachtet).

Abbildung 21: Aufzeichnung über 90 Minuten



Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SEM der Temperaturabweichungen männlicher Wildtypiere (WT), $n=5$, und transgener Mäuse (TX), $n=7$, nach einer NaCl- (erster \uparrow) und einer 0,5mg/kg 8-OH-DPAT-Injektion (zweiter \uparrow).

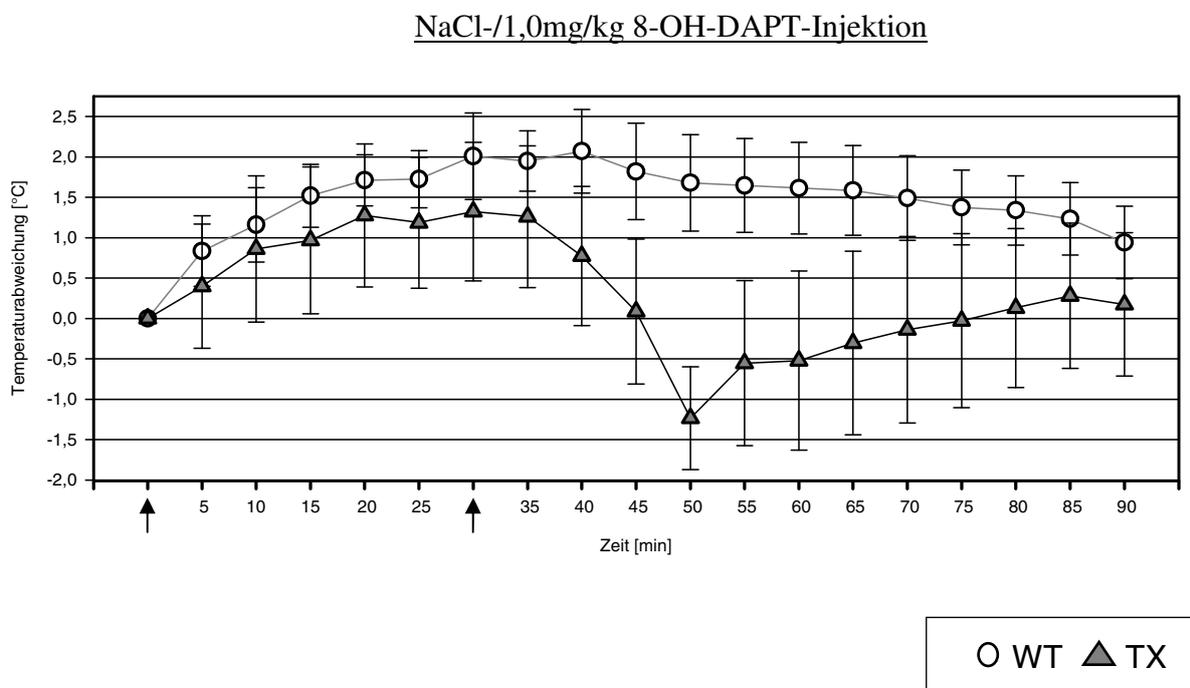
NaCl-/1mg/kg 8-OH-DPAT-Injektion (Abbildung 22)

Das Aufzeichnungsprotokoll ist dasselbe wie bei der 0,5mg/kg Dosierung 8-OH-DPAT. Der Wert der Vorlaufzeit der gleich null gesetzt wird liegt bei 38,4°C bei den Wildtyptieren und 37,1°C bei den transgenen Tieren.

Im vierten Versuchsdurchlauf steigt die Durchschnittstemperatur der transgenen Tiere nach der NaCl-Injektion langsamer und nicht so hoch wie die der Vergleichsgruppe um etwa 1°C. Nach Gabe des Rezeptoragonisten (1mg/kg) fällt die Körpertemperatur der transgenen Tiere rapide innerhalb von 20 Minuten um mehr als 2°C ab, mehr als 1°C unter den Basiswert. Am Ende der Versuchszeit ist der Ausgangswert wieder erreicht. Im Kontrast dazu steigt die Temperatur der Wildtyptiere nach der 8-OH-DPAT-Injektion sogar noch leicht an (0,5°C), um dann langsam in einer Stunde um ein Grad zu fallen. Zum Ende der Versuchszeit ist der Wert der Wildtyptiere noch nicht wieder auf dem Ausgangsniveau.

Statistisch ist kein Unterschied in den Flächen unter den Kurven nachweisbar (bis zur 30. Minute und ab der 30. Minute bis zur 90. Minute getrennt betrachtet).

Abbildung 22: Aufzeichnung über 90 Minuten



Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SEM der Temperaturabweichungen männlicher Wildtyptiere (WT), $n=5$, und transgener Mäuse (TX.), $n=5$, nach einer NaCl- (erster \uparrow) und einer 1,0mg/kg 8-OH-DPAT-Injektion (zweiter \uparrow).

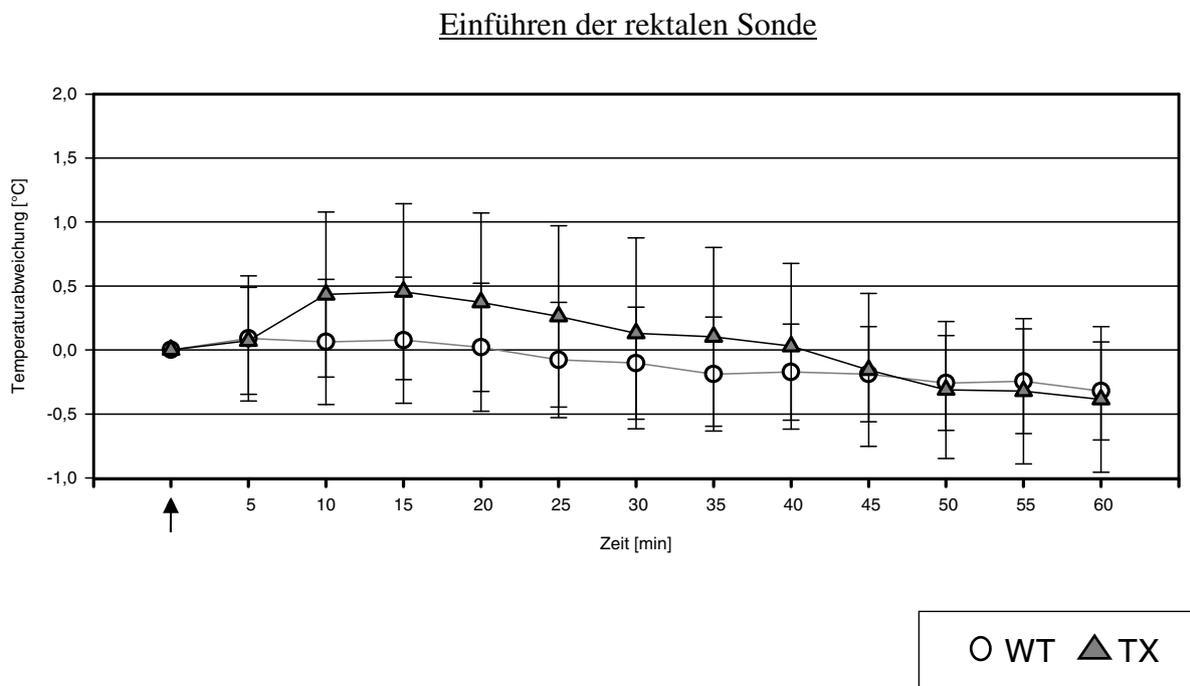
Einführen der rektalen Sonde (Abbildung 23)

Das letzte Protokoll sieht vor, die Auswirkungen rektaler Temperaturmessung auf die Körpertemperatur zu erfassen. Nach dem Einführen der rektalen Sonde wird über 60 Minuten aufgezeichnet. Der Wert der Vorlaufzeit der gleich null gesetzt wird liegt bei 37,4°C bei den Wildtyptieren und 37,1°C bei den transgenen Tieren.

In beiden Genotypen ist nur ein sehr geringer (+0,5°C) Temperaturanstieg gemessen worden. Beide Kurven verlaufen fast deckungsgleich.

Statistisch ist kein Unterschied in den Flächen unter den Kurven nachweisbar.

Abbildung 23: Aufzeichnung über 60 Minuten



Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SEM der Temperaturabweichungen männlicher Wildtyptiere (WT), $n=5$, und transgener Mäuse (TX.), $n=4$, nach dem Einführen einer rektalen Sonde (\uparrow).

3.3.3. Geschlechterdifferenzen

3.3.3.1. Rezeptorautoradiographie

Mit Hilfe der Rezeptorautoradiographie soll vergleichend die geschlechterspezifische Verteilung des 5-HT_{1A}-Rezeptors bei Wildtyptieren und transgenen Tieren in Cortex und Hippocampus untersucht werden. Es wird die spezifische Bindung des mit Tritium markierten 5-HT_{1A}-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT [fmol/mg] in zwei Ebenen (Bregma 1,56 bis 1,66 und -2,06 bis -2,16) bestimmt.

Cortex (Abbildung 23 A-D, Tabelle 5)

Die Überexpression des 5-HT_{1A}-Rezeptors wird in fünf Subregionen des Cortex quantifiziert: im retrosplenialen, parietalen, frontoparietalen, piriformen Cortex und im Claustrum. Die Überexpression bedingt bei den transgenen Tieren beider Geschlechter eine signifikant höhere spezifische Bindung von [³H]8-OH-DPAT in sämtlichen untersuchten Strukturen des Cortex (Abbildung B, D: 1, 2, 3, 6, 7).

Im Vergleich der Geschlechter ist bei den weiblichen Wildtyptieren in zwei Regionen, dem parietalen Cortex (pCTX, Abbildung 23 C, 7) und im Claustrum (CE, Abbildung 23 C, 2) die spezifische Bindung von [³H]8-OH-DPAT signifikant höher als bei den männlichen Wildtyptieren.

Bei den transgenen Weibchen ist gegenüber den Männchen nur im parietalen Cortex (Abbildung 23 D, 7) die spezifische Bindung des radioaktiven Liganden signifikant höher (siehe Tabelle 5).

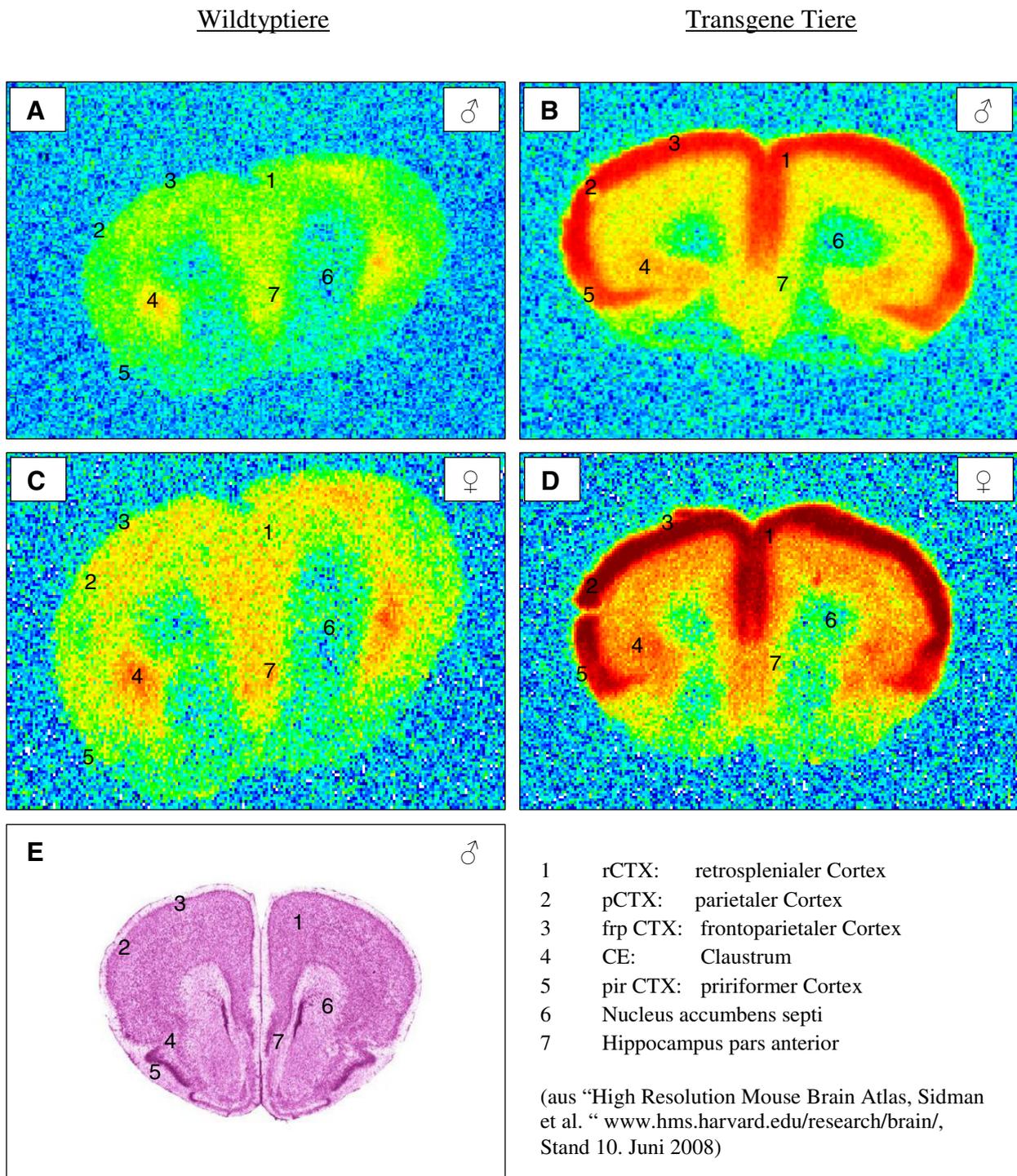
Hippocampus (Abbildung 24 A-D, Tabelle 5)

Die Überexpression des 5-HT_{1A}-Rezeptors wird in fünf Subregionen des Hippocampus quantifiziert: CA1-3 des Ammonshorns, dem Gyrus dentatus und der Tenia tecta. Die Überexpression bedingt bei den transgenen Tieren beider Geschlechter eine höhere spezifische Bindung von [³H]8-OH-DPAT in der CA3 (Abbildung 24 B, D, 3) und in der Tenia tecta (Abbildung 24 B, D, 5) des Hippocampus.

Im Vergleich der Geschlechter ist bei den weiblichen Wildtyptieren in zwei Regionen, dem Gyrus dentatus (DG, Abbildung 24 C, 4) und in der Tenia tecta (TT, Abbildung 24 C, 5) die spezifische Bindung von [³H]8-OH-DPAT signifikant höher als bei den männlichen Wildtyptieren.

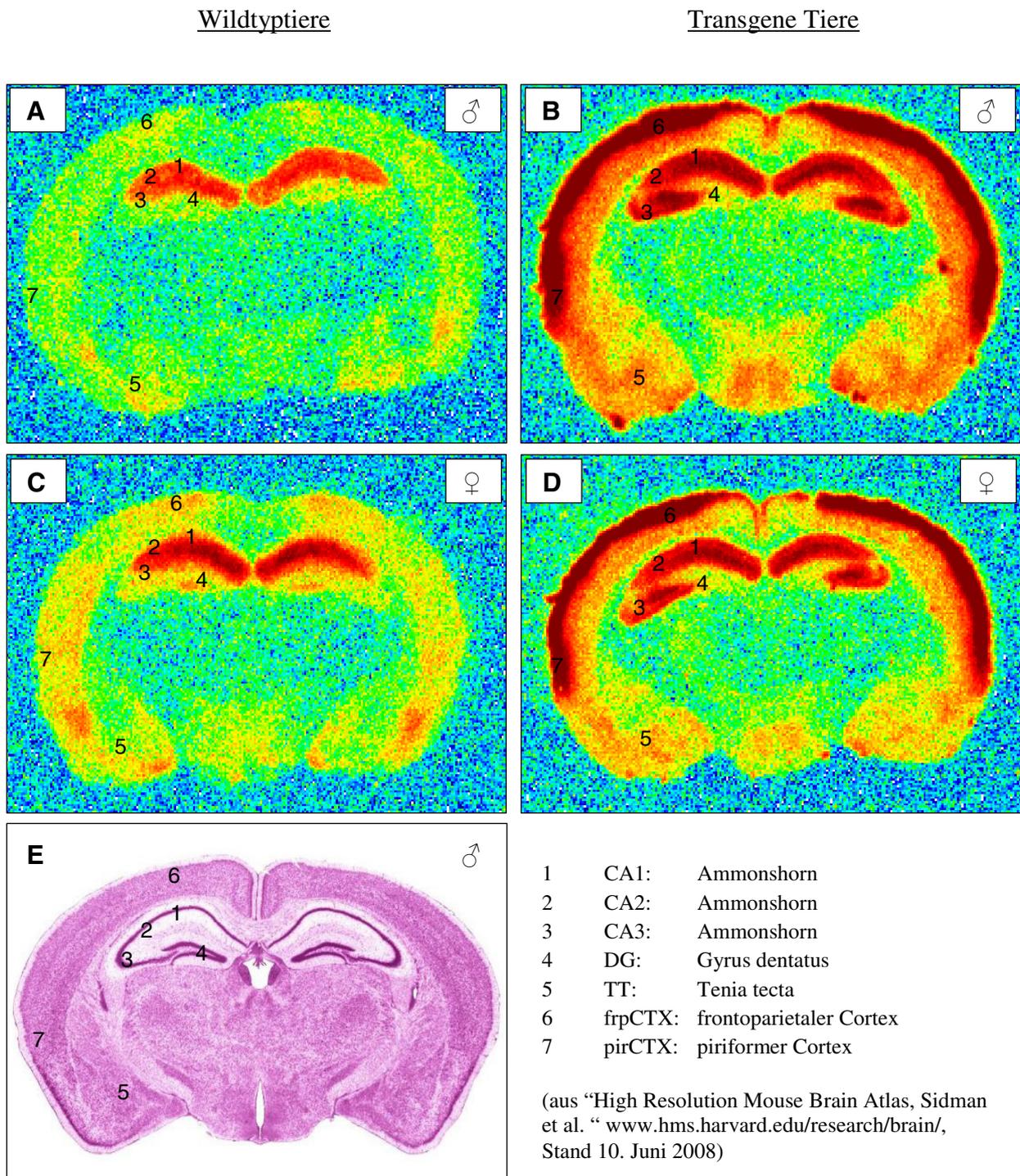
Bei den transgenen Weibchen (Abbildung 24 D) ist in der CA2 und CA3 die spezifische Bindung des radioaktiven Liganden signifikant höher als bei den Männchen (siehe Tabelle 5).

Abbildung 23 A-E: Ebene 1 (Bregma 1,56 bis 1,66)



Gegenüberstellung der Autoradiogramme weiblicher (C und D) und männlicher (A und B) Wildtypiere (A und C) und transgener Tiere (B und D) und einer Nissl-Färbung (E). Regionen 1-5 sind quantitativ in Tabelle 5 aufgeführt.

Abbildung 24 A-E: Ebene 2 (Bregma -2,06 bis -2,16)



Gegenüberstellung der Autoradiogramme weiblicher (C und D) und männlicher (A und B) Wildtypiere (A und C) und transgener Tiere (B und D) und einer Nissl-Färbung (E). Regionen 1-5 sind quantitativ in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5: Spezifische Bindung von [³H]-markiertem 8-OH-DPAT in ausgewählten Regionen des Cortex und Hippocampus

| | Region | Wildtyptiere | | | Transgene Tiere | | |
|-------------|--------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-----------------------------|
| | | ♂ | ♀ | p-Wert ♂ vs. ♀ | ♂ | ♀ | p-Wert ♂ vs. ♀ |
| Cortex | rCTX | 32,1±11,0 [6] | 28,7±3,6 [5] | 0,573 | 173,5±14,2 [6] | 144,6±23,3 [6] | 0,088 |
| | pCTX | 71,2±13,3 [12] | 87,2±11,8 [10] | 0,041 | 669,7±56,5 [12] | 842,3±51,8 [12] | 3,05*10⁻⁵ |
| | frpCTX | 100,9±15,2 [5] | 121,1±15,9 [4] | 0,220 | 715,7±77,6 [6] | 831,2±92,4 [6] | 0,154 |
| | CE | 182,1±21,8 [6] | 231,9±8,9 [6] | 0,0016 | 313,4±52,1 [9] | 337,6±28,1 [10] | 0,370 |
| | pirCTX | 49,6±8,13 [9] | 41,5±6,4 [7] | 0,109 | 127,12±2,8 [10] | 149,0±21,2 [12] | 0,134 |
| Hippocampus | CA1 | 548,8±45,8 [11] | 564,7±30,8 [10] | 0,519 | 547,1±40,7 [11] | 596,7±45,5 [11] | 0,067 |
| | CA2 | 278,3±64,3 [11] | 252,1±47,7 [11] | 0,865 | 564,7±30,8 [10] | 596,7±45,5 [12] | 5,7*10⁻⁶ |
| | CA3 | 80,0±15,30 [11] | 82,3±11,0 [10] | 0,758 | 498,7±35,7 [11] | 547,2±38,3 [12] | 0,039 |
| | DG | 128,1±17,5 [11] | 152,1±13,2 [10] | 0,0192 | 143,7±19,5 [11] | 143,5±14,8 [12] | 0,981 |
| | TT | 100,5±16,7 [5] | 149,3±20,1 [4] | 0,0185 | 302,4±54,1 [6] | 320,8±29,2 [6] | 0,709 |

Vergleich der spezifischen Bindung von [³H]-markiertem 8-OH-DPAT in fmol/mg von männlichen (♂) und weiblichen (♀) Wildtyp und transgenen Tieren in ausgewählten Strukturen des **Cortex** (rCTX-retrosplenialer Cortex, pCTX-parietaler Cortex, frpCTX-frontoparietaler Cortex, CE-Clastrum, Endopiridormer Nucleus, pirCTX-piriformer Cortex) und Strukturen des **Hippocampus** (CA1-3 Cornu Ammonis, DG-Gyrus Dentatus, TT- Tenia Tecta). [n] Anzahl der Werte. Student t-Test, p-Werte < 0,05 aus Vergleich der Geschlechtern sind fett hervorgehoben.

4. DISKUSSION

4.1. Serotonin_{1A}-Rezeptor und depressionsähnliches Verhalten im Tierversuch

Die Depression ist eine der großen Volkskrankheiten und die häufigste psychische Erkrankung beim Menschen. Bis zu einem Fünftel der Bevölkerung macht in ihrem Leben eine depressive Phase durch. Die Ätiopathogenese ist bis heute noch nicht vollständig geklärt. Dysfunktionen des noradrenergen und serotonergen Transmissionssystems werden für die Entstehung mit verantwortlich gemacht. Ein Subtyp der serotonergen Rezeptoren, der Serotonin_{1A} (5-HT_{1A})-Rezeptor, nimmt in dem Krankheitsgeschehen eine Schlüsselposition ein. Die Besonderheit des 5-HT_{1A}-Rezeptors ist, dass er sowohl somatodendritisch auf den serotonergen Neuronen vorkommt als auch postsynaptisch in deren Projektionsgebieten lokalisiert ist. Dieser Umstand erschwert es, die vermittelten Effekte je nach Lokalisation voneinander zu unterscheiden und differenziert zu untersuchen.

An unserem Institut existiert erstmalig eine transgene Mauslinie, die den 5-HT_{1A}-Rezeptor postsynaptisch in zwei für die Depression bedeutenden Gehirnregionen, Hippocampus und Cortex, überexprimiert. In Untersuchungen zur Physiologie und in Verhaltenstests der unbehandelten naiven Tiere konnte kein charakteristischer Phänotyp nachgewiesen werden. Weder die Serotoningehalte, noch der 5-HIAA/5-HT-Quotient in Hippocampus, Frontal- und Parietalcortex, Striatum und Hypothalamus, der Rückschluss auf den Serotoninumsatz erlaubt, wiesen einen Unterschied zwischen Wildtyp- und transgenen Tieren auf. Nur die Noradrenalinegehalte im Hypothalamus der transgenen Mäuse waren erhöht (Bert et al., 2006). Die motorische Aktivität im Open-field Test und die Körpertemperatur der männlichen transgenen Tiere waren etwas niedriger als die der Wildtypiere.

Auf die Rezeptoraktivierung nach systemischer Gabe des 5-HT_{1A}-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT reagierten die transgenen Tiere sehr sensibel: Die Körpertemperatur und die motorische Aktivität nahmen sehr stark ab, das Serotoninsyndrom war sehr viel ausgeprägter und dies bereits nach Applikation niedriger Dosierungen, die bei den Wildtypieren noch keine Effekte auslösten (Bert et al., 2006). Durch die postsynaptische Überexpression scheint das Verhältnis zwischen prä- und postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptoren in Richtung der Heterorezeptoren verschoben worden zu sein. Diese Veränderung in der Balance zwischen prä- und postsynaptischen Rezeptoren könnte Ausdruck in einer solchen erhöhten „Sensibilität“ auf 8-OH-DPAT finden. In einer Radioligandbindungsstudie mit 8-OH-DPAT in Kooperation mit Prof. Bönisch wurde quantitativ nachgewiesen, dass die durchschnittliche Bindungskapazität (B_{max}) der 5-HT_{1A}-Rezeptoren männlicher transgener Tiere doppelt so

hoch war wie die der Wildtypiere. Die Dissoziationskonstante K_D bei den transgenen Tieren war unverändert, d.h. die Affinität des Radioliganden zum 5-HT_{1A}-Rezeptor ist durch die Überexpression nicht verändert worden (Bert et al., 2008). Deswegen kann davon ausgegangen werden, dass die drastische Reaktion der transgenen Mäuse auf 8-OH-DPAT wahrscheinlich auf Effekte zurückzuführen ist, die durch die Überexpression funktionaler postsynaptischer 5-HT_{1A}-Rezeptoren vermittelt werden.

Um die Rolle des 5-HT_{1A}-Rezeptors in der menschlichen Depression besser verstehen zu lernen, wurde im Tierversuch der Einfluss von 8-OH-DPAT als Referenzsubstanz und vier ausgewählter Antidepressiva (Buspiron, Citalopram, Reboxetin und Tianeptin), die jeweils unterschiedlich am serotonergen und/oder noradrenergen System angreifen, auf das depressionsähnliche Verhalten dieser Mäuse im Porsolt-Schwimmtest, dem klassischen Test zur Überprüfung der Wirkung von Antidepressiva, untersucht. Die Kombination aus leichter und schneller Durchführbarkeit und guter Prediktivität machen den Porsolt-Schwimmtest zum meist verwendeten Test in der präklinischen Forschung zum Screening neuer antidepressiver Substanzen (Borsini und Meli, 1988; Cryan et al., 2002; Lucki, 1997).

Da die Ergebnisse dieses Tests von der lokomotorischen Aktivität der Tiere beeinflusst werden, wurden die Wirkungen sämtlicher Substanzen auf die Lokomotion im Open-field Test analysiert. Im Sucrose-preference Test, einem Tiermodell der Depression, welches relativ unabhängig von der lokomotorischen Aktivität der Tiere ist, wurde das Verhalten männlicher, unbehandelter Tiere (transgen und Wildtyp) zusätzlich untersucht.

4.1.0. Unbehandelte Tiere

In unseren Vorversuchen zeigten die **männlichen** Mäuse mit der postsynaptischen Überexpression des 5-HT_{1A}-Rezeptors ohne Substanzapplikation im Porsolt-Schwimmtest ein Verhalten, das vergleichbar ist mit dem nach der Applikation eines Antidepressivums. Luscombe et al. (1993) und Matsuda et al. (1995) wiesen eine Beteiligung des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors am „antidepressiven“ Verhalten im Porsolt-Schwimmtest nach, indem sie die serotonergen Neuronen durch die Gabe von 5,7-Dihydroxytryptamin zerstörten bzw. die Synthese von Serotonin mittels Chlorophenylalanin verhinderten. Nach systemischer Gabe von 8-OH-DPAT nahm in dem anschließend durchgeführten Porsolt-Schwimmtest die Immobilitätszeit dieser Tiere signifikant ab. Die Gabe von 5-HT_{1A}-Rezeptorantagonisten (Propranolol, Methiothepin) verlängerte die Immobilitätszeit wieder. Durch die Zerstörung der Neurone mit dem Neurotoxin bzw. die Synthesehemmung von

Serotonin war keine somatodendritische Rezeptoraktivierung mehr möglich, bzw. wurde der vermittelte Effekt unterbunden. Der postsynaptische 5-HT_{1A}-Rezeptor konnte so allein stimuliert werden. Der im Schwimmtest beobachtete „antidepressive“ Effekt von 8-OH-DPAT muss durch die postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptoren vermittelt worden sein.

Auch unsere Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors für den „antidepressiven“ Effekt im Porsolt-Schwimmtest. Männliche transgene Tiere zeigten ohne Wirkstoffapplikation ein Verhalten, das Luscombe et al. (1993) und Matasuda et al. (1995) auf die Stimulation des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors zurückführen konnten. Es sieht so aus, als würde die Überexpression dieses Rezeptors bei den transgenen Tieren das gleiche Verhalten bedingen wie die direkte Stimulation durch 8-OH-DPAT (siehe oben). Die Bedeutung des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors im depressionsähnlichen Verhalten der Maus ist somit sowohl über die direkte Stimulation des Rezeptors als auch über die Überexpression nachgewiesen worden.

Die höhere Zahl postsynaptischer 5-HT_{1A}-Rezeptoren der transgenen Tiere (Rezeptorautoradiographie siehe 4.3.) bei gleichzeitig unveränderter Serotoninkonzentration (keine Veränderung in Serotoninspiegel und -umsätzen zwischen transgenen und Wildtyptieren (Bert et al., 2006)) entspricht dem Bild, mit dem die „antidepressive“ Wirkung der Azapirone, partielle 5-HT_{1A}-Rezeptoragonisten, nach chronischer Applikation erklärt wird: der postsynaptische Rezeptor wird stimuliert und der Autorezeptor desensibilisiert, d.h. bei unveränderten Serotoningehalten überwiegt die Aktivierung des postsynaptischen Rezeptors (Blier et al., 1997; Blier und Ward, 2003).

Der „antidepressive“ Phänotyp der transgenen Mäuse ist zwar reproduzierbar, war aber in den Versuchsreihen mit Substanzapplikation nicht stabil über den gesamten Zeitraum nachweisbar, in dem die Untersuchungen stattfanden. Ursachen für Schwankungen im Phänotyp können Veränderungen in den Versuchsbedingungen und -durchführung wie unterschiedliche Geräuschkulissen, geringgradig veränderte Lichtverhältnisse oder Eigenheiten im Handling der versuchsdurchführenden Person, sein (Bailey et al., 2006). Wie groß die äußeren Einflüsse auf die Ergebnisse in Verhaltenstest sein können, wiesen Crabbe und Wahlsten in ihren Studien nach. Sie ließen einen Mausstamm zeitgleich in drei unterschiedlichen Laboratorien phänotypisieren. Trotz gleicher Versuchsprotokolle und möglichst identischer Haltungsbedingungen wichen die Ergebnisse der drei Laboratorien besonders im angstbezogenen, emotionalen Verhalten (Open-field Test, Elevated-plus maze Test) signifikant voneinander ab (Crabbe et al., 1999; Wahlsten et al., 2003). Wie anfällig der Porsolt-Schwimmtest gegenüber äußeren Variablen (hier z. B. die Aufzuchtbedingungen) ist,

wird aus dem Vergleich der Immobilitätszeiten zweier Wildtypiergruppen in unserem Institut ersichtlich. Es wurde ein signifikanter Unterschied im Verhalten zwischen Tieren, die vom Züchter gekauft wurden (Harlan-Winkelmann) und nach einer Eingewöhnungszeit von zwei Wochen in diesem Versuch getestet wurden und Nachkommen von Tieren dieses Züchters, die im Institut geboren und aufgezogen wurden, nachgewiesen. Die Gruppe „Harlan-Winkelmann“ zeigte im Gegensatz zur Vergleichsgruppe „Institutseigene“ eine höhere Immobilitätszeit (Daten nicht im Ergebnisteil enthalten). Die drei Monate später getestete Nachzucht der erworbenen Tiere (F₁-Generation) unterschied sich schließlich nicht mehr von denen im Institut gezüchteten (Daten nicht im Ergebnisteil enthalten). Für den unsteten „antidepressiven“ Phänotyp ist deswegen vermutlich die Kombination unterschiedlicher äußerer, nicht regulierbarer Einflüsse (von Jahreszeit abhängige Wetterbedingungen, Geräuschkulisse und Vibrationen außerhalb des Gebäudes bedingt durch Baumaßnahmen) verantwortlich.

Als weiterer, ergänzender Ansatz zur Untersuchung der Überexpression des 5-HT_{1A}-Rezeptors bei den männlichen Tieren und der Auswirkung auf depressionsähnliches Verhalten im Tiermodell wurde der Sucrose-preference Test herangezogen. Er ermöglicht das hedonische Verhalten der Tiere nach einer Stressperiode (Einzelhaltung), unabhängig von deren motorischen Fähigkeiten zu beurteilen. Zur Quantifizierung des hedonischen Verhaltens wird der Konsum einer Zuckerlösung herangezogen, die zusätzlich zum gewohnten Trinkwasser angeboten wird. Es ist bekannt, dass Mäuse in der Regel süße Getränke Wasser vorziehen. Die Tiere werden als hedonisch bezeichnet, wenn der Anteil der konsumierten Zuckerlösung über 65% des Gesamtkonsums von Zuckerlösung und Wasser liegt (Strekalova et al., 2004).

Auch in diesem Versuch zeichneten sich die männlichen transgenen Tiere durch ein Verhalten aus, das dem nach Gabe von Antidepressiva ähnelt. Der Konsum der Zuckerlösung war in der transgenen Gruppe höher als in der Kontrollgruppe (Wildtypiere). Die Zuckeraufnahme der transgenen Tiere lag an beiden ersten Versuchstagen (nach einem und nach drei Monaten Einzelhaltung) über 65% des Gesamtkonsums. Im Gegensatz dazu war der Zuckerkonsum der Wildtypiere an beiden ersten Versuchstagen deutlich geringer als 65%, was auf ein anhedonisches Verhalten der Tiere hindeutet. Porsolt bezeichnete den Sucrose-preference Test als schwierig in der Durchführung und bemängelte die geringe Reproduzierbarkeit der Ergebnisse (Porsolt, 2000). Daher sollte er nicht allein zur Bewertung der antidepressiven Potenz einer Substanz herangezogen werden. Fasst man allerdings die Ergebnisse aus dem Porsolt-Schwimmtest und dem Sucrose-preference Test zusammen, so zeigt sich in den zwei

Versuchen unabhängig voneinander bei den unbehandelten transgenen männlichen Tieren ein Verhalten, das vergleichbar mit der Antwort auf Antidepressiva ist. Somit deuten die Ergebnisse darauf hin, dass der postsynaptische 5-HT_{1A}-Rezeptor am depressionsähnlichen Verhalten der Maus beteiligt ist.

Die Immobilitätszeiten im Porsolt-Schwimmtest der unbehandelten **weiblichen** Tiere beider Genotypen unterschieden sich im Gegensatz zu denen der männlichen Tiere nicht signifikant. Dieses Ergebnis ist überraschend und kann noch nicht erklärt werden. Ein wichtiger Aspekt, der bei Versuchen mit weiblichen Tieren immer berücksichtigt werden muss, sind die möglichen Auswirkungen des Sexualzyklus auf die Ergebnisse, zumal die Tiere während unserer Untersuchungen nicht synchronisiert wurden. Von mehreren Autoren sind Zyklusschwankungen von maximal 20% in der Expression von Serotoninrezeptoren nachgewiesen worden (Biegon et al., 1980; Flugge et al., 1999; Uphouse et al., 1991). Diese Schwankungen sind jedoch nicht so groß, dass sie das Verhältnis der Expression des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors zwischen Wildtyptieren und transgenen Tieren (bis um das Zehnfache erhöhte Expression) verändern und so ein Fehlen des „antidepressiven“ Verhaltens erklären könnten.

Eine mögliche Erklärung für das nicht vorhandene „antidepressive“ Verhalten der weiblichen transgenen Tiere könnten Veränderungen der Serotoninspiegel und -umsätze sein. Da diese bisher nur bei den Männchen bestimmt wurden, ist diese Erklärung sehr hypothetisch. Um zu überprüfen, ob die höhere Expression der 5-HT_{1A}-Rezeptoren zu einer veränderten Aktivität des serotonergen Systems weiblicher, transgener Tiere geführt hat, müssten die Serotoninspiegel und -umsätze bestimmt werden (weiteres siehe 4.3. Serotonin_{1A}-Rezeptor und Geschlechterdifferenzen).

4.1.1. 8-OH-DPAT

8-OH-DPAT ist ein voller 5-HT_{1A}-Rezeptoragonist, der experimentell verwendet wird, um diesen Rezeptor und die von ihm vermittelten Effekte zu untersuchen. Im Porsolt-Schwimmtest wirkt 8-OH-DPAT bei Mäusen (Luscombe et al., 1993) und Ratten (Detke et al., 1995) wie ein Antidepressivum und bewirkt (ab 0,01mg/kg i.p.) eine Verkürzung der Immobilitätszeit (De Vry et al., 2004). Nicht eindeutig geklärt ist jedoch die Rolle des 5-HT_{1A}-Rezeptors. Es sind Belege sowohl für eine präsynaptische als auch für eine postsynaptische Vermittlung der „antidepressiven“ Wirkung gefunden worden. Cervo et al. (1988a) konnten nach intracerebraler Injektion von 8-OH-DPAT in das Kerngebiet der Raphe

eine Reduzierung der Immobilitätszeit bei Ratten nachweisen, was auf eine Beteiligung der präsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptoren hindeutet. In den bereits erwähnten Untersuchungen von Luscombe et al. (1993) und Matasuda et al. (1995) kann der „antidepressive“ Effekt von 8-OH-DPAT ab Dosierungen von 0,5mg/kg auf die Stimulation des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors zurückgeführt werden (siehe auch Seite 73).

Unsere Hypothese war, dass bei den transgenen Tieren ein deutlicher stärkerer antidepressiver Effekt von 8-OH-DPAT als bei den Wildtyptieren im Porsolt-Schwimmtest zu sehen sein müsste, wenn die postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptoren wesentlich an diesem Effekt beteiligt sein sollten. Dies konnten unsere Untersuchungen jedoch nicht bestätigen. In unseren Untersuchungen konnte kein antidepressiver Effekt von 8-OH-DPAT nachgewiesen werden, weder bei den Wildtyptieren, noch bei den transgenen Tieren.

Zwar war bei den Wildtyptieren (Männchen) die Immobilitätszeit nach Gabe von 8-OH-DPAT verringert, war aber auch in der höchsten getesteten Dosierung (0,75mg/kg) nicht signifikant. Eine Beeinflussung der Motorik der Wildtyptiere wurde im Open-field Test auch in höheren Dosierungen (1mg/kg) nicht nachgewiesen, weshalb der fehlende „antidepressive“ Effekt auch nicht direkt auf eine verminderte lokomotorische Aktivität zurückgeführt werden kann. Wahrscheinlich wird die Signifikanz in der höchsten Dosierung (0,75mg/kg) im Porsolt-Schwimmtest auf Grund der auffallend großen Streuung bei gleichzeitig relativ kleiner n-Zahl nicht erreicht. Es wäre interessant zu untersuchen, ob bei einer größeren n-Zahl die Abnahme der Immobilitätszeit signifikant wäre. Die Weibchen zeigten nach 8-OH-DPAT ebenfalls keine Veränderung in ihrer Immobilitätszeit.

Die transgenen Mäuse zeigten ein vollkommen unerwartetes Bild. Statt einer Abnahme der Immobilitätszeit, wurde bei beiden Geschlechtern eine signifikante Zunahme gemessen. Es ist bekannt, dass 8-OH-DPAT die Motorik beeinflusst (Blanchard et al., 1997; Carli et al., 1989; Evenden und Angeby-Moller, 1990; Hillegaart et al., 1989). Bei uns konnten jedoch in den Dosierungen, die im Porsolt-Schwimmtest eine signifikante Verlängerung der Immobilitätszeit bedingten (0,25mg/kg), keine Beeinträchtigung der lokomotorischen Aktivität im Open-field Test gemessen werden, erst in einer höheren Dosierung (0,5mg/kg) als im Porsolt-Schwimmtest untersucht war die lokomotorische Aktivität der transgenen Tiere stark vermindert. Es ist jedoch denkbar, dass sich im Wasser eine Beeinträchtigung der Motorik schon nach einer geringeren Dosis manifestiert, die transgenen Tiere deswegen weniger geschwommen sind und so ein antidepressiver Effekt von 8-OH-DPAT überlagert wurde.

4.1.2. Buspiron

Buspiron wird zum einen als nicht sedierendes und nicht abhängig machendes Anxiolytikum erfolgreich in der Klinik eingesetzt, zum anderen gewinnt es als Antidepressivum sowohl als Monotherapeutikum, als auch in der Kombinationstherapie immer mehr an Bedeutung. Buspiron ist ein Partialagonist am 5-HT_{1A}-Rezeptor. Auf Grund der Rezeptorreserve, die für den somatodendritischen 5-HT_{1A}-Rezeptor nachgewiesen werden konnte, kann die Substanz an diesem als voller Agonist wirken (Meller et al., 1990; Yocca et al., 1992).

Um zu verifizieren, ob bei den transgenen Tiere die Überexpression zu einer Rezeptorreserve des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors geführt hat und somit Buspiron bei den transgenen Tieren somit auch postsynaptisch als voller Agonist wirkt, wurden die Effekte des vollen (8-OH-DPAT) und des partiellen 5-HT_{1A}-Rezeptoragonisten auf das Schwimmverhalten untersucht und miteinander verglichen. Sollte die Überexpression zu einer Rezeptorreserve geführt haben, so müssten die Effekte beider Substanzen ähnlich sein.

Bei den männlichen Wildtypieren verlängerte sich die Immobilitätszeit nach der höchsten Dosierung von Buspiron signifikant, es wirkte eher „depressionsfördernd“ statt „antidepressiv“. Die Weibchen hingegen zeigten keine Veränderung der Immobilitätszeit. In der Literatur sind sehr unterschiedliche Effekte von Buspiron im Porsolt-Schwimmtest beschrieben worden. Kitamura et al. (1996) berichteten, ähnlich wie wir, von einer verlängerten Immobilitätszeit im Porsolt-Schwimmtest mit Mäusen nach akuter Buspironapplikation (3mg/kg). In den Untersuchungen von Cervo et al. (1988) hatte die Gabe von Buspiron (bis zu 10mg/kg) bei Ratten keine Auswirkung auf die Schwimmzeit, die direkte Injektion in die Raphekerne hingegen hatte einen „antidepressiven“ Effekt zur Folge, was für eine präsynaptische Vermittlung sprechen würde. Wieland und Lucki (1990) erzielten durch die wiederholte Gabe des Partialagonisten (dreimalige Injektion von bis zu 1mg/kg Buspiron 23h, 5h und 0,5h vor Testdurchführung) bei Ratten eine Abnahme in der Immobilitätszeit. Dieser Effekt wiederum wurde mit einer Aktivierung des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors bei gleichzeitiger Desensibilisierung des Autorezeptors erklärt, setzt jedoch eine mehrmalige Applikation voraus (Blier et al., 1997).

Die bei uns fehlende „antidepressive“ Wirkung von Buspiron (nach einmaliger akuter Gabe) lässt sich hypothetisch an Hand der Open-field Ergebnisse erklären. Es ist bekannt, dass Buspiron die motorische Aktivität vermindert. In Dosierungen ab 1,25mg/kg i.p. bei der Ratte und 3mg/kg bei der Maus wurde eine Lokomotionshemmung im Open-field Test beschrieben (Hughes, 1993; Kitamura und Nagatani, 1996). Auch in unseren Untersuchungen zeigten die Wildtypiere nach Buspiron (3mg/kg) eine verminderte lokomotorische Aktivität, bei den

Weibchen ist diese signifikant. Hierin liegt eine mögliche Erklärung für den „depressionsfördernden“ Effekt von Buspiron bei den Wildtyptieren.

Ob die Überexpression eine postsynaptische Rezeptorreserve bedingt hat, sollte aus dem Vergleich der Effekte von Buspiron und 8-OH-DPAT bei den transgenen Tieren zu erkennen sein. Erwartet war, dass die Aktivierung des postsynaptischen Rezeptors bei den transgenen Tieren eine deutlich kürzere Immobilitätszeit als bei den Wildtyptieren bedingt. Tatsächlich wurden ähnlich unerwartete Effekte wie nach der Gabe von 8-OH-DPAT gefunden. Die Immobilitätszeiten sind vergleichbar mit denen nach Injektion des vollen Agonisten, die Immobilitätszeiten verlängerten sich, anstatt sich zu verkürzen. Im Open-field Test zeigten alle transgenen Tiere nach der Behandlung mit Buspiron eine stark verminderte lokomotorische Aktivität, was die ausbleibende „antidepressive“ Wirkung erklärt, wie bei 8-OH-DPAT. Das abartige Schwimmverhalten (siehe 3.3.1.1.2.), welches die transgenen Tiere nach 3mg/kg Buspiron im Porsolt-Schwimmtest zeigten, könnte ebenfalls Ausdruck einer Koordinationsbeeinträchtigung der Motorik im Wasser sein, da die Tiere im Heimatkäfig nach Applikation der Substanz nicht verhaltensauffällig waren. Eine mögliche „antidepressive“ Wirkung könnte von den Effekten auf die Motorik überlagert worden sein.

In Hinblick auf die motorische Aktivität reagierten die transgenen Tiere sowohl auf 8-OH-DPAT als auch auf Buspiron empfindlicher als die Wildtyptiere: Nach 8-OH-DPAT verlängerte sich die Immobilitätszeit in Dosierungen, die im Open-field Test die lokomotorische Aktivität nicht beeinflussten. Nach Buspiron zeigten jeweils 7 Tiere ein abartiges Schwimmverhalten. Auf Grund der starken lokomotorischen Nebenwirkungen ist nicht zu sagen, ob Buspiron tatsächlich bei den transgenen Tieren die Wirkung eines vollen 5-HT_{1A}-Rezeptoragonisten entfaltet kann.

4.1.3. Citalopram

Citalopram ist neben Fluoxetin der wichtigste Vertreter aus der Gruppe der SSRI. Diese zeichnen sich gegenüber den TZA vor allem durch ihr qualitativ günstigeres Nebenwirkungsprofil aus und gehören in Europa zur Standardmedikation in der Therapie der Depression (Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft, 2006). Die SSRI hemmen die Wiederaufnahme von Serotonin aus dem synaptischen Spalt und erhöhen durch die längere Verweildauer des Neurotransmitters dessen relative Konzentration.

Aus dem Vergleich der Immobilitätszeiten der Mäuse beider Genotypen sollte die Rolle des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors in der Vermittlung des „antidepressiven“ Effekts von Citalopram im Porsolt-Schwimmtest überprüft werden.

In unseren Untersuchungen erzeugte Citalopram in den getesteten Dosierungen bei den männlichen Tieren beider Genotypen eine signifikante Reduzierung der Immobilitätszeit. Diese „antidepressive“ Wirkung ist in der Literatur nach einmaliger Applikation für Dosierungen zwischen 5mg/kg und 20mg/kg sowohl bei Ratten, als auch bei Mäusen beschrieben worden (Kusmider et al., 2007; Sanchez und Meier, 1997). Ein Unterschied in der Wirkung von Citalopram in beiden Genotypen wird erst unter Berücksichtigung der Open-field Ergebnisse ersichtlich. Es ist bekannt, dass SSRI eine psychomotorisch stimulierende Wirkung haben und so falsch positive Ergebnisse im Porsolt-Schwimmtest erhalten werden können. Cryan (2005b) diskutiert deswegen in seinem Artikel zur Bewertung verhaltenspharmakologischer Effekte im Porsolt-Schwimmtest die Notwendigkeit einer zusätzlichen isolierten Untersuchung der Motorik. Brocco et al. (2002) wiesen nach 10mg/kg Citalopram bei Mäusen eine erhöhte Lokomotion im Open-field Test nach, auch David et al. (2003) stellten eine signifikante Zunahme der lokomotorischen Aktivität bei NMRI-Mäusen nach Applikation von Citalopram (16mg/kg) fest. In unseren Versuchen konnte bereits nach Gabe von 5mg/kg Citalopram eine signifikante Zunahme der lokomotorischen Aktivität verzeichnet werden, interessanterweise jedoch nur bei den Wildtyptieren. Daher muss der „antidepressive“ Effekt von Citalopram bei den Wildtyptieren relativiert werden. Anders bei den transgenen Tieren: Bei ihnen wurde keine gesteigerte lokomotorische Aktivität im Open-field Test gemessen. Die verkürzte Immobilitätszeit ist bei den transgenen Tieren nicht auf eine erhöhte lokomotorische Aktivität zurückzuführen. Die Überexpression scheint die „antidepressive“ Wirkung von Citalopram zu begünstigen und deutet darauf hin, dass postsynaptische 5-HT_{1A}-Rezeptoren am „antidepressiven“ Effekt von Citalopram im Porsolt-Schwimmtest beteiligt sind.

Bei den weiblichen Tieren ist diese Beteiligung Citaloprams am „antidepressiven“ Verhalten noch deutlicher zu erkennen. Citalopram erzeugt nur bei den transgenen Weibchen eine Verkürzung der Immobilitätszeit, die Wildtyptiere schwimmen nicht signifikant länger. Sie zeigen nur eine Tendenz zur Immobilitätszeitverkürzung. Anders als bei den Männchen ist im Open-field Test mit den Weibchen in keinem der beiden Genotypen eine Beeinflussung der Motorik festgestellt worden. Also führt auch bei den weiblichen Mäusen die Überexpression des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors zu einer ausgeprägten „antidepressiven“ Wirkung

von Citalopram im Porsolt-Schwimmtest und damit zur Bestätigung der zentralen Rolle des 5-HT_{1A}-Rezeptors im Wirkungsmechanismus dieses SSRI.

4.1.4. Reboxetin

Reboxetin ist ein klinisch gut wirksames Antidepressivum und wird auch in der Therapie der Aufmerksamkeitsdefizitstörungen eingesetzt. Es gehört zu den Selektiven Noradrenalin Wiederaufnahmehemmern (SNRI) (siehe auch 2.1.4.), und besitzt in der Therapie der Depression eher den Status einer Alternativmedikation. Da die antidepressive Wirkung Reboxetins nicht auf Serotonin, sondern Noradrenalin zurückgeführt wird, wird Reboxetin vor allem bei Nichtanschlagen der Therapie mit SSRI eingesetzt. Ähnlich wie bei Serotoninrezeptoren wurden auch Veränderungen der Dichte von Adrenorezeptoren bei depressiven Suizidopfern nachgewiesen. Hierbei wurde vor allem im frontalen Cortex eine erhöhte Bindungskapazität gemessen (Meana et al., 1992).

Reboxetin zeigt keine Wirkungen an serotonergen Rezeptoren (siehe Übersichtsarbeit von Leonard, 1997). Aus diesem Grund wurde Reboxetin im Vergleich zwischen den Wildtyptieren und den transgenen Mäusen die Rolle der Negativkontrolle zugeordnet. Allerdings bleibt zu beachten, dass das serotonerge und noradrenerge System untrennbar interagieren. Die Mäuse mit der Überexpression des 5-HT_{1A}-Rezeptors sollten sich demnach unter Reboxetin im Schwimmverhalten nicht von den Wildtyptieren unterscheiden.

In unseren Untersuchungen konnte für Reboxetin in der Dosierung von 20mg/kg bei den Wildtyptieren eine antidepressive Wirkung nachgewiesen werden. Die Abnahme der Immobilitätszeit war nur bei den Weibchen signifikant, bei den männlichen Wildtyptieren erzeugte die Applikation von Reboxetin jedoch eine Tendenz zur Verkürzung der Immobilitätszeit. Verschiedene Autoren haben Befunde veröffentlicht, die unseren entsprechen. Connor et al. (1999) wiesen eine Verkürzung der Immobilitätszeit an Ratten nach, die sie dreimal (23h, 5h und 1h vor Testdurchführung) mit 10mg/kg Reboxetin behandelten. Harkin et al. (1999) führten den Porsolt-Schwimmtest mit bulbektomierten Ratten (siehe 2.2.2.1.) durch. Nach einer 14-tägigen Behandlung mit bis zu 10mg/kg Reboxetin war der charakteristische Phänotyp der bulbektomierten Ratten, der im Porsolt-Schwimmtest durch eine verlängerte Immobilitätszeit gekennzeichnet ist, nicht mehr nachweisbar.

Da bei den Männchen beider Genotypen keine Dosis gefunden wurde, die eine signifikante Veränderung im Schwimmverhalten erzeugte, ist auf die Untersuchung der motorischen

Aktivität verzichtet worden. Bei den weiblichen Wildtyptieren führte die Behandlung mit Reboxetin im Open-field Test zu einer signifikanten Abnahme der zurückgelegten Strecke. Diese verminderte Lokomotion nach Reboxetin beschreiben auch Mitchell et al. (2006). Nach einmaliger Applikation von 20mg/kg zeigten die Mäuse 30min später eine signifikant verminderte lokomotorische Aktivität. Reboxetin verkürzt in unseren Versuchen trotz des gleichzeitigen negativen Einflusses auf die Motorik im Open-field Test die Immobilitätszeit der weiblichen Wildtyptiere im Porsolt-Schwimmtest. Reboxetin weist also bei ihnen eine ausgeprägte „antidepressive“ Wirkung auf.

Die transgenen Tiere beider Geschlechter zeigten hingegen ein völlig unerwartetes Verhalten nach der Behandlung mit Reboxetin: die Immobilitätszeit war unverändert. Eine mögliche Erklärung für die fehlende akute Wirkung Reboxetins bei den männlichen transgenen Tieren wäre der erhöhte Noradrenaliningehalt im Hypothalamus (Bert et al., 2006). Einen Zusammenhang zwischen postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptoren und Noradrenaliningehalten im Hypothalamus konnten Chen und Reith (1995) und Suzuki et al. (1995) an Ratten nachweisen, bei denen mittels Parachlorphenylalanin eine 5-HT-Depletion erzielt wurde. Durch die Aktivierung des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors mit dem Agonisten 8-OH-DPAT konnte in Mikrodialyseversuchen ein Anstieg des Noradrenalinspiegels im Hypothalamus und der ventralen tegmental Area erzeugt werden. Der erhöhte Noradrenalinspiegel bei den transgenen Tieren könnte somit durch die Überexpression des 5-HT_{1A}-Rezeptors bedingt sein, gehören doch Veränderungen im Hypothalamus-Hypophyse-Nebennierenrinden-System zu den konsistentesten biologischen Befunden in der Depression (siehe 2.1.2.1). Durch den erhöhten Noradrenalinspiegel kann die Adrenorezeptorsensibilität der transgenen Mäuse verändert worden sein, und die Rezeptoren zeigen unbehandelt den Zustand, welchem nach einer mehrwöchigen Therapie die antidepressive Wirkung Reboxetins zugeschrieben wird: eine Desensibilisierung der Adrenorezeptoren und eine relative Downregulation der α_2 - und β -Rezeptoren, die wiederum eine erhöhte Empfindlichkeit der postsynaptischen α_1 -Rezeptoren zur Folge hat (siehe Übersichtsarbeit Elhwuegi, 2004). Um dies zu verifizieren, müsste eine entsprechende Rezeptorbindungsstudie durchgeführt werden.

4.1.5. Tianeptin

Tianeptin wirkt in der Klinik antidepressiv und angstlösend, wie Lepine et al. (2001) in einer sechswöchigen Doppelblindstudie an Depressiven mit bzw. ohne eine zusätzliche Angsterkrankung nachwies. Die Struktur dieses neuartigen Antidepressivums leitet sich von den klassischen TZA ab, der akute Wirkungsmechanismus von Tianeptin jedoch widerspricht dem bisherigen Verständnis von Antidepressiva: Tianeptin verstärkt die Wiederaufnahme von Serotonin (Datla und Curzon, 1993; Pineyro et al., 1995; Uzbay, 2007). McEwen (2005) schreibt, dass es schwierig ist, die Effekte von Tianeptin nach akuter Applikation zu beurteilen, da die antidepressive Potenz wahrscheinlich in erster Linie durch die neuroprotektiven Eigenschaften Tianeptins erzeugt wird. Während einer Depression kommt es zu Veränderungen in der Neuroplastizität (Castren, 2005; Fuchs et al., 2004). Unter anderem verkürzen sich in der CA3-Region des Hippocampus die Dendriten und die Verästelung nimmt ab (Magarinos et al., 1999). Czeh et al. (2001) und Watanabe et al. (1992) konnten nachweisen, dass bei Ratten und Spitzhörnchen, die während einer drei- respektive einwöchigen Stressperiode (Immobilisation und psychosozialer Stress) mit Tianeptin behandelt wurden (Ratten 15mg/kg i.p., Spitzhörnchen 50mg/kg oral) die Abnahme der Dendritenverästelung deutlich geringer war als bei den jeweiligen Kontrolltieren.

Ob Tianeptin trotzdem direkt oder indirekt Wirkungen am postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptor auslöst und das depressionsähnliche Verhalten der Maus beeinflusst, sollte jedoch aus dem Vergleich der Immobilitätszeiten beider Genotypen nach einmaliger Applikation ersichtlich werden.

In unseren Untersuchungen bedingt Tianeptin in der 20mg/kg Dosierung bei den Wildtyptieren beider Geschlechter eine signifikante Abnahme der Immobilitätszeit, wirkt „antidepressiv“. Dieses Ergebnis entspricht dem von Kelly et al. (1994). Sie untersuchten bei Ratten die Wirkungen von Tianeptin im Porsolt-Schwimmtest und wiesen nach 5mg/kg Tianeptin 23h, 5h und 1h vor Testdurchführung eine Abnahme der Immobilitätszeit nach. Bei unseren männlichen Wildtyptieren war der „antidepressive“ Effekt unabhängig von der motorischen Aktivität im Open-field Test. Die Weibchen hingegen legten eine kürzere Distanz zurück, was zwar im Gegensatz zu den Ergebnissen von Mocaer et al. (1988) steht, die von einem Motorik steigernden Effekt bei Ratten berichten, letztendlich aber nur die ausgesprochene „antidepressive“ Wirkung von Tianeptin bei den Wildtyptieren unterstreicht. Die männlichen transgenen Tiere zeigten keine Veränderung in ihrem Schwimmverhalten, die weiblichen transgenen Mäuse reagierten mit einer Abnahme der Immobilitätszeit erst in einer Dosierung (30mg/kg), die bei den Männchen nicht getestet wurde. Auch wenn Tianeptin

keinen „antidepressiven“ Effekt bei den transgenen Tieren erzeugte, so deutet dieses Ergebnis trotzdem auf die Beteiligung des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors im Wirkungsmechanismus von Tianeptin hin. Die akute Gabe von Tianeptin bedingt eine verstärkte Wiederaufnahme von Serotonin. Die könnte bei den transgenen Tieren mit ihrer erhöhten Anzahl von Rezeptoren zu einem für die Rezeptoraktivierung relativen Serotoninmangel führen, was eine geringere Ausprägung der vermittelten Effekte zur Folge hätte. Dies könnte die geringere Wirkung von Tianeptin bei den transgenen Tieren erklären.

4.2. Serotonin_{1A}-Rezeptor und Stress

Chronischer Stress kann beim Menschen Depressionen hervorrufen (siehe 2.1.2.1.). Bei vielen Betroffenen ist eine Aktivierung des Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden (HPA)-Systems nachweisbar. Praktisch im gesamten Gehirn werden als Folge Corticotropin-releasing Hormon (CRH)-Rezeptoren exprimiert, die über das limbische System, insbesondere in der dorsalen Raphe, serotonerge Neurone beeinflussen, deren Funktion bei Angstzuständen und affektiven Störungen verändert ist (siehe 2.1.2.1. und Übersichtsarbeit von Leonard (2005)).

Nach zwei Wochen chronischem Stress (Reiz täglich wechselnd: Immobilisation, Kälte, Narkose, Porsolt-Schwimmtest) konnte bei Ratten ein geringerer Gehalt an 5-HT_{1A}-Rezeptor-RNA im Hippocampus nachgewiesen werden (Lopez et al., 1998). In einer Studie von Centro (2007) wurde im Vergleich dreier unterschiedlich stressanfälliger Affengruppen in der stresssensitivsten die geringste Expression des 5-HT_{1A}-Rezeptors in der dorsalen Raphe mittels in situ Hybridisation nachgewiesen.

Hyperthermie ist bei vielen Spezies, den Menschen eingeschlossen, ein verlässlicher Parameter zur Erfassung des Stresslevels (Adriaan Bouwknecht et al., 2007; Olivier et al., 2003). Die Radiotelemetrie ermöglicht es, diesen in Form von Temperaturschwankungen, soweit wie möglich unabhängig von der versuchsdurchführenden Person zu erfassen. So können Daten berührungsfrei gesammelt werden (Kramer et al., 2001; Mills et al., 2000).

Unsere Beobachtungen der transgenen Tiere im Heimatkäfig legten die Vermutung nahe, dass sie im Vergleich zu den Wildtyptieren stressresistenter sind. Die Tiere wirken weniger schreckhaft und der Umgang mit ihnen (Handling) ist leichter als der mit den Wildtyptieren. In ihrer Arbeit beschreiben Bert et al. (2006), dass die naiven, männlichen transgenen Tiere bei rektal durchgeführten Messungen eine niedrigere Körpertemperatur als die Wildtyptiere aufweisen. Das Einführen einer rektalen Sonde als solches ist ein starker Stressreiz, der bei Mäusen zu einer erhöhten Aktivität der natürlichen Killerzellen, erhöhten Serumzytokinspiegel und -ACTH-Spiegel und zur Erhöhung der Körpertemperatur führt (Hale et al., 2003). Mittels Radiotelemetrie wurde jetzt überprüft, ob der Unterschied in der Körpertemperatur zwischen transgenen und Wildtyptieren tatsächlich auf eine Stressresistenz der transgenen Mäuse zurückzuführen ist oder ob die Überexpression des 5-HT_{1A}-Rezeptors eine permanent niedrigere Körpertemperatur unabhängig von Stressreizen bedingt.

In unseren siebentägigen Aufzeichnungen lagen die Temperaturwerte und die Aktivität der transgenen Tiere immer unter denen der Wildtyptiere. Die Messung hat ungestört in den Heimatkäfigen der Tiere in Abwesenheit von Menschen stattgefunden. Deswegen ist die

niedrigere Temperatur der transgenen Tiere nicht auf eine mögliche Stressresistenz dem Umgang des Experimentators gegenüber zurückzuführen. Die Temperatur der transgenen Tiere lag auch zu Zeiten, in denen keine motorische Aktivität (in beiden Genotypen) gemessen wurde, unter der der Wildtypiere. Nach diesem Ergebnis rückt die Hypothese von Bert et al. (2006) wieder in den Vordergrund. Sie postulierte, dass zwischen der Hypothermie der transgenen Mäuse und dem erhöhten Noradrenalin Spiegel im Hypothalamus ein Zusammenhang bestehen könnte. Durch Noradrenalininjektionen in den Hypothalamus kann eine Hypothermie erzeugt werden (Cooper et al., 1965; Myers et al., 1987).

Die vermutete Stressresistenz der transgenen Tiere wurde weiter untersucht, indem die Mäuse nacheinander definierten Stressreizen (Protokoll siehe 3.2.3.) ausgesetzt wurden und die Temperatur anschließend gemessen wurde: Handling (Fixation des Tieres mit Rückengriff), zwei im Abstand von 30 Minuten aufeinander folgende NaCl-Injektionen, eine NaCl-Injektion im Abstand von 30 Minuten gefolgt von einer Injektion 8-OH-DPAT und abschließend Einführen einer rektalen Sonde .

Als erster Reiz wurden die Tiere „gehandelt“, in der Hand immobilisiert. Die folgende Reaktion der Körpertemperatur wurde über 60 Minuten aufgezeichnet. Das reine Handling führte zu keinem Unterschied in der Körpertemperatur. Die Kurven beider Genotypen verlaufen fast deckungsgleich. Dieses Ergebnis war zu erwarten, da sämtliche Tiere diese Prozedur durch das wöchentliche Käfigsäubern und die Nahtkontrollen nach der Operation kennen. Offensichtlich haben sich beide Genotypen im gleichen Ausmaß an den Vorgang gewöhnt.

Im Vergleich der Stressreaktionen auf die erste NaCl-Injektion, einem den Mäusen unbekanntem Vorgang, ist ein Unterschied zwischen den beiden Genotypen erkennbar: während bei den Wildtypieren die Temperatur um mehr als $0,5^{\circ}\text{C}$ steigt, bleibt sie bei den transgenen Tieren fast auf dem Ausgangswert. Der fehlende Temperaturanstieg in der transgenen Gruppe kann als verringerte Stresssensibilität dieser Tiere interpretiert werden. Nach der zweiten Injektion, die 30 Minuten nach der ersten erfolgte, verlaufen beide Temperaturkurven fast gleich und steigen um fast 1°C an. Der Temperaturanstieg nach der zweiten Injektion könnte als Ausdruck einer Sensibilisierung der transgenen Tiere auf die Prozedur interpretiert werden. Da die individuelle Streuung der Temperaturwerte in beiden Gruppen sehr groß war, sollte in Zukunft eine Bestätigung dieser Ergebnisse durch einen erneuten Versuch erbracht werden. Zusätzlich sollte durch Erfassung eines anderen Stressparameters, wie Corticosteron in Kot oder Blut, die Stressresistenz weiter untersucht werden.

In der Reaktion auf 8-OH-DPAT zeigte sich der erwartete, von Bert et al. (2006) beschriebene Unterschied in der Ausprägung der Hypothermie zwischen den Genotypen. Die transgenen Tiere reagierten mit einem Temperaturabfall von über -2°C , die Körpertemperatur der Wildtypiere veränderte sich nach 8-OH-DPAT kaum ($-0,5^{\circ}\text{C}$). Die von Bert et al. (2006) beschriebene induzierte Hypothermie bei den transgenen Tieren und die Funktionalität der überexprimierten Rezeptoren wurde hier durch den 5-HT_{1A}-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT, diesmal weitestgehend unabhängig von Manipulationsstress durch Einführen einer rektalen Sonde, erneut nachgewiesen. Die Überexpression bedingt eine ausgeprägte Sensibilität auf 8-OH-DPAT im Vergleich zum Wildtyp.

Die zuletzt aufgezeichneten Kurvenverläufe nach der rektalen Manipulation (Einführen einer rektalen Sonde) zeigen bei beiden Genotypen sehr geringe (bis $0,5^{\circ}\text{C}$) Temperaturanstiege. Diese könnten als Ausdruck einer Gewöhnung der Mäuse an die an ihr vorgenommenen Manipulationen gewertet werden. Nachdem verschiedene Manipulationen vorausgegangen sind, stellt das Einführen der rektalen Sonde nicht mehr den Stressreiz dar, welcher er für noch nicht im Versuch gewesene Tiere ist.

Die Ergebnisse der Radiotelemetrieversuche belegen frühere Befunde zur niedrigeren Körpertemperatur und erhöhten Sensibilität auf 8-OH-DPAT der transgenen Tiere im Vergleich zu Wildtypieren (siehe oben). Es sind Hinweise auf die postulierte Stressresistenz gefunden worden, allerdings ist diese in weiteren Untersuchungen, beispielsweise Corticosteronmessungen, vor allem auf Grund der niedrigen Tierzahlen und der großen Streuung, zu verifizieren.

4.3. Serotonin_{1A}-Rezeptor und Geschlechterdifferenzen

Frauen in Industrienationen erkranken nach den meisten Studien fast doppelt so häufig an affektiven Störungen wie Männer (Emslie et al., 2007; Munce und Stewart, 2007; Romans et al., 2007). Die genaue Ursache dafür ist noch nicht bekannt, man versucht dies jedoch wie folgt zu erklären.

Geschlechterunterschiede in der Syntheserate von Serotonin sind mehrfach untersucht worden, wenn auch mit verschiedenen Ergebnissen. In ihrer PET-Studie haben Nishizawa et al. (1997) an Hand der Metabolisierung von α [¹¹C]Methyl-L-Tryptophan bei gesunden Männern im Gehirn eine bis zu 52% höhere Serotoninsyntheserate als bei Frauen nachgewiesen. Die Serotoningehalte waren sowohl vor, als auch nach einer akuten Tryptophandepletion bei den männlichen Probanden höher als bei den weiblichen. Ebenfalls in einer PET-Studie wiesen Sakai et al. (2006), wie Nishizawa, bei gesunden Frauen eine signifikant geringere Serotoninsynthese im Gehirn als bei Männern nach. Chugani et al. (1998) hingegen fanden in einer PET-Untersuchung an gesunden Männern und Frauen bei letzteren eine bis zu 20% höhere Serotoninsyntheserate als bei Männern.

Rosa-Neto et al. (2004) zeigten in ihrer PET-Studie eine geringere Syntheserate von Serotonin bei noch unbehandelten Depressiven im Vergleich zu der gesunden Kontrollgruppe. Die Syntheserate der weiblichen, depressiven Probanden lag noch unter der der männlichen Gruppen. Da die Monoaminmangel-Hypothese von Schildkraut (siehe 2.1.3.) eine Ursache für Depression in einer verminderten Serotoninsynthese sieht, würde das die erhöhte Depressionsrate bei Frauen erklären.

Nicht nur in der Synthese von Serotonin, sondern auch im Expressionsmuster von Serotoninrezeptoren findet man Veränderungen und Geschlechterunterschiede bei Depressiven und Gesunden. Arango et al. (1995) untersuchten in einer quantitativen Rezeptorautoradiographie mit [³H]8-OH-DPAT die Gehirne männlicher und weiblicher Suizidopfer mit einer zu Lebzeiten diagnostizierten Depression und die einer gesunden Kontrollgruppe. Sie fanden eine signifikant höhere Expression des 5-HT_{1A}-Rezeptors im Cortex (postsynaptische Lokalisation des Rezeptors) beider weiblichen Gruppen (Suizid und Kontrolle), die bis zu 40% höher als bei den männlichen Probanden war. Bei der zusätzlich untersuchten 5-HT-Transporterbindungskapazität lag die Expression dieser bei den Frauen signifikant unter der der Männer. Parsey et al. (2002) und Jovanovic et al. (2008) konnten ebenfalls in ihren PET-Studien eine bis zu 39% höhere Expression des 5-HT_{1A}-Rezeptors in Regionen des Cortex in den Versuchsgruppen aus gesunden Frauen nachweisen. Jovanovic et al. (2008) untersuchten zusätzlich die Expression des 5-HT-Transporters. Interessanterweise

war die der männlichen Versuchsgruppen um bis zu 55% höher als die der weiblichen. Beide Autoren interpretierten die höhere Expression des 5-HT_{1A}-Rezeptors bei den Frauen als funktionellen Ausgleich zu deren geringeren Serotoningehalten (siehe oben). Die niedrigen 5-HT-Transportergehalte sahen sie in den niedrigen Serotoninspiegeln der Frauen begründet, da Transporter bei Nichtgebrauch schnell internalisiert werden. Mit der geringeren Aktivität des weiblichen serotonergen Systems begründen sie die höhere Disposition von Frauen, an Depression zu erkranken.

Unsere Untersuchungen sollten klären, ob ein direkter Zusammenhang zwischen der Expression des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors und den Unterschieden im depressionsähnlichen Verhalten zwischen den beiden Geschlechtern der Maus im Porsolt-Schwimmtest besteht.

In der Radioligandenbindungsstudie mit [³H]8-OH-DPAT am gesamten Gehirngewebe wurde in Kooperation mit Prof. Bönisch, zuerst die Affinität der überexprimierten Rezeptoren überprüft. Es wurde gezeigt, dass diese durch die Überexpression nicht verändert worden ist: Die Dissoziationskonstante K_D ist bei den transgenen Tieren beider Geschlechter unverändert gegenüber der der Wildtypiere. B_{max} der weiblichen Tiere lag über B_{max} der männlichen beider Genotypen. (Bert et al., 2008).

Die anschließend durchgeführte detaillierte Rezeptorautoradiographie zur quantitativen Untersuchung der Überexpression des 5-HT_{1A}-Rezeptors zeigte die erwartete signifikante Zunahme (bis um das Zehnfache) in der Expression des 5-HT_{1A}-Rezeptors bei beiden transgenen Geschlechtern in Cortex und Hippocampus gegenüber den Wildtypieren. Bei den weiblichen Tieren beider Genotypen fiel in spezifischen Regionen eine deutlich höhere Expression des 5-HT_{1A}-Rezeptors als bei den Männchen auf. Die Rezeptorbindungskapazität der weiblichen Wildtypiere war in vier Regionen des Cortex und Hippocampus (parietaler Cortex, Claustrum, Gyrus dentatus und Tenia tecta) signifikant höher als die der männlichen Tiere. Bei den weiblichen transgenen Tieren war im parietalen Cortex und in der CA3 des Hippocampus die spezifische Bindung von [³H]8-OH-DPAT signifikant höher als bei den männlichen. Unsere Befunde stehen im Einklang mit Ergebnissen aus der Literatur. Auch Zhang (1999) wies im Hippocampus weiblicher Ratten höhere 5-HT_{1A}-Rezeptor-m-RNA-Gehalte als bei Männchen nach. Flugge et al. (1999) hatten in einer Rezeptorautoradiographie mit [³H]8-OH-DPAT bei Ratten im Östrus eine signifikant höhere Expression des 5-HT_{1A}-Rezeptors im Hypothalamus gemessen.

Im Porsolt-Schwimmtest zeigten die männlichen transgenen Tiere ohne Wirkstoffapplikation im Vergleich mit den Wildtypieren ein Verhalten, das dem nach Gabe von Antidepressiva

gleich und von dem angenommen wird, dass es durch postsynaptische 5-HT_{1A}-Rezeptoren vermittelt wird (siehe 4.1.0.). Die höhere Zahl postsynaptisch funktionaler 5-HT_{1A}-Rezeptoren bei gleichzeitig unveränderter Serotoninkonzentration der männlichen transgenen Tiere (Bert et al., 2006) scheint das „antidepressive“ Verhalten zu begünstigen. Dennoch ist dieses Ergebnis nicht eindeutig, da zwischen den Geschlechtern der Wildtypiere keine entsprechende Korrelation zwischen erhöhter 5-HT_{1A}-Rezeptorexpression und Schwimmverhalten gefunden wurde. Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den Immobilitätszeiten unbehandelter weiblicher und männlicher Wildtypiere gemessen.

Bei den weiblichen transgenen Tieren konnte der oben beschriebene „antidepressive“ Phänotyp der Männchen nicht nachgewiesen werden. Hier scheint die höhere Anzahl der 5-HT_{1A}-Rezeptoren keinen Einfluss auf die Immobilitätszeit zu haben. Vergleicht man die Immobilitätszeiten der weiblichen mit denen der männlichen transgenen Tiere, sind die Werte der Weibchen signifikant höher, sie sind „depressiver“ als die Männchen. Dies steht in einer Linie mit den Ergebnissen beim Menschen. Eine mögliche Erklärung für dieses depressionsähnliche Verhalten, trotz höherer Anzahl an Rezeptoren, wäre ein relativer Serotoninmangel. Nach der Hypothese von Parsey et al. (2002) und Jovanovic et al. (2008) wird bei Weibchen versucht eine geringere Syntheserate von Serotonin durch eine höhere Expression der Rezeptoren auszugleichen (siehe oben). Um zu überprüfen, ob die Serotoninspiegel und -umsätze weiblicher transgener Tiere tatsächlich auf eine veränderte Aktivität des serotonergen Systems hinweisen und ob darin eine mögliche Erklärung für das fehlende „antidepressive“ Verhalten liegt, müssten diese bestimmt werden.

4.4. Schlussbetrachtungen und Ausblicke

Zusammenfassend haben die Ergebnisse aus dem Porsolt-Schwimmtest und Sucrose-preference Test die Bedeutung des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors für das depressionsähnliche Verhalten der Maus bestätigt.

Mit dem Vergleich des Verhaltens beider Genotypen im Porsolt-Schwimmtest nach Applikation verschiedener Antidepressiva konnte nachgewiesen werden, dass ein direkter Zusammenhang zwischen dem postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptor und einer Veränderung der Immobilitätszeit (dem Maß für depressionsähnliches Verhalten der Maus) besteht. Besonders deutlich war dies vor allem am Verhalten der transgenen Tiere nach der Behandlung mit dem Selektiven Serotonin Wiederaufnahmehemmer Citalopram zu erkennen.

Die Hypothese, nach der die Überexpression zu einer postsynaptischen Rezeptorreserve des 5-HT_{1A}-Rezeptors geführt hat, konnte mit dem Vergleich der Immobilitätszeiten, auf Grund der Auswirkungen des vollen (8-OH-DPAT) und des partiellen 5-HT_{1A}-Rezeptoragonisten (Buspiron) auf die motorische Aktivität der Tiere, nicht mit Sicherheit bestätigt werden.

Die Ergebnisse der Radiotelemetrie unterstützen die postulierte Stressresistenz der transgenen Tiere. Die Tiere zeigen im Gegensatz zu den Wildtyptieren nach ihrer ersten NaCl-Injektion keinen Anstieg der Körpertemperatur. Dieses Ergebnis sollte durch weitere Methoden, beispielsweise die Corticosteronbestimmung, bestätigt werden.

Die Rezeptorautoradiographie zeigt eine ausgeprägte Überexpression des 5-HT_{1A}-Rezeptors in den untersuchten Regionen des Cortex und Hippocampus. Die Expression des 5-HT_{1A}-Rezeptors war bei den weiblichen Tieren beider Genotypen höher als bei den männlichen. Serotoninspiegel und -umsätze sollten bei weiblichen Mäusen beider Genotypen in Cortex und Hippocampus und in den serotonergen Ursprungsgebieten der Raphe bestimmt werden, um die Hypothese zu überprüfen, nach der eine geringere Serotoninsynthese der Weibchen durch eine höhere Expression der Rezeptoren kompensiert wird.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Depression ist die häufigste psychische Erkrankung des Menschen. Die Zahl der Betroffenen nimmt seit Jahren stetig zu und damit die Notwendigkeit, bestehende Therapien zu verbessern und neue zu entwickeln. Seit über fünfzig Jahren steht das serotonerge Transmissionssystem im Interessensfokus der neuropharmakologischen Forschung zur Aufklärung der genauen Ätiopathogenese der Depression. Anfangs wurde in Neurotransmitterimbancen die Ursache für die Entstehung einer Depression gesehen. Neuere Befunde vor allem aus PET-Studien zeigen Veränderungen in Serotoninrezeptordichten und -bindungskapazitäten in Gehirnarealen, die mit der Krankheit Depression in Verbindung gebracht werden. Besondere Aufmerksamkeit wird dem 5-HT_{1A}-Rezeptor gewidmet. Dieser zeichnet sich dadurch aus, dass er in zwei Lokalisationen exprimiert wird: als präsynaptischer somatodendritischer Autorezeptor in der Raphe und als postsynaptischer Heterorezeptor in den Projektionsgebieten serotonerger Neurone wie Cortex und Hippocampus.

An unserem Institut existiert erstmalig eine Mauslinie, die den 5-HT_{1A}-Rezeptor postsynaptisch im Cortex und Hippocampus überexprimiert.

Ziel dieser Arbeit war, die Rolle des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors im depressionsähnlichen Verhalten dieser Mäuse nach der Behandlung mit Antidepressiva, die unterschiedlich am serotonergen und noradrenergen Transmissionssystem angreifen, in zwei Verhaltenstests (Porsolt-Schwimmtest und Open-field Test) zu untersuchen. Zusätzlich wurden die Tiere in einem Tiermodell der Depression (Sucrose-preference Test) getestet. Das Verhalten der transgenen Tiere wurde mit dem von Wildtyptieren verglichen. Um eine von Bert et al. (2006) postulierte Stressresistenz der transgenen Tiere zu überprüfen, wurde die Reaktion der Mäuse auf definierte Stressreize mittels Radiotelemetrie gemessen und aufgezeichnet. In einer geschlechtervergleichenden Rezeptorautoradiographie wurde mit [³H]8-OH-DPAT das Verteilungsmuster des 5-HT_{1A}-Rezeptors von transgenen und Wildtyptieren untersucht.

Im Porsolt-Schwimmtest, einem Test zur Beurteilung der antidepressiven Potenz eines Pharmakons verhielten sich die transgenen Mäuse ohne Substanzapplikation so, als wären sie mit einem Antidepressivum behandelt worden. Dies wurde im Sucrose-preference Test, einem Modell, welches das Freudverhalten der Tiere (Hedonie) untersucht, bestätigt. Sie zeigten nach einer chronischen, milden Stressperiode ein gleichbleibendes Maß an Hedonie und bestätigten den „antidepressiven“ Phänotyp aus dem Porsolt-Schwimmtest.

Der Vergleich der Immobilitätszeiten des vollen (8-OH-DPAT) und des partiellen 5-HT_{1A}-Rezeptoragonisten (Buspiron) scheint die Hypothese, nach der die Überexpression zu einer

postsynaptischen Rezeptorreserve geführt hat, zu bestätigen. Auf Grund der Auswirkungen beider Substanzen auf die motorische Aktivität der Tiere konnte dies jedoch nicht mit Sicherheit festgestellt werden.

Die Behandlung mit Citalopram, einem Selektiven Serotonin Wiederaufnahmehemmer (SSRI), hat bei beiden Genotypen und Geschlechtern eine Abnahme der Immobilitätszeit bedingt. Der besonders ausgeprägte Effekt bei den transgenen Tieren unterstreicht die Rolle des postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptors im Wirkungsmechanismus dieses SSRI.

Die Effekte von Reboxetin, einem Selektiven Noradrenalin Wiederaufnahmehemmer (SNRI), auf das Schwimmverhalten der transgenen Mäuse waren überraschend. Die Behandlung mit Reboxetin veränderte die Immobilitätszeit der transgenen Tiere nicht. Dieses Ergebnis belegt die Schwierigkeit nur ein Transmissionssystem isoliert zu untersuchen. Der Eingriff in das physiologische Gleichgewicht durch die Überexpression hat bei den transgenen Tieren zu einem erhöhten Noradrenalin Spiegel im Hypothalamus geführt. Dieser hat möglicherweise Auswirkungen auf die Rezeptorsensibilitäten des noradrenergen Systems, was so die fehlende Wirkung von Reboxetin bei den transgenen Tieren im Porsolt-Schwimmtest erklären könnte.

Die Ergebnisse zum depressionsähnlichen Verhalten nach der Behandlung mit Tianeptin, einem atypischen Antidepressivum, das die Wiederaufnahme von Serotonin beschleunigt (SSRE), sind dahingehend zu interpretieren, dass die akute Wirkung von Tianeptin, die eine Abnahme der Immobilitätszeit zur Folge hat, durch den postsynaptischen 5-HT_{1A}-Rezeptor vermittelt wird, die Überexpression diese Wirkung aber nicht begünstigt.

Aus den Ergebnissen der Radiotelemetrierversuche lässt sich die postulierte Stressresistenz ableiten. Die transgenen Tiere zeigen im Gegensatz zu den Wildtypen nach der ersten NaCl-Injektion keinen Anstieg der Körpertemperatur. Dieses Ergebnis sollte, beispielsweise durch Corticosteronbestimmung, verifiziert werden.

Die Bilder der Rezeptorautoradiographie zeigen eine ausgeprägte Überexpression des 5-HT_{1A}-Rezeptors bei den transgenen Tieren in den untersuchten Regionen des Cortex und Hippocampus. Die Expression des 5-HT_{1A}-Rezeptors war bei den weiblichen Tieren beider Genotypen höher als bei den männlichen. Hierin ist wahrscheinlich die neurobiologische Grundlage für Geschlechterdifferenzen im depressionsähnlichen Verhalten der Maus zu suchen.

6. SUMMARY

Functions of the postsynaptic serotonin_{1A}-receptor effects of antidepressants

Depression is the most common psychiatric disorder in humans. The number of patients has been increasing for years which, in turn, raised the necessity to improve existing treatments and to develop new ones. For over fifty years the serotonergic system has been in focus of neuropharmacologic research with the aim of discovering the exact pathogenesis of depression. In the beginning an imbalance of transmitters was thought to be the cause for developing depression. More recent results, especially from PET-studies, showed changes in the concentration and binding potential of serotonin receptors in brain areas that have been linked with depression. Special attention has been paid to the 5-HT_{1A}-receptor. It is notable by being expressed in two locations, presynaptic as a somatodendritic autoreceptor in the raphe and postsynaptic as a heteroreceptor in the areas of projections of serotonergic neurons, e.g. cortex and hippocampus.

At our institute exists for the first time a mouse line overexpressing the 5-HT_{1A}-receptor postsynaptically, mainly in cortex and hippocampus.

Aim of this study was to investigate the role of the postsynaptic 5-HT_{1A}-receptors for depression-like behaviour in these mice after treating them with antidepressants, that affect either the serotonergic or noradrenergic transmission system in two behavioural tests. Additionally the animals were tested in an animal model of depression. The behaviour of transgenic animals was compared with wild type mice behaviour. In order to test a stress resistance of the transgenic animals, as postulated by Bert et al. (2006), the reaction of mice to defined stress stimuli was measured by radiotelemetry. In a receptor autoradiography using [³H]-labeled 8-OH-DPAT, the distribution pattern of the 5-HT_{1A}-receptor in transgenic and wild type mice as well as male and female mice was compared.

In the Porsolt-swim test, a test to assess the antidepressant potential of a drug, non-treated transgenic mice behaved as if they had been treated with antidepressants. This was supported in the sucrose-preference test, a model that examines hedonistic impulses of the animals. After a chronic mild phase of stress, they still showed a constant level of hedonic behaviour and thus affirmed the „antidepressant“ phenotype at the Porsolt-swim test.

The comparison of immobility times between the full (8-OH-DPAT) and partial 5-HT_{1A}-agonist (buspirone) seemed to confirm the hypothesis that the overexpression led to a postsynaptic receptor reserve. Since both substances affect the animal's locomotor activity, this could not be proved conclusively and needs further elucidation.

Treatment with citalopram, a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI), caused decreased immobility times in both genotypes and sexes. The marked effect in transgenic animals underlines the role of 5-HT_{1A}-receptors in the mediation of the antidepressant effect of Citalopram

The effects of reboxetine, a selective noradrenalin reuptake inhibitor on the swimming behaviour of transgenic mice were surprising. The administration of reboxetine did not have a modulating effect on the immobility time. This shows the challenge set by trying to examine only one transmission system isolatedly. The change of the physiologic balance, the overexpression, led to an increase of the level of noradrenalin in the hypothalamus. This might have affected the sensibility of the noradrenergic receptors and could explain the lack of effect of reboxetine in transgenic animals in the Porsolt-swim test.

The results concerning depression-like behaviour after treatment with tianeptine, an atypical antidepressant which enhances the reuptake of serotonin (SSRE), suggest that the acute effects of tianeptine in the Porsolt-swim test, the decreased immobility time, are not primarily caused by the postsynaptic 5-HT_{1A}-receptor.

The results of the radiotelemetric study confirm the postulated stress resistance of transgenic mice. The transgenic animals showed no increase in body temperature after the first saline-injection in contrast to the wild type.

The images of the receptor autoradiography showed a marked overexpression of the 5-HT_{1A}-receptor in areas of cortex und hippocampus. The expression of the 5-HT_{1A}-receptor in female animals of both genotypes was higher than in the males.

7. ANHANG

7.1. Übersicht Immobilitätszeiten (Porsolt-Schwimmtest) und Strecken (Open-field Test)

In den Tabellen 7-17 sind die Durchschnittswerte (MEAN±SEM) der Immobilitätszeiten [s] aus dem Porsolt-Schwimmtest und der zurückgelegten Strecken [cm] im Open-field-Test der Mäuse beider Genotypen und Geschlechter unter Substanzeinfluss aufgeführt.

Unbehandelt und NaCl-Applikation

Tabelle 6: Immobilitätszeiten (MEAN±SEM) in [s] im Porsolt-Schwimmtest von Wildtyp (WT) und transgenen Tieren (TX) beider Geschlechter: **unbehandelt** und nach **NaCl-Applikation**, [n] Anzahl der Tiere.

| | ♂ | | ♀ | |
|-------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| | WT | TX | WT | TX |
| unbehandelt | 113,9±14,2 [7] | 66,1±12,9 [11] | 122,9±14,9 [10] | 134,0±22,0 [10] |
| NaCl | 184,3±15,8 [6] | 107,9±13,2 [9] | 133,0±8,3 [12] | 165,3±19,2 [6] |

Effekte von 8-OH-DPAT

Tabelle 7: Immobilitätszeiten (MEAN±SEM) in [s] im Porsolt-Schwimmtest von Wildtyp (WT) und transgenen Tieren (TX) beider Geschlechter nach **Applikation von 8-OH-DPAT**, [n] Anzahl der Tiere.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 169,8±13,3 [8] | 106,2±8,3 [11] | 156,0±12,8 [14] | 143,6±20,2 [11] |
| 0,04 | - | 113,3±7,3 [11] | 141,5±7,7 [8] | 235,6±16,4 [11] |
| 0,1 | 139,5±17,9 [4] | 141,5±7,7 [6] | 167,8±12,8 [11] | 176,3±13,5 [6] |
| 0,25 | 112,4±13,8 [9] | 235,6±16,4 [12] | 133,4±10,7 [10] | 239,3±27,9 [12] |
| 0,75 | 107,7±19,1 [10] | - | - | - |

Tabelle 8: Strecken (MEAN±SEM) in [cm] im Open-field Test von Wildtyp (WT) und transgenen Tieren (TX) beider Geschlechter nach **Applikation von 8-OH-DPAT**, [n], Daten bereits veröffentlicht in Bert et al (2006).

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 3471±428 [18] | 3294±221 [9] | 3303±435 [13] | 2880±379 [11] |
| 0,1 | 3543±439 [16] | 3067±200 [9] | 3583±316 [20] | 3057±334 [11] |
| 0,25 | - | 1743±540 [10] | - | 1840±365 [10] |
| 0,5 | 2568±309 [18] | 288±79 [11] | 3115±307 [17] | 1845±370 [10] |
| 1,0 | 2544±256 [18] | - | 2487±275 [15] | - |

Effekte von Buspiron

Tabelle 9: Immobilitätszeiten (MEAN±SEM) in [s] im Porsolt-Schwimmtest von Wildtyp (WT) und transgenen Tieren (TX) beider Geschlechter nach **Applikation von Buspiron**, [n] Anzahl der Tiere.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 122,1±23,6 [8] | 154,6±19,5 [8] | 138,6±11,8 [8] | 151,2±16,7 [8] |
| 1 | 148,1±9,9 [11] | 150,2±9,5 [12] | 130,6±8,1 [10] | 157,8±12,3 [12] |
| 3 | 197,9±6,0 [12] | 215,7± 30,6 [4] | 132,1±13,6 [14] | 209,5±20,3 [4] |

Tabelle 10: Strecken (MEAN±SEM) in [cm] im Open-field Test von Wildtyp (WT) und transgenen Tieren (TX) beider Geschlechter nach **Applikation von Buspiron**, [n] Anzahl der Tiere.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 3440±213 [8] | 4569±194 [8] | 5255±439 [6] | 4034±511 [5] |
| 1 | 2869±356 [8] | 2642±343 [10] | 4942±381 [6] | 3153±81 [6] |
| 3 | 2372±215 [9] | 2052±202 [8] | 3347±514 [5] | 2086±304 [4] |

Effekte von Citalopram

Tabelle 11: Immobilitätszeiten (MEAN±SEM) in [s] im Porsolt-Schwimmtest von Wildtyp (WT) und transgenen Tieren (TX) beider Geschlechter nach **Applikation von Citalopram**, [n] Anzahl der Tiere.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 169,0±10,4 [8] | 193,2±11,5 [8] | 125,1±14,3 [8] | 171,1±17,5 [8] |
| 5 | 104,5±15,7 [11] | 96,4±13,8 [12] | 107,3±20,0 [8] | 105,3±15,9 [12] |
| 10 | 107,0±15,2 [11] | 83,6±14,8 [9] | 84,4±12,2 [8] | 74,2±7,3 [10] |

Tabelle 12: Strecken (MEAN±SEM) in [cm] im Open-field Test von Wildtyp (WT) und transgenen Tieren (TX) beider Geschlechter nach **Applikation von Citalopram**, [n] Anzahl der Tiere.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 4303±322 [5] | 4425±407 [4] | 5255±439 [6] | 4034±511 [5] |
| 5 | 6479±258 [6] | 4828±121 [6] | 5789±356 [6] | 5065±164 [6] |
| 10 | 7161±254 [7] | 5393±404 [5] | 5101±726 [6] | 5261±134 [6] |

Effekte von Reboxetin

Tabelle 13: Immobilitätszeiten (MEAN±SEM) in [s] im Porsolt-Schwimmtest von Wildtyp (WT) und transgenen Tieren (TX) beider Geschlechter nach **Applikation von Reboxetin**, [n] Anzahl der Tiere.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|--------------------|--------------------|------------------|-------------------|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 131,3±18,4 [12] | 143,3±11,1 [8] | 131,1±7,9 [5] | 170,2±16,5 [7] |
| 10 | 123,1±16,0 [10] | 143,6±10,5 [10] | - | - |
| 20 | 104,5±15,3 [10] | 143,9±11,6 [10] | 89,4±15,3 [7] | 147,3±8,3 [9] |
| 40 | 99,6±12,7 [8] | 98,6±14,4 [8] | - | - |

Tabelle 14: Strecken (MEAN±SEM) in [cm] im Open-field Test von Wildtyp (WT) und transgenen Tieren (TX) beider Geschlechter nach **Applikation von Reboxetin**, [n] Anzahl der Tiere.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|----|----|-----------------|-----------------|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | - | - | 5255±439 [6] | 4034±511 [5] |
| 20 | - | - | 3273±324 [6] | 2220±184 [6] |

Effekte von Tianeptin

Tabelle 15: Immobilitätszeiten (MEAN±SEM) in [s] im Porsolt-Schwimmtest von Wildtyp (WT) und transgenen Tieren (TX) beider Geschlechter nach **Applikation von Tianeptin**, [n] Anzahl der Tiere.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 140,2±19,0 [6] | 22,7±11,3 [8] | 133,4±15,5 [10] | 161,7±13,1 [6] |
| 10 | 111,5±11,0 [12] | 146,6±12,3 [11] | 132,8±8,9 [12] | 149,2±20,6 [12] |
| 20 | 70,5±10,6 [12] | 149,4±10,9 [11] | 103,9±11,6 [13] | 163,1±15,6 [9] |
| 30 | - | - | 83,6±14,5 [8] | 47,6±12,4 [8] |

Tabelle 16: Strecken (MEAN±SEM) in [cm] im Open-field Test von Wildtyp (WT) und transgenen Tieren (TX) beider Geschlechter nach **Applikation von Tianeptin**, [n] Anzahl der Tiere.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 3977±362 [8] | 3738±200 [7] | 5269±126 [7] | 3809±185 [8] |
| 20 | 3355±708 [7] | 3594±274 [8] | - | - |
| 30 | - | - | 3502±458 [8] | 3228±500 [8] |

7.2. Übersicht Verbrauche (Sucrose-preference Test)

In den Tabellen 18 und 19 sind die Mediane der Verbräuche [g/kg KG] aus dem Sucrose-preference Test nach einem, bzw. drei Monaten Einzelhaltung aufgeführt. N=6 männliche Tiere pro Genotyp (Wildtyp-WT und transgene Tiere-TX).

Tabelle 17: Nach 1 Monat Einzelhaltung: Verbräuche beider Genotypen in [g/kg KG].

| | 0. Versuchstag | | 1. Versuchstag | | 2. Versuchstag | |
|--------------------------------------|----------------|--------|----------------|--------|----------------|----------------|
| | links | rechts | links | rechts | links | rechts |
| Lage der Flasche | links | rechts | links | rechts | links | rechts |
| Füllung der Flasche | Wasser | Wasser | Saccharoselsg. | Wasser | Wasser | Saccharoselsg. |
| WT-Konsum Median [g/kg KG] | 40 | 173 | 101 | 140 | 35 | 126 |
| TX-Konsum Median [g/kg KG] | 45 | 104 | 109 | 28 | 35 | 126 |

Tabelle 18: Nach 3 Monaten Einzelhaltung: Verbräuche beider Genotypen in [g/kg KG].

| | 0. Versuchstag | | 1. Versuchstag | | 2. Versuchstag | |
|--------------------------------------|----------------|--------|----------------|--------|----------------|----------------|
| | links | rechts | links | rechts | links | rechts |
| Lage der Flasche | links | rechts | links | rechts | links | rechts |
| Füllung der Flasche | Wasser | Wasser | Saccharoselsg. | Wasser | Wasser | Saccharoselsg. |
| WT-Konsum Median [g/kg KG] | 22 | 96 | 48 | 64 | 21 | 72 |
| TX-Konsum Median [g/kg KG] | 26 | 60 | 72 | 29 | 11 | 68 |

7.2. Versuchspläne mit Tierzahlen

Die variierenden Gruppengrößen sind zuchtbedingt. Die Fruchtbarkeit unserer transgenen Tiere ist geringer als die der Wildtyptiere, die Häufigkeit und die Zahl der Würfe ist kleiner, deswegen ist ihre Vermehrung schlecht planbar.

Die Zucht von Tierüberschüssen wollte vermieden werden.

Versuchsplan mit Tierzahlen für den Open-field Test

Tabelle 19: Anzahl der verwendeten Tiere im Open-field Test nach **Applikation von 8-OH-DPAT**. Daten bereits veröffentlicht in Bert et al (2006).

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|----|----|----|----|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 18 | 9 | 13 | 11 |
| 0,1 | 16 | 9 | 20 | 11 |
| 0,25 | - | 10 | - | 10 |
| 0,5 | 18 | 11 | 17 | 10 |
| 1,0 | 18 | - | 15 | - |

Tabelle 20: Anzahl der verwendeten Tiere im Open-field Test nach **Applikation von Buspiron**.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|----|----|----|----|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 8 | 8 | 6 | 5 |
| 1 | 8 | 10 | 6 | 6 |
| 3 | 9 | 8 | 5 | 4 |

Tabelle 21: Anzahl der verwendeten Tiere im Open-field Test nach **Applikation von Citalopram**.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|----|----|----|----|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 5 | 4 | 6 | 5 |
| 5 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| 10 | 7 | 5 | 6 | 6 |

Tabelle 22: Anzahl der verwendeten Tiere im Open-field Test nach **Applikation von Reboxetin**

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|----|----|----|----|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | - | - | 6 | 5 |
| 20 | - | - | 6 | 6 |

Tabelle 23: Anzahl der verwendeten Tiere im Open-field Test nach **Applikation von Tianeptin**.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|----|----|----|----|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 8 | 7 | 7 | 8 |
| 20 | 7 | 8 | - | - |
| 30 | - | - | 8 | 8 |

Versuchsplan mit Tierzahlen für den Porsolt-Schwimmtest

Tabelle 24: Anzahl der verwendeten Tiere im Porsolt-Schwimmtest, **unbehandelt** und nach **Applikation von NaCl**.

| | ♂ | | ♀ | |
|-------------|----|----|----|----|
| | WT | TX | WT | TX |
| unbehandelt | 7 | 11 | 10 | 10 |
| NaCl | 6 | 9 | 12 | 6 |

Tabelle 25: Anzahl der verwendeten Tiere im Porsolt-Schwimmtest nach **Applikation von 8-OH-DPAT**.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|----|----|----|----|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 8 | 11 | 14 | 11 |
| 0,04 | - | 11 | 8 | 11 |
| 0,1 | 4 | 6 | 11 | 6 |
| 0,25 | 9 | 12 | 10 | 12 |
| 0,75 | 10 | - | - | - |

Tabelle 26: Anzahl der verwendeten Tiere im Porsolt-Schwimmtest nach **Applikation von Buspiron**.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|----|----|----|----|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 1 | 11 | 12 | 10 | 12 |
| 3 | 12 | 10 | 14 | 11 |

Tabelle 27: Anzahl der verwendeten Tiere im Porsolt-Schwimmtest nach **Applikation von Citalopram**.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|----|----|----|----|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 5 | 11 | 12 | 8 | 12 |
| 10 | 11 | 9 | 8 | 10 |

Tabelle 28: Anzahl der verwendeten Tiere im Porsolt-Schwimmtest nach **Applikation von Reboxetin**.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|----|----|----|----|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 12 | 8 | 5 | 7 |
| 10 | 10 | 10 | - | - |
| 20 | 10 | 10 | 7 | 9 |
| 40 | 8 | 8 | - | - |

Tabelle 29: Anzahl der verwendeten Tiere im Porsolt-Schwimmtest nach **Applikation von Tianeptin**.

| Dosis [mg/kg] | ♂ | | ♀ | |
|---------------|----|----|----|----|
| | WT | TX | WT | TX |
| NaCl | 6 | 8 | 10 | 6 |
| 10 | 12 | 11 | 12 | 12 |
| 20 | 12 | 11 | 13 | 9 |
| 30 | - | - | 8 | 8 |

8. LITERATURVERZEICHNIS

- Adriaan Bouwknecht, J., Olivier, B. und Paylor, R. E. (2007) The stress-induced hyperthermia paradigm as a physiological animal model for anxiety: a review of pharmacological and genetic studies in the mouse. *Neurosci Biobehav Rev* **31** (1), 41-59.
- Albert, P. R., Lembo, P., Storing, J. M., Charest, A. und Saucier, C. (1996) The 5-HT_{1A} receptor: signaling, desensitization, and gene transcription. *Neuropsychopharmacology* **14** (1), 19-25.
- Antonijevic, I. A. (2006) Depressive disorders -- is it time to endorse different pathophysiologies? *Psychoneuroendocrinology* **31** (1), 1-15.
- Arango, V., Underwood, M. D., Gubbi, A. V. und Mann, J. J. (1995) Localized alterations in pre- and postsynaptic serotonin binding sites in the ventrolateral prefrontal cortex of suicide victims. *Brain Res* **688** (1-2), 121-133.
- Arbeit, Bundesagentur für (2004) Arbeitslosenzahlen 1991- 2004.
- Ärzteschaft, A. d. d. (2006) Arzneiverordnung in der Praxis: Therapieempfehlungen Depression. AVP.
- Asberg, M., Traskman, L. und Thoren, P. (1976) 5-HIAA in the cerebrospinal fluid. A biochemical suicide predictor? *Arch Gen Psychiatry* **33** (10), 1193-1197.
- Axelrod, J., Whitby, L. G. und Hertting, G. (1961) Effect of psychotropic drugs on the uptake of H₃-norepinephrine by tissues. *Science* **133**, 383-384.
- Bailey, K. R., Rustay, N. R. und Crawley, J. N. (2006) Behavioral phenotyping of transgenic and knockout mice: practical concerns and potential pitfalls. *ILAR J* **47** (2), 124-131.
- Barnes, N. M. und Sharp, T. (1999) A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* **38** (8), 1083-1152.
- Bert, B., Fink, H., Hortnagl, H., Veh, R. W., Davies, B., Theuring, F. und Kusserow, H. (2006) Mice over-expressing the 5-HT_{1A} receptor in cortex and dentate gyrus display exaggerated locomotor and hypothermic response to 8-OH-DPAT. *Behav Brain Res* **167** (2), 328-341.

- Bert, B., Fink, H., Rothe, J., Walstab, J. und Bonisch, H. (2008) Learning and memory in 5-HT(1A)-receptor mutant mice. *Behav Brain Res (epub)*.
- Biegón, A., Bercovitz, H. und Samuel, D. (1980) Serotonin receptor concentration during the estrous cycle of the rat. *Brain Res* **187** (1), 221-225.
- Bundeszentrale für politische Bildung (2005) Die soziale Situation in Deutschland http://www.bpb.de/wissen/W1SVGZ,,0,SingleHaushalte_nach_Alter_und_Geschlecht.html, Stand 20.5.2008
- Blanchard, R. J., Griebel, G., Guardiola-Lemaitre, B., Brush, M. M., Lee, J. und Blanchard, D. C. (1997) An ethopharmacological analysis of selective activation of 5-HT_{1A} receptors: the mouse 5-HT_{1A} syndrome. *Pharmacol Biochem Behav* **57** (4), 897-908.
- Blier, P., Bergeron, R. und de Montigny, C. (1997) Selective activation of postsynaptic 5-HT_{1A} receptors induces rapid antidepressant response. *Neuropsychopharmacology* **16** (5), 333-338.
- Blier, P. und Ward, N. M. (2003) Is there a role for 5-HT_{1A} agonists in the treatment of depression? *Biol Psychiatry* **53** (3), 193-203.
- Boccia, M. L., Razzoli, M., Vadlamudi, S. P., Trumbull, W., Caleffie, C. und Pedersen, C. A. (2007) Repeated long separations from pups produce depression-like behavior in rat mothers. *Psychoneuroendocrinology* **32** (1), 65-71.
- Borsini, F. und Meli, A. (1988) Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology (Berl)* **94** (2), 147-160.
- Bremner, J. D. (2006) Stress and brain atrophy. *CNS Neurol Disord Drug Targets* **5** (5), 503-512.
- Brocco, M., Dekeyne, A., Veiga, S., Girardon, S. und Millan, M. J. (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** (4), 667-680.

- Cairncross, K. D., Cox, B., Forster, C. und Wren, A. F. (1977) The olfactory bulbectomized rat: a simple model for detecting drugs with antidepressant potential [proceedings]. *Br J Pharmacol* **61** (3), 497P.
- Carli, M., Prontera, C. und Samanin, R. (1989) Effect of 5-HT_{1A} agonists on stress-induced deficit in open field locomotor activity of rats: evidence that this model identifies anxiolytic-like activity. *Neuropharmacology* **28** (5), 471-476.
- Carlsson, A., Fuxe, K. und Ungerstedt, U. (1968) The effect of imipramine on central 5-hydroxytryptamine neurons. *J Pharm Pharmacol* **20** (2), 150-151.
- Castren, E. (2005) Is mood chemistry? *Nat Rev Neurosci* **6** (3), 241-246.
- Centeno, M. L., Sanchez, R. L., Cameron, J. L. und Bethea, C. L. (2007) Hypothalamic expression of serotonin 1A, 2A and 2C receptor and GAD67 mRNA in female cynomolgus monkeys with different sensitivity to stress. *Brain Res* **1142**, 1-12.
- Cervo, L., Grignaschi, G. und Samanin, R. (1988) Different effects of intracerebral and systemic administration of buspirone in the forced swimming test: involvement of a metabolite. *Life Sci* **43** (25), 2095-2102.
- Chen, N. H. und Reith, M. E. (1995) Monoamine interactions measured by microdialysis in the ventral tegmental area of rats treated systemically with (+/-)-8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin. *J Neurochem* **64** (4), 1585-1597.
- Chrousos, G. P. und Gold, P. W. (1992) The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *Jama* **267** (9), 1244-1252.
- Chugani, D. C., Muzik, O., Chakraborty, P., Mangner, T. und Chugani, H. T. (1998) Human brain serotonin synthesis capacity measured in vivo with alpha-[C-11]methyl-L-tryptophan. *Synapse* **28** (1), 33-43.
- Compton, W. M., Conway, K. P., Stinson, F. S. und Grant, B. F. (2006) Changes in the prevalence of major depression and comorbid substance use disorders in the United States between 1991-1992 and 2001-2002. *Am J Psychiatry* **163** (12), 2141-2147.

- Connor, T. J., Kelliher, P., Harkin, A., Kelly, J. P. und Leonard, B. E. (1999) Reboxetine attenuates forced swim test-induced behavioural and neurochemical alterations in the rat. *Eur J Pharmacol* **379** (2-3), 125-133.
- Cooper, K. E., Cranston, W. I. und Honour, A. J. (1965) Effects of intraventricular and intrahypothalamic injection of noradrenaline and 5-HT on body temperature in conscious rabbits. *J Physiol* **181** (4), 852-864.
- Coppen, A., Eccleston, E. G. und Peet, M. (1973) Total and free tryptophan concentration in the plasma of depressive patients. *Lancet* **2** (7820), 60-63.
- Crabbe, J. C., Wahlsten, D. und Dudek, B. C. (1999) Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment. *Science* **284** (5420), 1670-1672.
- Cryan, J. F. und Holmes, A. (2005) The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nat Rev Drug Discov* **4** (9), 775-790.
- Cryan, J. F., Markou, A. und Lucki, I. (2002) Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci* **23** (5), 238-245.
- Cryan, J. F., Mombereau, C. und Vassout, A. (2005a) The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci Biobehav Rev* **29** (4-5), 571-625.
- Cryan, J. F., Valentino, R. J. und Lucki, I. (2005b) Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. *Neurosci Biobehav Rev* **29** (4-5), 547-569.
- Czeh, B., Michaelis, T., Watanabe, T., Frahm, J., de Biurrun, G., van Kampen, M., Bartolomucci, A. und Fuchs, E. (2001) Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98** (22), 12796-12801.
- Dahlstroem, A. und Fuxe, K. (1964) Evidence for the Existence of Monoamine-Containing Neurons in the Central Nervous System. I. Demonstration of Monoamines in the Cell Bodies of Brain Stem Neurons. *Acta Physiol Scand Suppl* 232: 231-255.

- Datla, K. P. und Curzon, G. (1993) Behavioural and neurochemical evidence for the decrease of brain extracellular 5-HT by the antidepressant drug tianeptine. *Neuropharmacology* **32** (9), 839-845.
- David, D. J., Renard, C. E., Jolliet, P., Hascoet, M. und Bourin, M. (2003) Antidepressant-like effects in various mice strains in the forced swimming test. *Psychopharmacology (Berl)* **166** (4), 373-382.
- De Vry, J., Schreiber, R., Melon, C., Dalmus, M. und Jentsch, K. R. (2004) 5-HT_{1A} receptors are differentially involved in the anxiolytic- and antidepressant-like effects of 8-OH-DPAT and fluoxetine in the rat. *Eur Neuropsychopharmacol* **14** (6), 487-495.
- Detke, M. J., Wieland, S. und Lucki, I. (1995) Blockade of the antidepressant-like effects of 8-OH-DPAT, buspirone and desipramine in the rat forced swim test by 5HT_{1A} receptor antagonists. *Psychopharmacology (Berl)* **119** (1), 47-54.
- Drevets, W. C., Frank, E., Price, J. C., Kupfer, D. J., Holt, D., Greer, P. J., Huang, Y., Gautier, C. und Mathis, C. (1999) PET imaging of serotonin 1A receptor binding in depression. *Biol Psychiatry* **46** (10), 1375-1387.
- Elhwuegi, A. S. (2004) Central monoamines and their role in major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **28** (3), 435-451.
- EMA (2006) Questions and answers on recommendation for refusal of marketing authorisation for VALDOXAN/THYMANAX. Doc.Ref. EMA/267703/2006.
- Emslie, C., Ridge, D., Ziebland, S. und Hunt, K. (2007) Exploring men's and women's experiences of depression and engagement with health professionals: more similarities than differences? A qualitative interview study. *BMC Fam Pract* **8**, 43-62.
- Evenden, J. L. und Angeby-Moller, K. (1990) Effects of 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin (8-OH-DPAT) on locomotor activity and rearing of mice and rats. *Psychopharmacology (Berl)* **102** (4), 485-491.
- Falagas, M. E., Vardakas, K. Z. und Vergidis, P. I. (2007) Under-diagnosis of common chronic diseases: prevalence and impact on human health. *Int J Clin Pract* **61** (9), 1569-1579.

- Flugge, G., Pfender, D., Rudolph, S., Jarry, H. und Fuchs, E. (1999) 5HT1A-receptor binding in the brain of cyclic and ovariectomized female rats. *J Neuroendocrinol* **11** (4), 243-249.
- Francis, D. D. und Meaney, M. J. (1999) Maternal care and the development of stress responses. *Curr Opin Neurobiol* **9** (1), 128-134.
- Fuchs, E., Czeh, B., Kole, M. H., Michaelis, T. und Lucassen, P. J. (2004) Alterations of neuroplasticity in depression: the hippocampus and beyond. *Eur Neuropsychopharmacol* **14 Suppl 5**, S481-490.
- Gould, E., McEwen, B. S., Tanapat, P., Galea, L. A. und Fuchs, E. (1997) Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *J Neurosci* **17** (7), 2492-2498.
- Hale, K. D., Weigent, D. A., Gauthier, D. K., Hiramoto, R. N. und Ghanta, V. K. (2003) Cytokine and hormone profiles in mice subjected to handling combined with rectal temperature measurement stress and handling only stress. *Life Sci* **72** (13), 1495-1508.
- Harkin, A., Kelly, J. P., McNamara, M., Connor, T. J., Dredge, K., Redmond, A. und Leonard, B. E. (1999) Activity and onset of action of reboxetine and effect of combination with sertraline in an animal model of depression. *Eur J Pharmacol* **364** (2-3), 123-132.
- Harvey, K. V. und Balon, R. (1995) Augmentation with buspirone: a review. *Ann Clin Psychiatry* **7** (3), 143-147.
- Heisler, L. K., Chu, H. M., Brennan, T. J., Danao, J. A., Bajwa, P., Parsons, L. H. und Tecott, L. H. (1998) Elevated anxiety and antidepressant-like responses in serotonin 5-HT1A receptor mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95** (25), 15049-15054.
- Hillegaart, V., Wadenberg, M. L. und Ahlenius, S. (1989) Effects of 8-OH-DPAT on motor activity in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* **32** (3), 797-800.
- Hirvonen, J., Karlsson, H., Kajander, J., Lepola, A., Markkula, J., Rasi-Hakala, H., Nagren, K., Salminen, J. K. und Hietala, J. (2007) Decreased brain serotonin 5-HT1A receptor availability in medication-naive patients with major depressive disorder: an in-vivo

- imaging study using PET and [carbonyl-C]WAY-100635. *Int J Neuropsychopharmacol* **11** (4), 1-12.
- Hopf, S. (2003) In-vivo- und in-vitro-Untersuchungen zum Einfluss von Brain-derived Neurotrophic Factor auf die Entwicklung serotonerger Neurone im Gehirn der Maus, Doktorarbeit der Freien Universität Berlin, Berlin.
- Hoyer, D. und Martin, G. (1997) 5-HT receptor classification and nomenclature: towards a harmonization with the human genome. *Neuropharmacology* **36** (4-5), 419-428.
- Hughes, R. N. (1993) Effects on open-field behavior of diazepam and buspirone alone and in combination with chronic caffeine. *Life Sci* **53** (15), 1217-1225.
- Jacobs, B. L. und Azmitia, E. C. (1992) Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev* **72** (1), 165-229.
- Jacobson, L. und Sapolsky, R. (1991) The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocr Rev* **12** (2), 118-134.
- Jovanovic, H., Lundberg, J., Karlsson, P., Cerin, A., Saijo, T., Varrone, A., Halldin, C. und Nordstrom, A. L. (2008) Sex differences in the serotonin 1A receptor and serotonin transporter binding in the human brain measured by PET. *Neuroimage* **39** (3), 1408-1419.
- Kelly, J. P. und Leonard, B. E. (1994) The effect of tianeptine and sertraline in three animal models of depression. *Neuropharmacology* **33** (8), 1011-1016.
- Kitamura, Y. und Nagatani, T. (1996) Buspirone enhances immobility in the forced swim test in mice. *Pharmacol Biochem Behav* **55** (3), 445-451.
- Kramer, K., Kinter, L., Brockway, B. P., Voss, H. P., Remie, R. und Van Zutphen, B. L. (2001) The use of radiotelemetry in small laboratory animals: recent advances. *Contemp Top Lab Anim Sci* **40** (1), 8-16.
- Kusmider, M., Solich, J., Palach, P. und Dziejzicka-Wasylewska, M. (2007) Effect of citalopram in the modified forced swim test in rats. *Pharmacol Rep* **59** (6), 785-788.
- Kusserow, H., Davies, B., Hortnagl, H., Voigt, I., Stroh, T., Bert, B., Deng, D. R., Fink, H., Veh, R. W. und Theuring, F. (2004) Reduced anxiety-related behaviour in transgenic

- mice overexpressing serotonin 1A receptors. *Brain Res Mol Brain Res* **129** (1-2), 104-116.
- Lapin, I. P. und Oxenkrug, G. F. (1969) Intensification of the central serotonergic processes as a possible determinant of the thymoleptic effect. *Lancet* **1** (7586), 132-136.
- Lehr, E. (1989) Distress call reactivation in isolated chicks: a behavioral indicator with high selectivity for antidepressants. *Psychopharmacology (Berl)* **97** (2), 145-146.
- Lemondé, S., Du, L., Bakish, D., Hrdina, P. und Albert, P. R. (2004) Association of the C(-1019)G 5-HT1A functional promoter polymorphism with antidepressant response. *Int J Neuropsychopharmacol* **7** (4), 501-506.
- Leonard, B. E. (1997) Noradrenaline in basic models of depression. *Eur Neuropsychopharmacol* **7 Suppl 1**, 71-13.
- Leonard, B. E. (2005) The HPA and immune axes in stress: the involvement of the serotonergic system. *Eur Psychiatry* **20 Suppl 3**, S302-306.
- Lepine, J. P., Altamura, C., Ansseau, M., Gutierrez, J. L., Bitter, I., Lader, M. und Waintraub, L. (2001) Tianeptine and paroxetine in major depressive disorder, with a special focus on the anxious component in depression: an international, 6-week double-blind study dagger. *Hum Psychopharmacol* **16** (3), 219-227.
- Linkowski, P., Mendlewicz, J., Kerkhofs, M., Leclercq, R., Golstein, J., Brasseur, M., Copinschi, G. und Van Cauter, E. (1987) 24-hour profiles of adrenocorticotropin, cortisol, and growth hormone in major depressive illness: effect of antidepressant treatment. *J Clin Endocrinol Metab* **65** (1), 141-152.
- Löffler, G. P., Petro E.; (2007) *Biochemie und Pathobiochemie*. Heinrich, Peter C., 1263
- Lopez-Figueroa, A. L., Norton, C. S., Lopez-Figueroa, M. O., Armellini-Dodel, D., Burke, S., Akil, H., Lopez, J. F. und Watson, S. J. (2004) Serotonin 5-HT1A, 5-HT1B, and 5-HT2A receptor mRNA expression in subjects with major depression, bipolar disorder, and schizophrenia. *Biol Psychiatry* **55** (3), 225-233.
- Lopez, J. F., Chalmers, D. T., Little, K. Y. und Watson, S. J. (1998) A.E. Bennett Research Award. Regulation of serotonin1A, glucocorticoid, and mineralocorticoid receptor in

- rat and human hippocampus: implications for the neurobiology of depression. *Biol Psychiatry* **43** (8), 547-573.
- Lucassen, P. J., Fuchs, E. und Czeh, B. (2004) Antidepressant treatment with tianeptine reduces apoptosis in the hippocampal dentate gyrus and temporal cortex. *Biol Psychiatry* **55** (8), 789-796.
- Lucki, I. (1997) The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behav Pharmacol* **8** (6-7), 523-532.
- Luscombe, G. P., Martin, K. F., Hutchins, L. J., Gosden, J. und Heal, D. J. (1993) Mediation of the antidepressant-like effect of 8-OH-DPAT in mice by postsynaptic 5-HT_{1A} receptors. *Br J Pharmacol* **108** (3), 669-677.
- Magarinos, A. M., Deslandes, A. und McEwen, B. S. (1999) Effects of antidepressants and benzodiazepine treatments on the dendritic structure of CA3 pyramidal neurons after chronic stress. *Eur J Pharmacol* **371** (2-3), 113-122.
- Matsuda, T., Somboonthum, P., Suzuki, M., Asano, S. und Baba, A. (1995) Antidepressant-like effect by postsynaptic 5-HT_{1A} receptor activation in mice. *Eur J Pharmacol* **280** (2), 235-238.
- McArthur, R. und Borsini, F. (2006) Animal models of depression in drug discovery: a historical perspective. *Pharmacol Biochem Behav* **84** (3), 436-452.
- McEwen, B. S. und Olie, J. P. (2005) Neurobiology of mood, anxiety, and emotions as revealed by studies of a unique antidepressant: tianeptine. *Mol Psychiatry* **10** (6), 525-537.
- Meana, J. J., Barturen, F. und Garcia-Sevilla, J. A. (1992) Alpha 2-adrenoceptors in the brain of suicide victims: increased receptor density associated with major depression. *Biol Psychiatry* **31** (5), 471-490.
- Meller, E., Goldstein, M. und Bohmaker, K. (1990) Receptor reserve for 5-hydroxytryptamine_{1A}-mediated inhibition of serotonin synthesis: possible relationship to anxiolytic properties of 5-hydroxytryptamine_{1A} agonists. *Mol Pharmacol* **37** (2), 231-237.

- Meltzer, C. C., Price, J. C., Mathis, C. A., Butters, M. A., Ziolkowski, S. K., Moses-Kolko, E., Mazumdar, S., Mulsant, B. H., Houck, P. R., Lopresti, B. J., Weissfeld, L. A. und Reynolds, C. F. (2004) Serotonin 1A receptor binding and treatment response in late-life depression. *Neuropsychopharmacology* **29** (12), 2258-2265.
- Mills, P. A., Huetteman, D. A., Brockway, B. P., Zwiers, L. M., Gelsema, A. J., Schwartz, R. S. und Kramer, K. (2000) A new method for measurement of blood pressure, heart rate, and activity in the mouse by radiotelemetry. *J Appl Physiol* **88** (5), 1537-1544.
- Millstein, R. A. und Holmes, A. (2007) Effects of repeated maternal separation on anxiety- and depression-related phenotypes in different mouse strains. *Neurosci Biobehav Rev* **31** (1), 3-17.
- Mitchell, H. A., Ahern, T. H., Liles, L. C., Javors, M. A. und Weinschenker, D. (2006) The effects of norepinephrine transporter inactivation on locomotor activity in mice. *Biol Psychiatry* **60** (10), 1046-1052.
- Mitchell, P. J. (2005) Antidepressant treatment and rodent aggressive behaviour. *Eur J Pharmacol* **526** (1-3), 147-162.
- Mocær, E., Rettori, M. C. und Kamoun, A. (1988) Pharmacological antidepressive effects and tianeptine-induced 5-HT uptake increase. *Clin Neuropharmacol* **11 Suppl 2**, 32-42.
- Munce, S. E. und Stewart, D. E. (2007) Gender differences in depression and chronic pain conditions in a national epidemiologic survey. *Psychosomatics* **48** (5), 394-399.
- Myers, R. D., Beleslin, D. B. und Rezvani, A. H. (1987) Hypothermia: role of alpha 1- and alpha 2-noradrenergic receptors in the hypothalamus of the cat. *Pharmacol Biochem Behav* **26** (2), 373-379.
- Nemeroff, C. B., Widerlov, E., Bissette, G., Walleus, H., Karlsson, I., Eklund, K., Kilts, C. D., Loosen, P. T. und Vale, W. (1984) Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science* **226** (4680), 1342-1344.

- Nishizawa, S., Benkelfat, C., Young, S. N., Leyton, M., Mzengeza, S., de Montigny, C., Blier, P. und Diksic, M. (1997) Differences between males and females in rates of serotonin synthesis in human brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94** (10), 5308-5313.
- Novartis (2006) Media release. <http://www.novartis.com/newsroom/media-releases/de/2006/1090335.shtml>. Stand: 15.7.2008
- Olivier, B., Zethof, T., Pattij, T., van Boogaert, M., van Oorschot, R., Leahy, C., Oosting, R., Bouwknecht, A., Veening, J., van der Gugten, J. und Groenink, L. (2003) Stress-induced hyperthermia and anxiety: pharmacological validation. *Eur J Pharmacol* **463** (1-3), 117-132.
- Organisation, World Health (2007) Production of ICD-11: The overall revision process. <http://extranet.who.int/icdrevision/help/docs/ICDRevision.pdf>. Stand: 14.5.2008
- Overstreet, D. H. (1993) The Flinders sensitive line rats: a genetic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev* **17** (1), 51-68.
- Paizanis, E., Hamon, M. und Lanfumey, L. (2007) Hippocampal neurogenesis, depressive disorders, and antidepressant therapy. *Neural Plast* **10**, 737-54.
- Papp, M., Willner, P. und Muscat, R. (1991) An animal model of anhedonia: attenuation of sucrose consumption and place preference conditioning by chronic unpredictable mild stress. *Psychopharmacology (Berl)* **104** (2), 255-259.
- Parks, C. L., Robinson, P. S., Sibille, E., Shenk, T. und Toth, M. (1998) Increased anxiety of mice lacking the serotonin1A receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95** (18), 10734-10739.
- Parsey, R. V., Oquendo, M. A., Ogden, R. T., Olvet, D. M., Simpson, N., Huang, Y. Y., Van Heertum, R. L., Arango, V. und Mann, J. J. (2006) Altered serotonin 1A binding in major depression: a [carbonyl-C-11]WAY100635 positron emission tomography study. *Biol Psychiatry* **59** (2), 106-113.
- Parsey, R. V., Oquendo, M. A., Simpson, N. R., Ogden, R. T., Van Heertum, R., Arango, V. und Mann, J. J. (2002) Effects of sex, age, and aggressive traits in man on brain serotonin 5-HT1A receptor binding potential measured by PET using [C-11]WAY-100635. *Brain Res* **954** (2), 173-182.

- Paxinos, G., Watson, C. (1997) The mouse brain in stereotaxic coordinates. Orlando, Academic Press,
- Pineyro, G., Deveault, L., Blier, P., Dennis, T. und de Montigny, C. (1995) Effect of acute and prolonged tianeptine administration on the 5-HT transporter: electrophysiological, biochemical and radioligand binding studies in the rat brain. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **351** (2), 111-118.
- Pittenger, C. und Duman, R. S. (2008) Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology* **33** (1), 88-109.
- Pollock, B. G. (2001) Citalopram: a comprehensive review. *Expert Opin Pharmacother* **2** (4), 681-698.
- Porsolt, R. D. (2000) Animal models of depression: utility for transgenic research. *Rev Neurosci* **11** (1), 53-58.
- Porsolt, R. D., Anton, G., Blavet, N. und Jalfre, M. (1978) Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol* **47** (4), 379-391.
- Ramboz, S., Oosting, R., Amara, D. A., Kung, H. F., Blier, P., Mendelsohn, M., Mann, J. J., Brunner, D. und Hen, R. (1998) Serotonin receptor 1A knockout: an animal model of anxiety-related disorder. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95** (24), 14476-14481.
- Raymond, J. R., Mukhin, Y. V., Gettys, T. W. und Garnovskaya, M. N. (1999) The recombinant 5-HT_{1A} receptor: G protein coupling and signalling pathways. *Br J Pharmacol* **127** (8), 1751-1764.
- Romans, S. E., Tyas, J., Cohen, M. M. und Silverstone, T. (2007) Gender differences in the symptoms of major depressive disorder. *J Nerv Ment Dis* **195** (11), 905-911.
- Rosa-Neto, P., Diksic, M., Okazawa, H., Leyton, M., Ghadirian, N., Mzengeza, S., Nakai, A., Debonnel, G., Blier, P. und Benkelfat, C. (2004) Measurement of brain regional alpha-[¹¹C]methyl-L-tryptophan trapping as a measure of serotonin synthesis in medication-free patients with major depression. *Arch Gen Psychiatry* **61** (6), 556-563.

- Rubio, G., San, L., Lopez-Munoz, F., Garcia-Garcia, P. und Alamo, C. (2003) [Combination therapy with reboxetine for major depression patients who are partial or nonresponders to serotonin selective reuptake inhibitors]. *Actas Esp Psiquiatr* **31** (6), 315-324.
- Rupprecht, R., Baghai, T. C. und Moller, H. J. (2004) [New developments in pharmacotherapy of depression]. *Nervenarzt* **75** (3), 273-280.
- Sakai, Y., Nishikawa, M., Leyton, M., Benkelfat, C., Young, S. N. und Diksic, M. (2006) Cortical trapping of alpha-[(11)C]methyl-l-tryptophan, an index of serotonin synthesis, is lower in females than males. *Neuroimage* **33** (3), 815-824.
- Sakr, A. und Andheria, M. (2001) Pharmacokinetics of bupirone extended-release tablets: a single-dose study. *J Clin Pharmacol* **41** (7), 783-789.
- Sanchez, C. und Meier, E. (1997) Behavioral profiles of SSRIs in animal models of depression, anxiety and aggression. Are they all alike? *Psychopharmacology (Berl)* **129** (3), 197-205.
- Schildkraut, J. J. (1965) The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry* **122** (5), 509-522.
- Schiller, L., Donix, M., Jahkel, M. und Oehler, J. (2006) Serotonin 1A and 2A receptor densities, neurochemical and behavioural characteristics in two closely related mice strains after long-term isolation. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **30** (3), 492-503.
- Sheline, Y. I., Gado, M. H. und Kraemer, H. C. (2003) Untreated depression and hippocampal volume loss. *Am J Psychiatry* **160** (8), 1516-1518.
- Sheline, Y. I., Sanghavi, M., Mintun, M. A. und Gado, M. H. (1999) Depression duration but not age predicts hippocampal volume loss in medically healthy women with recurrent major depression. *J Neurosci* **19** (12), 5034-5043.
- Sheline, Y. I., Wang, P. W., Gado, M. H., Csernansky, J. G. und Vannier, M. W. (1996) Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93** (9), 3908-3913.

- Shepherd, G. M. (2006) Behaviour: smells, brains and hormones. *Nature* **439** (7073), 149-151.
- Steru, L., Chermat, R., Thierry, B. und Simon, P. (1985) The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology (Berl)* **85** (3), 367-370.
- Stockmeier, C. A. (2003) Involvement of serotonin in depression: evidence from postmortem and imaging studies of serotonin receptors and the serotonin transporter. *J Psychiatr Res* **37** (5), 357-373.
- Strekalova, T., Spanagel, R., Bartsch, D., Henn, F. A. und Gass, P. (2004) Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration. *Neuropsychopharmacology* **29** (11), 2007-2017.
- Sullivan, P. F., Neale, M. C. und Kendler, K. S. (2000) Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *Am J Psychiatry* **157** (10), 1552-1562.
- Suzuki, M., Matsuda, T., Asano, S., Somboonthum, P., Takuma, K. und Baba, A. (1995) Increase of noradrenaline release in the hypothalamus of freely moving rat by postsynaptic 5-hydroxytryptamine_{1A} receptor activation. *Br J Pharmacol* **115** (4), 703-711.
- Thase, M. E. (2008) Management of patients with treatment-resistant depression. *J Clin Psychiatry* **69** (3), e8.
- Uphouse, L., Salamanca, S. und Caldarola-Pastuszka, M. (1991) Gender and estrous cycle differences in the response to the 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT. *Pharmacol Biochem Behav* **40** (4), 901-906.
- Uzbay, T. I. (2007) Tianeptine: Potential influences on neuroplasticity and novel pharmacological effects. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **32** (4), 915-924.
- Vermetten, E., Vythilingam, M., Southwick, S. M., Charney, D. S. und Bremner, J. D. (2003) Long-term treatment with paroxetine increases verbal declarative memory and hippocampal volume in posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* **54** (7), 693-702.

- Wahlsten, D., Metten, P., Phillips, T. J., Boehm, S. L., 2nd, Burkhart-Kasch, S., Dorow, J., Doerksen, S., Downing, C., Fogarty, J., Rodd-Henricks, K., Hen, R., McKinnon, C. S., Merrill, C. M., Nolte, C., Schalomon, M., Schlumbohm, J. P., Sibert, J. R., Wenger, C. D., Dudek, B. C. und Crabbe, J. C. (2003) Different data from different labs: lessons from studies of gene-environment interaction. *J Neurobiol* **54** (1), 283-311.
- Watanabe, Y., Gould, E., Daniels, D. C., Cameron, H. und McEwen, B. S. (1992) Tianeptine attenuates stress-induced morphological changes in the hippocampus. *Eur J Pharmacol* **222** (1), 157-162.
- Weiss, J. M., Cierpial, M. A. und West, C. H. (1998) Selective breeding of rats for high and low motor activity in a swim test: toward a new animal model of depression. *Pharmacol Biochem Behav* **61** (1), 49-66.
- Whitaker-Azmitia, P. M. (1999) The discovery of serotonin and its role in neuroscience. *Neuropsychopharmacology* **21** (2 Suppl), 2-8.
- Wieland, S. und Lucki, I. (1990) Antidepressant-like activity of 5-HT_{1A} agonists measured with the forced swim test. *Psychopharmacology (Berl)* **101** (4), 497-504.
- Willner, P. (1997) Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology (Berl)* **134** (4), 319-329.
- Wong, E. H., Sonders, M. S., Amara, S. G., Tinholt, P. M., Piercey, M. F., Hoffmann, W. P., Hyslop, D. K., Franklin, S., Porsolt, R. D., Bonsignori, A., Carfagna, N. und McArthur, R. A. (2000) Reboxetine: a pharmacologically potent, selective, and specific norepinephrine reuptake inhibitor. *Biol Psychiatry* **47** (9), 818-829.
- World Health Organization (2005) ICD-10 : international statistical classification of diseases and related health problems : tenth revision [electronic resource. Geneva, World Health Organization]
- World Health Organization. Regional Office for Europe (2005) Mental health : facing the challenges, building solutions : report from the WHO European Ministerial Conference. Copenhagen, WHO Regional Office for Europe, 181 p.

Yocca, F. D., Iben, L. und Meller, E. (1992) Lack of apparent receptor reserve at postsynaptic 5-hydroxytryptamine_{1A} receptors negatively coupled to adenylyl cyclase activity in rat hippocampal membranes. *Mol Pharmacol* **41** (6), 1066-1072.

Zhang, L., Ma, W., Barker, J. L. und Rubinow, D. R. (1999) Sex differences in expression of serotonin receptors (subtypes 1A and 2A) in rat brain: a possible role of testosterone. *Neuroscience* **94** (1), 251-259.

II. Danksagung

Mein aufrichtiger Dank gilt Frau Prof. Dr. Fink für die Überlassung des Themas, die wissenschaftliche Anleitung bei der Durchführung der Versuche und der Abfassung dieser Dissertation. Ihr großes Interesse an einem zügigen Voranschreiten der Dissertation, die stets gewährte freundliche Unterstützung und die gewährte freie Zeiteinteilung waren besonders hilfreich.

Weiterhin danke ich der Berliner-Graduiertenförderung nach dem Nachwuchsförderungsgesetz (NaFöG) und der Firma GlaxoSmithKline für die Gewährung von Promotionsstipendien, die mir die Erstellung der Arbeit in dieser Form erst möglich machten.

Ganz herzlich möchte ich mich bei Frau Dr. B. Bert für die wissenschaftliche und praktische Einweisung in die Verhaltenspharmakologie, die Versuchsdurchführung und die Computerprogramme, die Geduld und Bereitschaft jede Frage zu beantworten und jeden Text zu korrigieren bedanken.

Frau A. Wistel-Wozniak gilt für die Einarbeitung in die Verhaltensversuche und die Mäusezucht und für ihr stets offenes Ohr großer Dank.

Frau B. Dreves möchte ich für die Anleitung zur Herstellung der Gehirnschnitte und Frau Dr. L. Günther für die Durchführung der Rezeptorautoradiographie danken.

Frau Dr. B. Arndt gilt mein Dank für die Beratung zur statistischen Auswertung und Interpretation der Ergebnisse.

Den Tierpflegern, insbesondere Frau S. Wegener, danke ich für die sorgsame Betreuung der Mäuse.

Mein ganz besonderer Dank gilt Marco, der mir den Rücken freigehalten hat, Chauffeur, Hausmann und Hundesitter gespielt hat und dessen liebevoller, geduldiger Optimismus wesentlich zu der Arbeit beigetragen hat; Kiki, Alex, Alexandra und Tim für ihre Freundschaft und meiner Familie, die immer für mich da ist.

III. Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulängliche Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die Dissertation wurde am Institut für Pharmakologie und Toxikologie des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin unter der wissenschaftlichen Betreuung von Prof. Dr. H. Fink angefertigt.

Berlin,

Julia Rothe

