

Aus der Klinik und Poliklinik für  
Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie  
der Universität Würzburg  
Direktor: Professor Dr. med. Jürgen Deckert

**Untersuchung des Einflusses verschiedener Lebenserfahrungen und  
unterschiedlicher Serotoninhomöostase auf die Neuromorphologie von  
Pyramidenzellen der CA3-Region des Hippocampus in Mäusen**

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Tanja Weber

aus Bamberg

Würzburg, Januar 2022



Referentin: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Angelika Schmitt-Böhrer

Koreferent: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Erhard Wischmeyer

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 19. August 2022

Die Promovendin ist Ärztin

Für meinen Bruder, meine Eltern und Großeltern.

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1	Serotonerges System .....	1
1.1.1	Die Entdeckung von Serotonin .....	1
1.1.2	Der Serotonin-Stoffwechsel und seine Regulation.....	2
1.1.3	Lokalisation der Enzyme im Serotonin-Stoffwechsel .....	5
1.1.4	Der Serotoningehalt im Körper .....	6
1.1.5	Serotonin-Rezeptoren .....	9
1.1.6	Der Serotonin-Transporter und das Serotonintransporter-Knockout-Mausmodell.....	9
1.2	Modell der verschiedenen Lebensgeschichten.....	12
1.2.1	Stress.....	12
1.2.2	Verschiedene Hypothesen über die Vulnerabilität eines Individuums für Stress und seine Folgen.....	17
1.3	Hippocampus.....	18
1.4	Neuronale Plastizität .....	22
1.5	Fragestellung .....	25
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>26</b>
2.1	Versuchstiere.....	26
2.2	Golgi-Imprägnation .....	31
2.3	Mikroskopie und Rekonstruktion der Neurone.....	34
2.4	Vorstudie zur Zellauswahl .....	37
2.5	Durchführung der Rekonstruktion von Neuronen .....	41
2.6	Qualitätsbewertung und Zuordnung der Neurone zu Subpopulationen .....	43
2.7	Datenanalyse, Statistik und Grafiken .....	46
<b>3</b>	<b>Ergebnisse quantitativer morphologischer Untersuchungen der Apikaldendriten von CA3-Pyramidenzellen des Hippocampus</b> .....	<b>51</b>
3.1	Apikaldendritenlänge .....	51

3.2	Verzweigungspunkte.....	55
3.3	Dichte der Verzweigungspunkte.....	60
3.4	Schnittpunkte mit der Grenze zur nächsthöheren Radienzzone in der Sholl-Analyse.....	63
3.5	Endpunkte .....	65
3.6	Anzahl der Dornenfortsätze .....	70
3.7	Dichte der Dornenfortsätze .....	75
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>79</b>
4.1	Diskussion der Ergebnisse.....	81
4.2	Diskussion der Methodik.....	92
4.3	Kernaussagen und Ausblick.....	94
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>97</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>98</b>
<b>I</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	
<b>II</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	
<b>III</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b>	
<b>IV</b>	<b>Danksagung</b>	

# 1 Einleitung

## 1.1 Serotonerges System

### 1.1.1 Die Entdeckung von Serotonin

Bereits im Jahr 1912 bewies O'Connor den vormaligen Verdacht auf Substanzen im Blutserum, die dem Adrenalin, abhängig vom getesteten Organ, zwar einerseits ähnlich zu sein schienen, andererseits aber auch gegensätzliche Wirkungen zeigten. Die Substanz wirkte unter anderem in der Peripherie des Körpers an glatten Muskelzellen von beispielsweise Gefäßen und *Uterus* tonussteigernd wie Adrenalin, am Darm und an der Harnblase hingegen in Kontrast zu Adrenalin ebenfalls tonussteigernd und nicht -hemmend (O'Connor 1912). Bei dieser Substanz handelte es sich, wie sich später herausstellte, um Enteramin (Vialli and Erspamer 1937, Vialli and Erspamer 1937a) beziehungsweise Serotonin (Rappart, Green et al. 1948). Die Bezeichnung Enteramin wurde aufgrund der Herkunft aus den enterochromaffinen Zellen der gastrointestinalen *Mucosa* gewählt (Erspamer and Asero 1952). In darauf folgenden Experimenten wurde festgestellt, dass Enteramin 5-Hydroxytryptamin entspricht (Erspamer and Asero 1952). Zu ähnlicher Zeit konnte von der Forschungsgruppe um Rappart eine Substanz aus dem Serum von Rindern gewonnen werden, die sie Serotonin nannten. Diesen Namen erhielt es aufgrund seiner Herkunft und wegen seiner konstringierenden Eigenschaften an Darm und Gefäßen (Rappart, Green et al. 1948). Kurz darauf wurde es als 5-Hydroxytryptamin mit der chemischen Formel  $C_{10}H_{12}ON_2$  identifiziert (Rappart 1949). Damit existierten mit Enteramin, Serotonin und 5-Hydroxytryptamin drei synonyme Bezeichnungen für dieselbe Substanz. Heute sind, anhand der Titel vieler Forschungsarbeiten ersichtlich, vor allem Serotonin und 5-Hydroxytryptamin gebräuchlich (Zetler and Schlosser 1954, Berkovits, Mucsi et al. 1967, Willemen, Che et al. 2012, Li, Fan et al. 2015, Andolina, Di Segni et al. 2019, Abdulla, Pennington et al. 2020, Bostanciklioglu 2020, Reinebrant, Wixey et al. 2020). Zusätzlich zu den bereits genannten Funktionen ist Serotonin außerdem an der Regulation von Stimmung, Gedächtnis, Aggression, Angst, Appetit, Stressreaktionen, Sexualität, Schlaf, zirkadianen Rhythmen, Gefäßtonus, *Emesis*, Körpertemperatur, Atemantrieb, Pulsrate, Hämostase, Schmerzwahrnehmung, Leberregeneration und Weiterem beteiligt (Berger, Gray et al. 2009).

### 1.1.2 Der Serotonin-Stoffwechsel und seine Regulation

Serotonin wird in zwei Schritten aus L-Tryptophan synthetisiert (Udenfriend, Titus et al. 1956). Bei der ersten Reaktion handelt es sich um die Oxidation von L-Tryptophan zu 5-Hydroxytryptophan durch das Enzym Tryptophan-Hydroxylase (= TPH). Dies ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt (Peters, McGeer et al. 1968). Zwei Isoformen der Tryptophan-Hydroxylase sind mittlerweile nachgewiesen, von denen eine vor allem im Gastrointestinaltrakt (= TPH1) und eine hauptsächlich im Gehirn (= TPH2) zu finden ist (Walther, Peter et al. 2003). Danach findet die Decarboxylierung von 5-Hydroxytryptophan zu 5-Hydroxytryptamin (nachfolgend Serotonin genannt) mittels 5-Hydroxytryptophan-Decarboxylase statt (Clark, Weissbach et al. 1954). Das Enzym 5-Hydroxytryptophan-Decarboxylase ist ebenfalls unter dem Namen Aromatische-L-Aminosäure-Decarboxylase bekannt (Nikishin, Alyoshina et al. 2019). Schließlich ist einer der wichtigsten Abbauwege die oxidative Desaminierung von Serotonin durch die Monoamino-Oxidase (= MAO) zu letztlich 5-Hydroxyindol-Essigsäure (= 5-HIAA), die über den Urin ausgeschieden werden kann (Udenfriend, Titus et al. 1956). Es gibt zwei Subtypen der MAO, MAO-A und MAO-B (Johnston 1968). Der Abbau von Serotonin findet hauptsächlich über den MAO-A-Subtyp statt (Johnston 1968, Tipton, Davey et al. 2011). Wird MAO-A jedoch gehemmt, kann der Abbau von Serotonin vom Subtyp B übernommen werden (Green and Youdim 1975). Sollte MAO als Abbauweg nicht zur Verfügung stehen (Weissbach, Lovenberg et al. 1961) oder aus anderen Gründen extrazelluläres Serotonin außergewöhnlich hoch sein (Kohle, Badary et al. 2005), erhöht ein anderes Enzym mit Namen UDP-Glucuronosyltransferase (= UGT), hauptsächlich Subtyp UGT-1A6 scheint verantwortlich zu sein (Krishnaswamy, Duan et al. 2003, Bock and Kohle 2005, Kohle, Badary et al. 2005), seinen Anteil am Abbau von Serotonin, sodass die Abbauraten insgesamt konstant gehalten werden kann (Weissbach, Lovenberg et al. 1961). Einzig das Verhältnis der Serotonin-Abbauprodukte verändert sich von ursprünglich hauptsächlich 5-HIAA und 30 % Serotonin-O-Glucuronid im Urin zu ca. 70 % Serotonin-O-Glucuronid und nur noch ca. 6 % 5-HIAA (Weissbach, Lovenberg et al. 1961).

Regulation des Serotonin-Stoffwechsels. Die Serotonin-Synthese scheint hauptsächlich über zwei Mechanismen reguliert zu sein, die von Hamon und Glowinski zusammenfassend und übersichtlich kategorisiert werden (Hamon and Glowinski 1974). Entscheidend sind die verfügbare Menge der essentiellen Aminosäure Tryptophan (Le Floc'h, Otten et al. 2011), die als Grundbaustein der Serotonin-Synthese dient (siehe oben), sowie die über das Enzym TPH geregelte Rate der

Hydroxylierung von Tryptophan. Die zur Synthese von Serotonin verfügbare Menge an Tryptophan erhöht sich, sobald mehr freies (Knott and Curzon 1972, Tagliamonte, Biggio et al. 1973), nicht an Albumin gebundenes Tryptophan (McMenamy and Oncley 1958) im Blut vorliegt oder wenn der Transport in die Zellen über Transportproteine (auch *Carrier* genannt) sich erhöht oder auch, wenn der bereits innerhalb einer Zelle befindliche Vorrat an Tryptophan vermehrt in die Serotonin-Synthese statt in andere Stoffwechselprozesse eingespeist wird (Hery, Rouer et al. 1972, Hamon and Glowinski 1974, Morot-Gaudry, Hamon et al. 1974). Erhöhte Mengen freien Tryptophans finden sich beispielsweise nach Injektion von Tryptophan (Fernstrom and Wurtman 1971, Tagliamonte, Biggio et al. 1973, Bourgoïn, Faivre-Bauman et al. 1974), unter dem Einfluss von Salicylaten (Tagliamonte, Biggio et al. 1973a, Bourgoïn, Faivre-Bauman et al. 1974), bei erhöhten Fettsäurewerten im Blut nach zum Beispiel Stress durch Immobilisation oder Nahrungskarenz (Curzon, Joseph et al. 1972, Curzon, Friedel et al. 1973) und generell bei Neugeborenen (Bourgoïn, Faivre-Bauman et al. 1974). Licht (Hery, Rouer et al. 1972), REM-Schlaf-Entzug (Hery, Pujol et al. 1970) und beispielsweise Lithium (Knapp and Mandell 1973, Belin, Chouvet et al. 1974) sind in der Lage, die Transportrate von Tryptophan zu erhöhen. Auch wird erwähnt, dass Veränderungen des Verhältnisses von Tryptophan zu anderen neutralen Aminosäuren wie Tyrosin, Phenylalanin, Leucin, Isoleucin oder Valin, zum Beispiel unter der Einwirkung von Insulin, zu gesteigerter Serotonin-Synthese im Gehirn führen (Fernstrom and Wurtman 1972, Madras, Cohen et al. 1973). Hydrokortison wiederum verringert über den Abbau von Tryptophan durch die Tryptophan-Pyrrolase (auch Tryptophan-2,3-Dioxygenase genannt) die Serotonin-Synthese im Gehirn (Curzon and Green 1971, Birdsall 1998). Die Rate der Hydroxylierung von Tryptophan durch die TPH wird unter anderem beeinflusst durch elektrische Reize (Anden, Carlsson et al. 1964, Eccleston, Ritchie et al. 1970, Shields and Eccleston 1972, Carlsson, Lindqvist et al. 1973), die Konzentration der benötigten Kofaktoren Sauerstoff (Diaz, Ngai et al. 1968, Davis and Carlsson 1973) und Tetrahydrobiopterin (Friedman, Kappelman et al. 1972) sowie die Enzymkonzentration an TPH selbst (Azmitia and McEwen 1969, Zivkovic, Guidotti et al. 1973). Die Rate der Hydroxylierung von Tryptophan durch die TPH hängt außerdem davon ab, ob TPH gelöst oder membrangebunden vorliegt (Ichiyama, Nakamura et al. 1970, Knapp and Mandell 1972) sowie von der intrazellulären Konzentration des Endproduktes Serotonin (negative Rückkopplung) (Jequier, Robinson et al. 1969, Macon, Sokoloff et al. 1971, Carlsson and Lindqvist 1972, Hamon, Bourgoïn et al. 1973). Kortikosteron vermag die TPH-Konzentration zu



erhöhen (Azmitia and McEwen 1969), ebenso 1,25-Dihydroxy-Vitamin-D<sub>3</sub> (Sabir, Haussler et al. 2018). Bei Einschätzungen über die mögliche Ausbeute an Serotonin unter Beachtung der oben genannten regulierenden Faktoren ist dennoch Vorsicht geboten, denn nicht jede Erhöhung des zur Synthese theoretisch verfügbaren Tryptophans oder jegliche Erhöhung der Transportrate führen unweigerlich auch zu einer Steigerung der Serotonin-Synthese und umgekehrt (Hamon and Glowinski 1974). Bei derart vielen möglichen Angriffspunkten für Regulationsmechanismen, dürfen für konkrete Fragestellungen keine vereinfachten Schemata, die nur der Übersicht dienen sollen, genutzt werden, sondern muss, je nach betrachtetem Medikament oder Umweltfaktor *et cetera*, das Ergebnis individuell beobachtet werden. Das Enzym Aromatische L-Aminosäure-Decarboxylase spielt durch seine hohe Grundaktivität keine begrenzende Rolle bei der Synthese von Serotonin (Clark, Weissbach et al. 1954, Peters, McGeer et al. 1968). Seine Funktion ist jedoch abhängig vom Vorhandensein seines Koenzyms Pyridoxalphosphat (aus Vitamin B6) (Dakshinamurti, Paulose et al. 1990, Dakshinamurti, Sharma et al. 1990). Die Aktivität der MAO-A wird durch Glukokortikoide sowie Androgene gesteigert (Ou, Chen et al. 2006) und durch 1,25-Dihydroxy-Vitamin-D<sub>3</sub> gehemmt (Sabir, Haussler et al. 2018). Dass in der Gegenwart von Glukokortikoiden Tryptophan vermehrt abgebaut wird und weiterhin sowohl die Aktivität der TPH als auch der MAO-A gesteigert wird, scheint widersprüchlich. Dieser vermeintliche Widerspruch lässt sich jedoch erklären, wenn man von einem über Synthese und Abbau im Gleichgewicht stehenden Umsatz von Serotonin ausgeht, sodass die Serotoninkonzentration unabhängig vom Glukokortikoid-Level insgesamt relativ konstant gehalten wird (Way, Loh et al. 1968, Azmitia and McEwen 1969, Fuxe, Corrodi et al. 1970). Menge und Aktivität von UGT-1A6 sind laut einer Zusammenfassung von Bock und Kohle je nach Gewebe, aber auch interindividuell, sehr verschieden; das Geschlecht, Allel-Varianten, *Polymorphismen* und der Einfluss von Hormonen sind für diese Unterschiede mitverantwortlich (Bock and Kohle 2005). Eine Regulationsachse mit Einfluss auf das serotonerge System, der in den letzten Jahren steigende Bedeutung zugeordnet wird, ist die zwischen Gehirn, Gastrointestinaltrakt und gastrointestinalem Mikrobiom. Ihre weitreichenden Einflüsse werden von O'Mahony *et al.* sehr differenziert geschildert (O'Mahony, Clarke et al. 2015).

### 1.1.3 Lokalisation der Enzyme im Serotonin-Stoffwechsel

Die am Serotonin-Metabolismus teilnehmenden Enzyme sind innerhalb des Körpers unterschiedlich verteilt. TPH1 findet sich vorrangig im Gastrointestinaltrakt sowie in der *Glandula pinealis* und TPH2 im restlichen Gehirn (Peters, McGeer et al. 1968, Sugden 2003, Walther, Peter et al. 2003, Szeitz and Bandiera 2018). Aromatische-L-Aminosäure-Decarboxylase wurde sowohl peripher unter anderem in Niere, Nebenniere, Leber, Lunge, Herz, Milz, Blutserum sowie Magen und *Intestinum* als auch zentral im Gehirn in verschiedenster Verteilung nachgewiesen (Clark, Weissbach et al. 1954, Bogdanski, Weissbach et al. 1957, Lovenberg, Weissbach et al. 1962, Rahman, Nagatsu et al. 1981). MAO ist ein sehr weit verbreitetes Enzym, das in einer Vielzahl von Geweben (Leber, Nieren, Nebennieren, Muskeln, Milz, Gehirn, Lunge, *Pankreas*, Darm, Rückenmark, *Ösophagus*, Magen, Nase *et cetera*), besonders gehäuft in Epithelzellen, vorkommt (Egashira and Waddell 1984). Hierbei dominiert in den meisten Geweben, außer in der Leber, der Subtyp MAO-A (Egashira and Waddell 1984). Folgend werden noch einige genauere Beispiele zur Lokalisation unter Beachtung der MAO-Subtypen genannt. MAO-A befindet sich im Gehirn vor allem im *Locus coeruleus* und *subcoeruleus* sowie im *Nucleus interpeduncularis*, wohingegen in den *Nuclei raphes*, besonders im *Nucleus raphe dorsalis*, entgegen der eigentlichen Erwartung, MAO-B vorherrscht (Konradi, Svoma et al. 1988, Westlund, Denney et al. 1988, Willoughby, Glover et al. 1988, Konradi, Kornhuber et al. 1989, Saura, Kettler et al. 1992). MAO-A, die wie oben beschrieben hauptsächlich für den Serotonin-Abbau verantwortlich ist (Johnston 1968), findet sich also in katecholaminergen Neuronen, wohingegen sich MAO-B in serotonergen Neuronen finden lässt (Thorpe, Westlund et al. 1987). Auch peripher lässt sich MAO-A unter anderem in der *Plazenta*, der Leber und der Schilddrüse nachweisen (Weyler and Salach 1985, Masini-Repiso, Cabanillas et al. 1986, Thorpe, Westlund et al. 1987). Es handelt sich bei MAO um ein intrazelluläres Enzym, das in der Membran von Mitochondrien vorkommt (Cotzias and Dole 1951, Ganrot and Rosengren 1962, Rodriguez De Lores Arnaiz and De Robertis 1962, Schnaitman, Erwin et al. 1967, Egashira and Waddell 1984). UGT-1A6 ist ebenso wie MAO ein verbreitetes Enzym, unter anderem zu finden in Magen, Darm, Gehirn (besonders in *Hippocampus* und *Cerebellum*), Leber, Niere und Lunge als Transmembran-Protein des Endoplasmatischen *Reticulum*, wie Bock et. al zusammenfassen (Bock and Kohle 2005).

#### 1.1.4 Der Serotoningehalt im Körper

Mehrere Gewebe und Zellen im Körper enthalten nachweislich Serotoninmengen verschiedener Größenordnung. Dazu zählen unter anderem die enterochromaffinen Zellen des Gastrointestinaltraktes sowie das zentrale und periphere Nervensystem (Twarog and Page 1953, Erspamer 1954). Enterochromaffine Zellen stellen die größte Untergruppe endokriner Zellen im Darm dar (Sjolund, Sanden et al. 1983). Endokrine Zellen setzen Hormone in den Blutkreislauf frei, über den sie zu ihren weiter entfernten Zielorganen gelangen können (McKercher 1942). Den mit Abstand höchsten Serotoningehalt weist der Darm auf (> 90 %), wohingegen das zentrale Nervensystem einen weitaus kleineren Anteil (< 1 %) beansprucht (Toh 1960, Hornung 2003, Szeitz and Bandiera 2018). Die *Nuclei raphe* im Hirnstamm enthalten ein bedeutendes zentrales, serotonerges Netzwerk mit weitläufigen Projektionen unter anderem zum *Hippocampus* (Hornung 2003, Szeitz and Bandiera 2018). Bei allen Lebewesen, die enterochromaffine Zellen besitzen, ist Serotonin auch im Blutserum zu finden (Erspamer 1954). Genauer gesagt, befindet es sich in den Thrombozyten, die das aus den enterochromaffinen Zellen ins Plasma freigesetzte Serotonin aufnehmen, es in elektronendichter *Granula* (= *Delta-Granula*) (Niessen, Jedlitschky et al. 2010) speichern und im Rahmen der Koagulation ins Serum bzw. bei Schädigung ins Plasma freisetzen (Erspamer 1954, Humphrey and Toh 1954, Maurer-Spurej, Pittendreigh et al. 2004). Die Thrombozyten enthalten *circa* 5 – 8 % des im Körper vorhandenen Serotonins (Maurer-Spurej, Pittendreigh et al. 2004, Szeitz and Bandiera 2018). In der Milz kann Serotonin aufgrund des dort stattfindenden Abbaus der serotoninhaltigen Thrombozyten ebenso festgestellt werden (Erspamer 1954).

Serotonin und die Blut-Hirn-Schranke. Bis heute ist die Ansicht weit verbreitet, dass Serotonin die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren kann und so der Serotonin-Bedarf des Gehirns vor Ort aus Tryptophan hergestellt werden muss (siehe Kapitel 1.1.2) (Birdsall 1998, Szeitz and Bandiera 2018). Die Blut-Hirn-Schranke wird von den Endothelien der Hirnkapillaren gebildet, die zur wirkungsvollen Abschirmung der durch sie voneinander getrennten Kompartimente besonders undurchlässig sind und *Tight Junctions* (enge Verbindungen der Zellen untereinander zur Überbrückung der Zellzwischenräume) aufweisen (Lund-Andersen 1979). Es gibt jedoch vermehrt auch Hinweise darauf, dass Serotonin durchaus die Möglichkeit haben könnte, die Blut-Hirn-Schranke unter anderem über einen Serotonin-Transporter (= SERT) zu passieren und darüber hinaus Einfluss auf ihre Permeabilität ausüben könnte (Brust, Friedrich et al. 2000, Nakatani, Sato-Suzuki et al. 2008, Young, Darios et al. 2015). Tryptophan wird

vom Große-Neutrale-Aminosäure-Transporter 1 (= LAT1, SLC7A5), in Konkurrenz mit anderen großen, neutralen Aminosäuren (unter anderem Phenylalanin, Tyrosin, Leucin, Isoleucin, Methionin, Histidin, Valin, Threonin, Cystein, Glutamin, Asparagin und Serin) durch die Blut-Hirn-Schranke ins Gehirn befördert (Oldendorf and Szabo 1976, Killian and Chikhale 2001, O'Kane and Hawkins 2003, Verrey, Closs et al. 2004, Singh and Ecker 2018). Das L-Enantiomer der Aminosäuren (Oldendorf 1973, Kanai, Segawa et al. 1998) sowie Aminosäuren mit verzweigten oder aromatischen Seitenketten (Kanai, Segawa et al. 1998) werden bevorzugt transportiert. Der Transport über LAT1 erfolgt Natrium-unabhängig (Kanai, Segawa et al. 1998, Singh and Ecker 2018) und wird durch den Austausch mit anderen Aminosäuren angetrieben (Kanai, Segawa et al. 1998, Verrey, Closs et al. 2004). Limitierend für den Transport ist vor allem der Durchtritt durch die Blut-Hirn-Schranke, da sie eine viel kleinere Oberfläche aufweist als die Membranen der Gehirnzellen, die Tryptophan ebenfalls noch überwinden muss, um in die Nervenzellen zu gelangen (Lund-Andersen 1979, Boado, Li et al. 1999).

*Der Weg des Serotonins in Nervenzellen.* Sobald die hirneigene Serotonin-Synthese aus Tryptophan abgeschlossen ist, wird Serotonin vom Vesikulären-Monoamin-Transporter-2 (= VMAT-2, SLC18A2) im *Antiport* mit Protonen in Vesikel überführt (Eiden, Schafer et al. 2004) und, reversibel gebunden an ein lösliches Serotonin-bindendes-Protein (= SBP), gespeichert (Tamir and Huang 1974, Tamir, Klein et al. 1976), bei dem es sich um Aktin zu handeln scheint (Small and Wurtman 1984). Die 45-kDa-SBP-Isoform von insgesamt dreien scheint in diesem Zusammenhang am bedeutendsten zu sein (Tamir, Liu et al. 1994). Axonaler Transport bringt die Vesikel an ihren Bestimmungsort (Halaris, Jones et al. 1976). Auf Reize hin wird ihr Inhalt dann per Kalzium-abhängiger *Exocytose* an der Axonterminale oder an -varikositäten in den synaptischen Spalt freigesetzt (Jonakait, Tamir et al. 1979). Dort trifft Serotonin auf seine Rezeptoren und entfaltet viele verschiedene Wirkungen (siehe Kapitel 1.1.5). Danach wird Serotonin wieder über SERT (siehe Kapitel 1.1.6) in die Zellen aufgenommen, um die Wirkung des Neurotransmitters zu beenden (Gershon and Altman 1971, Kuhar, Aghajanian et al. 1972). Schließlich wird Serotonin über MAO abgebaut und mit dem Urin ausgeschieden (siehe Kapitel 1.1.2). Die Vesikel-Membranen samt eines Anteils an 45-kDa-SBP, der durch Bindung an die Membran zurückgehalten wird, können *recycelt* werden; so werden sie weiter verwendet und müssen nicht ersetzt werden. Durch *Endocytose* wird wieder Membran aufgenommen, die vorher während der *Exocytose* in die Zellmembran eingefügt wurde (Tamir, Liu et

al. 1994). Die Vorgänge in den Neuronen des Enterischen Nervensystems entsprechen den oben genannten für zentrale Neurone (Gershon and Altman 1971, Tamir and Huang 1974, Halaris, Jones et al. 1976, Tamir, Klein et al. 1976, Jonakait, Tamir et al. 1977, Jonakait, Tamir et al. 1979, Small and Wurtman 1984, Tamir, Liu et al. 1994, Eiden, Schafer et al. 2004).

Der Weg des Serotonins im Gastrointestinaltrakt. In den enterochromaffinen Zellen des Gastrointestinaltraktes wird Serotonin, nach abgeschlossener Synthese, über den Vesikulären-Monoamin-Transporter-1 (= VMAT1, SLC18A1) (Jakobsen, Andersson et al. 2001, Eiden, Schafer et al. 2004, Bertrand and Bertrand 2010) in große Vesikel mit dichtem Kernbereich überführt und, an Proteine wie Chromogranin A gebunden, dort gespeichert (Bargsten and Grube 1992, Engelstoft, Lund et al. 2015). Aus diesen Speichern wird es unter anderem als Reaktion auf mechanische oder chemische Reize der *Mucosa* wie Druck, Dehnung, pH, Osmolarität oder gewisse Nahrungsbestandteile, z.B. Fettsäuren, lokal freigesetzt und fungiert als parakrines Signalmolekül an den Serotonin-Rezeptoren (bspw. 5-HTR<sub>1P</sub>) enterischer Neurone, die sich in Reichweite befinden (Bulbring and Crema 1958, Bulbring and Crema 1959, Pan and Gershon 2000, Fukumoto, Tatewaki et al. 2003, Bertrand 2004, Gershon and Tack 2007, Yoo and Mazmanian 2017). Diese wiederum interagieren mit weiteren Neuronen, sodass sich das Signal ausbreiten und seine Wirkungen entfalten kann (Motilitäts- und weitere Reflexe) (Bulbring and Crema 1958, Pan and Gershon 2000, Fukumoto, Tatewaki et al. 2003, Gershon and Tack 2007, Yoo and Mazmanian 2017). In den verschiedenen Abschnitten des Gastrointestinaltraktes scheint die Wahrnehmung der Reize für die Serotoninfreisetzung aus den enteroendokrinen Zellen unterschiedlich abzulaufen. Im Dünndarm werden entsprechende Reize indirekt mittels Glukagon-ähnlichem Peptid 1 (= GLP-1) aus benachbarten enteroendokrinen Zellen an die enterochromaffinen-Zellen gemeldet, wohingegen im Dickdarm die enterochromaffinen Zellen selbst mit einer größeren Vielfalt an Rezeptoren ausgestattet sind, sodass sie viele der auftretenden Reize direkt und selbstständig wahrnehmen können (Lund, Egerod et al. 2018). Schließlich wird die Serotonin-Wirkung durch zelluläre Aufnahme über SERT in beispielsweise *Enterocyten* (Wade, Chen et al. 1996) und Neurone des *Plexus myentericus* (Gershon and Altman 1971) beendet. Dies ist nötig, da MAO ausschließlich intrazellulär zu finden ist (siehe Kapitel 1.1.3), extrazellulär also kein adäquater Abbaumechanismus existiert (Gershon 2004). Serotonin wird außerdem endokrin wirkend in die Darm-Kapillaren abgegeben (Lesurtel, Graf et al. 2006, Bertrand and Bertrand 2010, Engelstoft, Lund et al. 2015, Martin, Young et al. 2017,

Lund, Egerod et al. 2018), wo es von den Thrombozyten zum großen Teil über SERT oder Diffusion aufgenommen (Stahl and Meltzer 1978, Roweth, Yan et al. 2018) und gespeichert wird (siehe oben); neben der Deckung ihres „Eigenbedarfs“ (siehe oben) auch, um ungezielte systemische Auswirkungen sowie vorzeitigen Abbau zu verhindern (Maurer-Spurej, Pittendreigh et al. 2004, Brenner, Harney et al. 2007, Bertrand and Bertrand 2010). Weiterhin im Portalvenenplasma verbleibendes Serotonin wird durch die Leber, unter anderem über MAO-A (siehe Kapitel 1.1.3), größtenteils abgebaut (Bertrand and Bertrand 2010, Roweth, Yan et al. 2018).

### **1.1.5 Serotonin-Rezeptoren**

Serotonin spielt im zentralen Nervensystem und Gastrointestinal-Trakt klar ersichtlich eine unentbehrliche Rolle als Neurotransmitter sowie als parakrines und endokrines Hormon (siehe Kapitel 1.1.4). Seine vielseitigen Wirkungen entfaltet Serotonin über unterschiedliche Rezeptoren. Zu Beginn differenzierte (Gaddum and Hameed 1954) und benannte man (Gaddum and Picarelli 1957) zwei verschiedene Serotonin-Rezeptoren (= 5-HTR). Mittlerweile werden 14 bekannte Serotonin-Rezeptoren unterschieden, die sich in 7 Familien (5-HTR<sub>1-7</sub>) gruppieren (Hoyer, Clarke et al. 1994, Kumar and Mann 2014). Alle diese Rezeptoren sind G-Protein-gekoppelt, außer 5-HTR<sub>3</sub>, der Ionenkanäle bildet (Hoyer, Clarke et al. 1994, Kumar and Mann 2014).

### **1.1.6 Der Serotonin-Transporter und das Serotonintransporter-Knockout-Mausmodell**

Der Serotonin-Transporter (= SERT) gehört zur SLC6-Familie der Transporter, die für natrium- und chloridabhängigen Neurotransmitter-Transport verantwortlich ist (Hediger, Clemençon et al. 2013). Die genaue Bezeichnung für das *SERT*-Gen ist *SLC6A4* (Chen, Reith et al. 2004, Murphy, Fox et al. 2008). Er sitzt in der Zellmembran (Wade, Chen et al. 1996) von Epithelzellen, Zellen des zentralen und peripheren Nervensystems sowie Thrombozyten (Chen, Reith et al. 2004) und übernimmt den Transport von Serotonin nach intrazellulär im *Symport* mit Na<sup>+</sup> und Cl<sup>-</sup> und im Austausch gegen K<sup>+</sup> (Rudnick and Clark 1993). Das Vorhandensein weiterer Substrate von SERT wie Histamin, Dopamin und Noradrenalin schwächt die Aufnahme von Serotonin nur gering (Ramamoorthy, Bauman et al. 1993). Unter der Einwirkung gewisser Stoffe wie *para*-Chloramphetamin, Methylenedioxyamphetamin (auch genannt MDMA, „Ecstasy“) und Methylphenylpyridinium (auch genannt MPP<sup>+</sup>) kann Serotonin-*Efflux* nach extrazellulär angestoßen werden (Hilber, Scholze et al. 2005).

Humanes *SLC6A4* weist Gen-Varianten auf, zurückzuführen auf *Polymorphismen*: Diese finden sich zum Ersten in einer Transkriptionskontrollregion (*Promotor*) des *SERT*-Gens, bezeichnet als *5-HTTLPR* (insgesamt 16 repetitive Desoxy-Ribonukleinsäure (= DNA)-Elemente), die in einer kurzen (*Deletion* von 44 Basenpaaren innerhalb repetitiver DNA-Elemente 6-8) und in einer langen Variante (*Insertion* von zusätzlichen 44 Basenpaaren innerhalb der repetitiven DNA-Elemente 6-8) existiert (Heils, Teufel et al. 1995, Heils, Teufel et al. 1996, Lesch, Bengel et al. 1996, Murphy, Fox et al. 2008). Zum Zweiten existieren *Polymorphismen* einzelner Nukleotide (= Einzelnukleotid-*Polymorphismen*, SNPs), bezeichnet als [*rs25531*] und [*rs25532*] (Murphy, Fox et al. 2008, Wendland, Moya et al. 2008). Aus den Kombinationen der wichtigsten *SLC6A4*-Gen-Varianten (auch genannt Allele) „kurz“ (= S) und „lang“ (= L) von *5-HTTLPR* ergeben sich die möglichen Genotypen S/S (*circa* 19 %), S/L (*circa* 49 %) und L/L (*circa* 32 %) mit jeweils unterschiedlich hohen Transkriptions-Aktivitäten für *SERT* (Lesch, Bengel et al. 1996). Genotyp L/L besitzt die 1,4-fache Transkriptionsaktivität von Genotyp S/L und die 1,7-fache Transkriptions-Aktivität von Genotyp S/S (Lesch, Bengel et al. 1996). In der Folge entstehen abhängig vom Genotyp unterschiedlich zahlreiche beziehungsweise aktive SERT-Proteine. Genotyp L/L produziert SERT 1,3-fach so zahlreich wie und mit 1,9-facher Aktivität verglichen mit SERT von Genotyp S/L sowie 1,4-fach so zahlreich wie und mit 2,2-facher Aktivität verglichen mit SERT von Genotyp S/S (Lesch, Bengel et al. 1996). In Maus-Modellen konnte gezeigt werden, dass somit einige Individuen im Vergleich verminderte Kapazität aufweisen, Serotonin nach Ausschüttung durch Wiederaufnahme in die Zellen zu inaktivieren (Montanez, Owens et al. 2003) und sich die Wirkzeit und die extrazelluläre Konzentration dadurch erhöhen (Fabre, Beaufour et al. 2000, Mathews, Fedele et al. 2004). Einen guten Überblick darüber und über die daraus resultierenden Folgen bieten Murphy *et al.* (Murphy, Fox et al. 2008). Diese Veränderungen können dazu führen, dass manche Serotonin-Rezeptoren für Serotonin desensibilisiert und herunterreguliert werden (Li, Wichems et al. 2000, Gobbi, Murphy et al. 2001) und, dass die Synthese und der Umsatz von Serotonin gesteigert werden (Kim, Tolliver et al. 2005). Die Serotonin-Konzentration der Gewebe ist bei Gen-*Knockout* (siehe unten) stark vermindert, peripher noch deutlicher als zentral; bei Heterozygotie bleibt sie hingegen weitgehend unverändert (Kim, Tolliver et al. 2005). Eine Gen-Kopie von *Sert* scheint für die intrazelluläre Homöostase also auszureichen (Kim, Tolliver et al. 2005). Wie mit dem Stichwort „Gen-*Knockout*“ erneut bezugnehmend, stammt ein Großteil der Forschungsergebnisse aus Tiermodellen, in denen der humane

Längenpolymorphismus von *SLC6A4* nachgeahmt wird. Ein solches Mäusemodell wird auch in dieser Arbeit verwendet. Eine Maus-Züchtung ohne das *Slc6a4*-Gen, mithilfe dessen der Körper SERT normalerweise herstellen kann, wurde etabliert (siehe Material und Methoden). Dieser *Knockout* von *Sert* führt also dazu, dass kein SERT im Körper vorhanden ist (Kim, Tolliver et al. 2005). Außerdem wurden heterozygote Tiere, also mit zumindest einer von zwei maximal vorhandenen Gen-Ausprägungen für *Sert* und damit wenigstens einer Quelle für die nötigen Informationen zur Herstellung von SERT, sowie Tiere des Wildtyps, mit zwei funktionierenden Kopien für SERT, gezüchtet (siehe Material und Methoden). Heterozygote Mäuse repräsentieren am ehesten den humanen Genotyp *S/S* (Murphy, Fox et al. 2008). Um nun auf den Serotoninstoffwechsel am Beispiel des Menschen zurückzukommen: SERT scheint viele Vorgänge im Körper zu beeinflussen, wird aber seinerseits auch durch vieles beeinflusst, was die Wichtigkeit seiner Erforschung verdeutlicht. Um weitere Beispiele zu nennen: Die verfügbare Menge an SERT scheint interessanterweise positiv mit dem IQ korreliert zu sein (Tseng, Lee et al. 2015). In Untersuchungen verschiedener Hirnregionen stellte man einerseits eine im Winter verminderte Menge an SERT fest (Neumeister, Pirker et al. 2000), auf der anderen Seite eine erhöhte Dichte an SERT im Herbst und Winter (Praschak-Rieder, Willeit et al. 2008). Schließlich können aus dem bisherigen Wissensstand bezüglich Serotonin-Homöostase bei *SERT/Sert*-defizientem Genotyp und dessen möglicher Auswirkungen folgende Tendenzen abgeleitet werden: Je weniger SERT vorhanden ist, desto höher ist das extrazelluläre Serotoninlevel und desto wahrscheinlicher können Symptome bzw. Zustände von Angst, Depression, Posttraumatischer Belastungsstörung und weitere auftreten (Willeit, Praschak-Rieder et al. 2000, Murrough, Huang et al. 2011, Ahs, Frick et al. 2015). Man muss sich also die Frage stellen, ob Individuen mit geringerer Verfügbarkeit von SERT unter dem Einfluss negativer bzw. stressiger Lebenslagen anfälliger für unter anderem psychische Erkrankungen sein könnten, die mit einem Ungleichgewicht des Serotoninhaushaltes in Zusammenhang stehen, also beispielsweise Depressionen, Posttraumatische Belastungsstörung und Angsterkrankungen (Willeit, Praschak-Rieder et al. 2000, Murrough, Huang et al. 2011, Ahs, Frick et al. 2015, Lin, Lee et al. 2015). Die Datenlage ist allerdings nicht eindeutig (Miller, Everett et al. 2016). Ein Zusammenhang zwischen SERT-Verfügbarkeit und psychischen Erkrankungen wird nicht in allen Studien bestätigt (Kim, Son et al. 2015). Zu beachten ist, dass SERT nicht die einzige Möglichkeit für Serotonin ist, über eine Zellmembran hinweg zu gelangen, da zusätzlich noch der Weg über passive, nicht-sättigbare Diffusion offensteht (Arora



and Meltzer 1981) und andere Transporter „einspringen“ können, wie beispielsweise Organische-Kation-Transporter oder Dopamin-Transporter, dies aber mit niedrigerer Affinität (Zhou, Lesch et al. 2002, Schmitt, Mossner et al. 2003). Das bedeutet, dass auch bei den *Knockout*-Mäusen immer noch Serotonin in die Zellen gelangen kann. SERT ist weiterhin ein vielgenutzter Angriffspunkt für Medikamente wie Selektive Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (= SSRI), die bei Vorhandensein des *S*-Allels allerdings vergleichsweise schlechter ansprechen (Murphy, Fox et al. 2008) sowie Serotonin-Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer (= SNRI) (Shelton 2019) und Trizyklische Antidepressiva (Schneider, Patterson et al. 2019). Diese kommen als Therapie bei verschiedenen Erkrankungen wie Depressionen, Angsterkrankungen, Autismus und Zwangserkrankungen in Frage (Murphy, Fox et al. 2008). Dass die reduzierte Funktion von SERT eine hinsichtlich der Vulnerabilität für psychische Erkrankungen nachteilige Eigenschaft zu sein scheint, andererseits aber genau die dadurch entstehenden Erkrankungen mit Medikamenten wie SSRIs, die die Funktion von SERT ja ebenfalls reduzieren, erfolgreich behandelt werden können, erscheint erstaunlich. Man versucht dies dadurch zu erklären, dass der *SERT/Sert*-defiziente Genotyp ein Leben lang besteht und so alle Entwicklungsphasen beeinflusst sowie eventuell kompensatorische Umstrukturierungen verursacht, die Eigenschaften und Verhalten beeinflussen können. SSRIs hingegen werden meist erst später im Leben eingenommen und dies innerhalb begrenzter Zeiträume, in denen punktuell Symptome auftreten (Lesch, Bengel et al. 1996, Murphy, Fox et al. 2008).

## **1.2 Modell der verschiedenen Lebensgeschichten**

### **1.2.1 Stress**

Verschiedene Arten von Stress werden in wissenschaftlichen Versuchen eingesetzt, um beispielsweise Auswirkungen auf Verhalten (Bodden, Richter et al. 2015) oder neuromorphologische Aspekte (wie in dieser Arbeit) zu untersuchen. Stress ist nach Selye definiert als die unspezifische, körperliche Reaktion auf Anforderungen und ein „*Stressor*“ ist der jeweils den Stress auslösende Faktor (Selye 1976). Stress geht also mit einer gewissen Anpassungsreaktion einher. Diese kann lokal (Lokales Anpassungssyndrom) oder systemisch stattfinden (Generelles Anpassungssyndrom). Das Generelle Anpassungssyndrom ist ein Modell, das die Auswirkungen auf die systemische Stress-Antwort, bei über längeren Zeitraum direkt oder indirekt auf die

ganze Person einwirkenden Stressoren, zeigt. Es wird in die drei Stadien Alarmreaktion, Widerstandsstadium und Erschöpfungsstadium eingeteilt. Das Lokale Anpassungssyndrom hingegen wird durch punktuell wirkende Reize ausgelöst und findet nur in einem Teil des Körpers statt. Auch Stress selbst kann noch weiter unterteilt werden in spezifischen beziehungsweise unspezifischen Stress sowie in *Eustress* beziehungsweise *Distress*. Bei einer spezifischen Stressantwort (spezifischer Stress), kann man genau sagen, was der *Stressor* gewesen sein muss, da eben nur er spezifisch diese Reaktion auslösen kann. Auch ein ganz spezifischer, lokaler *Stimulus*, kann, wenn er intensiv genug ist, statt nur des Lokalen Anpassungssyndroms, über sekundäre Effekte das Generelle Anpassungssyndrom, also eine systemische, unspezifische Reaktion, herbeiführen. Eine unspezifische Stressreaktion ist in ihrer Physiologie ebenso eindeutig wie die Spezifische, nur kann man eben retrospektiv nicht unweigerlich auf genau einen speziellen Stressor schlussfolgern. Viele Stressoren führen zu dieser Reaktion, was die Ursache, die das namensgebende Element ist, unspezifisch macht. *Eustress* wird von der betroffenen Person als angenehm oder gesund wahrgenommen, während *Distress* als unangenehm oder krankmachend angesehen wird. Das interpersonell verschiedene Empfinden hängt von der Intensität sowie von der Empfänglichkeit des Individuums für den *Stressor* ab. Letztere wird beeinflusst durch die sogenannte Konditionierung, die endogen, wozu beispielsweise genetische Prädisposition, Alter und Geschlecht zählen, oder exogen sein kann, zum Beispiel durch Medikamente oder soziale Faktoren. Selye gesteht dem Menschen allerdings zu, dass man seiner genetischen Prädisposition zur Stressempfindlichkeit den eigenen Willen entgegensetzen und bewusst versuchen kann, *Distress* in *Eustress* umzuwandeln. Weitere Begriffe, die zum Verständnis des Stress-Konzeptes beitragen, sind die der Pathogene. Direkte Pathogene sind solche, die unausweichlich Schaden verursachen, ohne dass dieser erst über den Umweg der Stressreaktion vermittelt oder in großem Maße von ihr beeinflusst werden kann (beispielhaft Hitze, Säuren). Somit ist deren schädigender Einfluss unabhängig von vitalen körperlichen Reaktionen und tritt auch ohne diese auf. Indirekte Pathogene dagegen sind an sich harmlos, aber verursachen durch überschießende oder unangepasste Schutzreaktionen über den Weg des Stressses Schaden (wie Entzündungen). Das kann sich in Form von stressbedingten Erkrankungen (auch als Anpassungsstörungen bezeichnet) zeigen (Selye 1976). Man kann sie als Krankheiten zusammenfassen, die durch einen *Stressor* ausgelöst bzw. verschlimmert wurden (Tennant, Langeluddecke et al. 1985), die zeitlich mit Stress auslösenden Situationen

zusammen hängen und sich zurück bilden, wenn die Situation oder die Anpassungsmechanismen verbessert werden können (O'Neill 1958). Glukokortikoide, die von Selye als ein Beispiel für syntoxische Stoffe genannt werden, also Stoffe, die mit einer potenziellen Pathogenität vergesellschaftet sind (Selye 1976), führen nun zur Beschreibung einer wichtigen Stress-Regulations-Achse im Körper, nämlich der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (= HPA-Achse). Um begrifflich zu machen, wieso im Körper unter der Einwirkung von *Stressoren* Veränderungen ablaufen müssen, die durch hormonale Mechanismen erreicht werden (siehe unten), muss man sich bewusst machen, welche Funktionen der Körper braucht, damit er möglichst gut mit der stressigen Situation zurechtkommt, und welche Körperfunktionen in diesen Momenten unnötig und sogar unvorteilhaft sind, da sie den priorisierten Funktionen Ressourcen wegnehmen. Priorität erhält die Energiebereitstellung durch Glukose (siehe unten) mittels erhöhten Blutflusses in Gehirn und Muskulatur, wozu auch Herz und Atemapparat zählen, für bestmögliche Konzentration und Aktion. Gebremst werden Immunsystem, Reproduktionsfunktionen und Nahrungsaufnahme (Carrasco and Van de Kar 2003). Diese Ziele werden durch vielfältige Mechanismen erreicht. Auf noradrenerge Reize des *ventralen* noradrenergen Bündels aus den A1 und A2 Neuronengruppen der *Medulla oblongata* hin (Assenmacher, Szafarczyk et al. 1987) findet eine Ausschüttung des hypothalamischen (*Nucleus paraventricularis* (= PVN), *Parvozelluläre* Neurone) Kortikotropin-Freisetzender-Faktor (= CRF) statt (Cole and Sawchenko 2002), der Adrenokortikotropes-Hormon (= ACTH) aus dem Hypophysenvorderlappen freisetzt (Young and Akil 1985), das wiederum für die Freisetzung von Glukokortikoiden aus der Nebennierenrinde ins Blut sorgt (Assenmacher, Szafarczyk et al. 1987, Pignatti, Leng et al. 2017). CRF aus dieser hypothalamischen Region (PVN) sorgt zusätzlich für die Ausschüttung von  $\beta$ -Endorphin (Young and Akil 1985) sowie Aktivierung der Sympathikus-Nebennierenmark-Achse (= SAM) (Carrasco and Van de Kar 2003). Projektionen von CRF-Neuronen in den *Locus coeruleus* lösen dort noradrenerge Signale (Carrasco and Van de Kar 2003) an präganglionäre sympathische Neurone im *Nucleus intermediolateralis* des Rückenmarks aus (Fritschy, Lyons et al. 1987, Ulrich-Lai and Herman 2009). Deren Projektionen werden in den *Nervi splanchnici* gebündelt (Torigoe, Cernucan et al. 1985) und setzen unter anderem Acetylcholin ins Nebennierenmark frei, was das Nebennierenmark zur Ausschüttung der Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin anregt (Akiyama, Yamazaki et al. 2004). Für eine korrekte Funktion des Nebennierenmarks ist aber ebenso eine

uneingeschränkte Signalübertragung der hypophysären Achse durch ACTH und nachfolgende Glukokortikoide entscheidend (Kvetnansky, Gewirtz et al. 1970). Auch der serotonerge *Nucleus raphe dorsalis* wird durch CRF, dessen Ursprung aber in der *Amygdala* zu liegen scheint, beeinflusst (Carrasco and Van de Kar 2003). Serotonin steigert die CRF- und Noradrenalin-Ausschüttung (Carrasco and Van de Kar 2003). Glukokortikoide üben hingegen negatives *Feedback* auf *Hypothalamus*- und *Hypophysen*-Ebene aus, sowohl über einen schnellen Mechanismus der direkten Sekretionsinhibierung als auch über einen langsamen Mechanismus über Reduktion der genomischen Expression (Gjerstad, Lightman et al. 2018) und sorgen zusätzlich indirekt über den Umweg des äußerst Glukokortikoid-sensitiven über *Gamma*-Aminobuttersäure-erge (= GABA) Projektionen inhibitorisch wirkenden *Hippocampus* für negatives *Feedback* im *Hypothalamus* (Cole and Sawchenko 2002). Die hormonalen Veränderungen durch die Stressantwort stellen sich notwendigerweise sehr schnell innerhalb von Sekunden (Katecholamine Noradrenalin und Adrenalin) bis Minuten (Glukokortikoide) ein (Carrasco and Van de Kar 2003). Die Endprodukte der Stressachsen-Aktivierung Glukokortikoide (in Nagetieren hauptsächlich Kortikosteron, beim Menschen Kortisol) (de Quervain, Schwabe et al. 2017),  $\beta$ -Endorphin, Adrenalin und Noradrenalin vermitteln nun direkte Veränderungen im Körper bezüglich der Stressantwort. Glukokortikoide wirken über Mineralokortikoid-Rezeptoren (= MR), die schon bei niedrigen Glukokortikoid-Konzentrationen aktiv werden und besonders in limbischen Regionen wie *Amygdala* und *Hippocampus* exprimiert sind, sowie Glukokortikoid-Rezeptoren (= GR), die ubiquitär vorhanden sind und nur bei erhöhten Glukokortikoid-Konzentrationen bspw. bei Höchstwerten der Basalrate und unter Stress aktiviert werden (de Kloet, Joels et al. 2005, Gjerstad, Lightman et al. 2018). Glukokortikoide sorgen für Energiebereitstellung in Form erhöhter Blutglukosespiegel, indem sie einerseits die Insulin-vermittelte Glukose-Aufnahme über den Glukose-Transporter 4 (= GLUT4) in die Muskulatur verringern (Weinstein, Wilson et al. 1998), außerdem weitere Insulinresistenzen vermitteln (Stratakis and Chrousos 1995), und zusätzlich für Muskelprotein-Katabolismus sorgen (Waddell, Baehr et al. 2008), dessen freiwerdende Aminosäuren in die gesteigerte Glukoneogenese der Leber eingespeist werden (Stratakis and Chrousos 1995, Borba, Galindo et al. 2017). Ebenfalls sorgen Glukokortikoide durch Inhibierung der Schilddrüse für Energieeinsparungen und bremsen das Immunsystem, Wachstum sowie Reproduktionsfunktionen (Stratakis and Chrousos 1995). Glukokortikoide spielen eine Rolle bei verschiedenen Gedächtnisfunktionen (de Quervain, Schwabe et al. 2017). Es ist zu beachten, dass

gewisse Veränderungen der freien (ungebundenen) Glukokortikoid-Level physiologisch bedingt durch zirkadiane Schwankungen sind, taktgebend ist hierbei der *Nucleus suprachiasmaticus* (Assenmacher, Szafarczyk et al. 1987), mit geringen Konzentrationen morgens, die sich ab mittags bis abends steigern, wo sie ihren Höhepunkt erreichen (Penalva, Flachskamm et al. 2002). Dies stellt die Basalrate der HPA-Achse dar, die von der durch Stress stimulierten Rate mit bis zu 6-fachen CRF-Werten, 20-fachen ACTH-Werten und 14-fachen Kortikosteron-Werten im Vergleich zur maximalen Basalrate unterschieden werden muss (Assenmacher, Szafarczyk et al. 1987). Bei  $\beta$ -Endorphin handelt es sich um ein endogenes Opioid, das unter anderem *Analgesie* vermittelt (Madden, Akil et al. 1977, Rubinstein, Mogil et al. 1996), aber auch die Reproduktionsfunktionen (bei Frauen) einschränken kann (Seifer and Collins 1990). Adrenalin wirkt wie Noradrenalin auch über Adrenorezeptoren und erhöht den systolischen und arteriellen Mitteldruck (Richards, Prichard et al. 1979). Am Herzen steigert Adrenalin die Erregungsüberleitung (Siebens, Hoffman et al. 1953), die Kontraktionskraft und die Pulsfrequenz (Oliveira, Gazola et al. 2002). Noradrenalin fungiert als postganglionärer Transmitter des Sympathikus, woher die hauptsächliche Menge an Noradrenalin im Blut stammt (Esler, Jennings et al. 1988, Gilbey and Spyer 1993). Noradrenalin hebt den peripheren Gefäßwiderstand, den systolischen und diastolischen Blutdruck sowie den arteriellen Mitteldruck (Richards, Prichard et al. 1979) und beschleunigt, wie Adrenalin, die Erregungsüberleitung am Herzen, jedoch in viel geringerem Maße (Siebens, Hoffman et al. 1953). Noradrenalin vermittelt darüber hinaus Signale an viele weitere Erfolgsorgane (Gilbey and Spyer 1993). Gleichzeitig wird logischerweise der Parasympathikus inhibiert (Stratakis and Chrousos 1995). Erhöhte CRF-Spiegel konnten sowohl mit Depressionen als auch mit Angsterkrankungen und assoziierten Erkrankungen wie Zwangsstörungen oder Posttraumatischer Belastungsstörung *et cetera* in Verbindung gebracht werden (Nemeroff, Widerlov et al. 1984, Arato, Banki et al. 1989, Altemus, Pigott et al. 1992, Bremner, Licinio et al. 1997, Carrasco and Van de Kar 2003), bestärkt auch dadurch, dass sich unter verschiedenartiger Ausschaltung von besonders CRF<sub>1</sub>-Rezeptoren anxiolytische Wirkungen zeigten (Timpl, Spanagel et al. 1998, Arborelius, Skelton et al. 2000).

## 1.2.2 Verschiedene Hypothesen über die Vulnerabilität eines Individuums für Stress und seine Folgen

Da Menschen während ihres Lebens wiederholt gewisse „Hürden“ (Stress) meistern müssen, um sich ihre innere Balance (Homöostase) zu erhalten, sammelt sich einiges an notwendigerweise aufgewandter Energie für diese Erhaltung der inneren Balance an, was den Körper auf Dauer negativ beeinflussen beziehungsweise erschöpfen kann (McEwen 1998). Es gibt verschiedene Ansätze, die versuchen die interindividuell sehr unterschiedlichen Reaktionen und Langzeitfolgen auf vergleichbare *Stressoren* hin zu erklären (McEwen 1998, Daskalakis, Bagot et al. 2013). Letztlich möchte man also die Gründe der augenscheinlich größeren Erschöpfung und damit erhöhten Suszeptibilität einiger Individuen für beispielsweise psychische und andere Erkrankungen herausfinden, während andere Menschen unter vergleichbaren Umständen ein geringeres Risiko für die Entwicklung solcher Erkrankungen aufzuweisen scheinen (McEwen 1998). Das Kumulative-Stress-Modell leitet eine erhöhte Gefährdung für unter anderem psychische Erkrankungen davon ab, ob mehrfach im Leben Stresserlebnisse stattgefunden haben und in der Summe dessen ein gewisses Stresspensum überschritten wurde, ab dem die körperlichen Kompensationsmechanismen nicht mehr ausreichen, um Schaden zu verhindern (McEwen 2003, Daskalakis, Bagot et al. 2013). Befindet man sich bereits jenseits der möglichen Kompensation, geht man von einer erhöhten Risikokonstellation aus (McEwen 2003, Daskalakis, Bagot et al. 2013). Das *Match- / Mismatch*-Modell beschreibt eine frühkindliche Anpassung an das zu diesem Zeitpunkt herrschende Umfeld, da die natürliche Wahrscheinlichkeit höher scheint, dass ein Individuum sich grundsätzlich auch im weiteren Leben nicht in allzu stark verändertem Umfeld wiederfinden wird, sondern das Umfeld erwartungsgemäß eher konstant bleibt (Boyce and Ellis 2005, Belsky and Pluess 2009, Daskalakis, Bagot et al. 2013, Santarelli, Lesuis et al. 2014). Unter der Annahme, dass dies zutrifft, wird dieses Individuum während seines Lebens gut zurechtkommen, da seine Anpassung ihm Vorteile verschafft (*Match*) (Boyce and Ellis 2005, Belsky and Pluess 2009, Daskalakis, Bagot et al. 2013, Santarelli, Lesuis et al. 2014). Trifft dies allerdings nicht zu und das spätere Lebensumfeld ist von anderen Erfahrungen und Umständen geprägt als das frühere Umfeld, wird sich die vermeintliche Anpassung des Individuums als nicht hilfreich erweisen (*Mismatch*) (Boyce and Ellis 2005, Daskalakis, Bagot et al. 2013). Bei einem *Mismatch* wird von erhöhtem Risiko der Anfälligkeit für psychische Erkrankungen unter Stress ausgegangen (Boyce and Ellis 2005, Daskalakis, Bagot et al. 2013). Die

vorangehend beschriebenen *pränatalen* bis frühkindlichen Anpassungsmechanismen finden nach erhöhter Kortikosteroid-Exposition des Fetus an seiner HPA-Achse und damit verbundenen Regionen des Gehirns statt und vermitteln die Tendenz zu deren leichterem und größerer Aktivierung. Weiterhin können auch DNA-Methylierung und andere Aspekte des Epigenoms verändert werden. Zusammengefasst sind die Stress-Regelkreise besonders im frühen Leben noch sehr veränderlich (siehe Neuroplastizität) und fügen sich schließlich zu einem ganzheitlichen Bild eines gewissen Stress-Phänotyps zusammen, der alle Facetten von vulnerabel bis resilient gegenüber Stress umfassen kann (van Bodegom, Homberg et al. 2017). In den erfassten Lebensgeschichten der Mäuse des hier zugrunde liegenden Tiermodells (siehe auch Material und Methoden) spiegelt sich das Stresserleben der einzelnen Mäuse von der *Pränatalperiode* bis ins Erwachsenenalter wieder (Bodden, Richter et al. 2015), sodass die oben genannten Stress-Modelle auf ihr Zutreffen hin geprüft werden können.

### 1.3 Hippocampus

Der *Hippocampus* ist Teil des limbischen Systems und wird zusammenfassend auch als *Gyrus intralimbicus* bezeichnet (Destrieux, Bourry et al. 2013). Er sitzt im *medialen* Temporallappen und durchzieht ihn C-förmig von *antero-medial* über *sagittal* nach *posterior*, wo er leicht nach *dorso-medial* anzusteigen beginnt (Kiernan 2012, Destrieux, Bourry et al. 2013). Dahingegen verläuft in Nagetieren die Längsachse eher *dorso-ventral* beziehungsweise *septo-temporal* und das *temporale* Endstück krümmt sich dabei nach *ventral* (O'Leary and Cryan 2014, Knierim 2015). In Nagetieren entspricht der *ventrale Hippocampus* am ehesten dem menschlichen *anterioren Hippocampus* und umgekehrt ist der *dorsale Part* in Nagetieren entsprechend dem menschlichen *posterioren Hippocampus*-Anteil beschaffen (Knierim 2015). Dem *dorsalen* Anteil werden kognitive Funktionen zugesprochen und der *ventrale* Anteil ist für Stress sowie Emotion zuständig (Fanselow and Dong 2010). Im Weiteren wird vorrangig auf die menschliche Anatomie in Bezug auf diese Gehirnregion eingegangen. Der *Hippocampus* bildet die *mediale* Seitenwand des Seitenventrikelunterhorns und wird nach *medial* durch die *Cisterna ambiens* und ihre *Fissura transversalis* begrenzt (Destrieux, Bourry et al. 2013). Nach *ventral* ist der *Gyrus parahippocampalis* angegliedert (Destrieux, Bourry et al. 2013). Zur *Formatio hippocampalis* gehören *Hippocampus*, *Gyrus dentatus*, *Alveus*, *Fimbria* und *Fornix* (Kiernan 2012). Deren Ortsbeziehung zueinander bleibt über die Längsachse hinweg

weitgehend unverändert und kann deshalb am besten am histologischen Querschnittsbild der Längsachse (*koronaler Schnitt*) erklärt werden (Kiernan 2012, Destrieux, Bourry et al. 2013). Beim *Gyrus dentatus* handelt es sich um eine konkav eingekerbte kortikale *Lamina*, die mit ihrem *medialen* und *lateralen* Schenkel den Beginn des *hippocampalen Cornu ammonis* (= CA), dessen Region CA4, umrahmt (Destrieux, Bourry et al. 2013). Das *Cornu ammonis* setzt sich nach CA4 fortwährend gekrümmt in CA3, CA2 und CA1 fort, sodass es insgesamt einer um den *Gyrus dentatus* herum eingerollten oder auch schneckenförmigen kortikalen *Lamina* gleicht (Destrieux, Bourry et al. 2013). Danach geht das *Cornu ammonis* über das *Subiculum* in den *Gyrus parahippocampalis* über (Destrieux, Bourry et al. 2013). Der *Hippocampus* ist Teil des *Allocortex* und jedes seiner Felder CA1-4 weist drei hauptsächliche Zellschichten auf (Destrieux, Bourry et al. 2013, Palomero-Gallagher, Kedo et al. 2020). Diese sind, von tief liegend nach oberflächlich, *Stratum moleculare*, das afferente, axodendritische Synapsen enthält und in vier feinere Schichten (*Stratum moleculare*, *Stratum lacunosum*, *Stratum radiatum* und *Stratum lucidum*, das nur in CA3 abgegrenzt werden kann und Afferenzen aus dem *Gyrus dentatus* enthält) unterteilt wird, weiterhin *Stratum pyramidale* mit den *Somata* der Pyramidenzellen und *Stratum oriens* mit den Basaldendriten der Pyramidenzellen (Kiernan 2012, Palomero-Gallagher, Kedo et al. 2020). Schließlich liegt an der Oberfläche eine Schicht weißer Substanz auf, genannt *Alveus*, die unter anderem von den Axonen der Pyramidenzellen gebildet wird (Kiernan 2012, Palomero-Gallagher, Kedo et al. 2020). Lorente de Nó erkannte bereits sehr früh, dass unter anderem CA1 und CA3 in weitere Subregionen aufgeteilt werden konnten (Lorente de Nó 1934), was mittlerweile auch auf molekularer Ebene durch Rezeptor-Analysen bestätigt werden konnte (Palomero-Gallagher, Kedo et al. 2020). In Bezug zum *Gyrus dentatus* werden von proximal nach distal CA3c (grenzt an CA4), CA3b und CA3a (grenzt an CA2) unterschieden (Palomero-Gallagher, Kedo et al. 2020). Nun kehre ich zum makroskopischen Gesamtbild zurück. Der anteriore, recht breite *Hippocampus*-Anteil, auch bezeichnet als *Hippocampus-Kopf*, weist mehrere schmale Einziehungen auf (*Digitationes hippocampi*), da das *Cornu ammonis* dort wellenförmig verläuft, sodass der Eindruck entsteht, man würde auf eine Tierpfote blicken, was ihm den Namen *Pes hippocampi* einbrachte (Kiernan 2012, Destrieux, Bourry et al. 2013). *Hippocampus-Kopf* und anliegender *Gyrus parahippocampalis* bilden anterior weiterhin einen hakenförmigen *Uncus* aus (Destrieux, Bourry et al. 2013). Im *parahippocampalen* Anteil dieses *Uncus* findet sich anteilig der *Lobus piriformis* mit enthaltener *Area entorhinalis* (Kiernan 2012,



Destrieux, Bourry et al. 2013). Der sichtbare Anteil des *Gyrus dentatus* ist makroskopisch ebenfalls gut zu erkennen, in diesem Fall an einer gezähnten Oberflächenstruktur (*Margo denticulatus*), die sich nach *posterior* hin glättet (*Fasciola cinerea*) (Destrieux, Bourry et al. 2013). Der bereits genannte, zur weißen Substanz gehörende, *Alveus* führt seine Fasern *dorsal* des *Margo denticulatus* als sichtbar abgehobene *Fimbriae* zusammen und leitet sie unter fortwährender Anlagerung weiter *posterior* hinzu tretender Fasern des *Alveus* schließlich als *Fornix ventral* entlang des *Corpus callosum* fort (Kiernan 2012, Destrieux, Bourry et al. 2013). Der *posterior* gelegene *Hippocampus*-Schwanz setzt sich *dorsal* des *Corpus callosum* als *Indusium griseum* fort (Destrieux, Bourry et al. 2013). Zur Betrachtung der Verschaltungen des *Hippocampus* muss der Begriff der trisynaptischen Schleife erklärt werden: Hierbei handelt es sich um aus der *Area entorhinalis per Tractus perforans* kommende Afferenzen, die zuerst im *Gyrus dentatus* Synapsen bilden, die wiederum über seine Moosfasern mit CA3 Synapsen formt (Knierim 2015). CA3 bildet über Schaffer-Kollateralen schließlich mit CA1 die dritte Synapse aus (Ishizuka, Weber et al. 1990) und CA1 sendet wiederum Efferenzen an die *Area entorhinalis*, womit sich der Kreis schließt und *Feedback*-Regulation ermöglicht (Knierim 2015). Dies ist allerdings eine stark vereinfachte Darstellung der *hippocampalen* Verschaltungen, die der Realität nicht gerecht wird (Ishizuka, Weber et al. 1990, Li, Somogyi et al. 1994). Es liegen vielmehr unzählige weitere Synapsen auch von CA3-Pyramidenzellen untereinander, *Feedback*-Schleifen von CA3 zurück zum *Hilus* des *Gyrus dentatus* sowie direkte Afferenzen der *Area entorhinalis* zu CA3- und CA1-Neuronen vor (Ishizuka, Weber et al. 1990, Li, Somogyi et al. 1994, Knierim 2015). Hierbei muss betont werden, dass die diversen Verschaltungen nicht auf einen Querschnitt des *Hippocampus* entlang der Longitudinalachse begrenzt sind (*Lamellare* Hypothese), sondern sie ebenso entlang der Longitudinal-Achse stattfinden (Ishizuka, Weber et al. 1990, Li, Somogyi et al. 1994, Kondo, Lavenex et al. 2009, Knierim 2015). CA3-Pyramidenzellen sind glutamaterge Neurone, die zusätzlich zu den weitläufigen bereits genannten *ipsilateralen* Projektionen ebenso Informationen nach *kontralateral* senden, was CA3 insgesamt zu einer bedeutsamen, einflussreichen Region macht (Scharfman 2007). Dabei folgen die Projektionen der CA-Felder gewissen reproduzierbaren Mustern (Ishizuka, Weber et al. 1990, Kondo, Lavenex et al. 2009). In CA3 beispielsweise hängt von der jeweiligen Entfernung der Zelle zum *Gyrus dentatus* (vergleiche oben: Anordnung der Subregionen CA3a, b, c) ab, ob sie ihre CA1-Efferenzen eher zu auf der Longitudinalachse weiter *septal* oder *temporal* gelegenen CA1-Regionen schickt

und ob diese Efferenzen CA1 eher nahe des *Subiculum* oder nahe CA2 erreichen (Ishizuka, Weber et al. 1990, Yu, Feng et al. 2019). Serotonerge Axone aus dem *medianen* und *dorsalen Raphe-Kern* üben *Innervation* unter anderem auf CA3 aus (Freund, Gulyas et al. 1990). CA3 ist sensibel für Serotonin aufgrund mehrerer Arten von Serotonin-Rezeptoren wie 5-HTR<sub>1A</sub>, 5-HTR<sub>2A</sub>, 5-HTR<sub>2C</sub> und 5-HTR<sub>7</sub> an Pyramidenzellen sowie Interneuronen (Prince, Bacon et al. 2016) und besitzt eine sehr hohe Dichte an SERT (McKittrick, Magarinos et al. 2000). Außerdem beachtenswert ist, dass im *Gyrus dentatus* das seltene Phänomen der *adulten* Neurogenese anzutreffen ist, sodass neue Moosfasern für die Verbindung mit CA3 ausgebildet werden können (Kempermann, Song et al. 2015). Weitere Afferenzen des *Hippocampus* kommen aus *peri-* sowie *postrhinalem Cortex*, *medialer Area septalis*, *Locus coeruleus*, *Raphe-Kernen* und *Amygdala* (Knierim 2015). Bedeutsame Efferenzen verlassen den *Hippocampus* über den *Fornix* in Richtung *Corpora mammillaria*, laufen dann über das *Vicq-d'Azyr-Bündel* in den vorderen Thalamuskern und von dort *via mediale Thalamokortikale* Strahlung zum *Gyrus cinguli* (Papez 1995, Choi, Kim et al. 2019). Von dort führt das *Cingulum posterius* zur *Area entorhinalis*, welche über den *Tractus perforans*, wie oben genannt, eine Verbindung zum *Gyrus dentatus* herstellt und so den sogenannten Papez-Kreis schließt (Papez 1995, Choi, Kim et al. 2019). Beeinträchtigungen des Papez-Kreises durch zum Beispiel Ischämie aufgrund von Schlaganfall oder zeitweiligem Herzstillstand können das Risiko für Gedächtnisstörungen und Demenz, speziell auch Alzheimer-Demenz erhöhen, da es in der Folge zu Tau-Protein-Ansammlungen im *Liquor*, Reduktion der Neuronenzahl (Callen, Black et al. 2001, Copenhagen, Rabin et al. 2006), verminderter synaptischer Übertragung sowie Plastizität (siehe Neuronale Plastizität) und gestörter neuronaler Synchronisation kommt (Escobar, Xu et al. 2019). Da aber neuronale Integrität, synaptische Plastizität und durch Oszillationsrhythmen synchronisierte sowie koordinierte neuronale Kommunikation wichtige Komponenten der Gedächtnisbildung darstellen, werden Symptome wie anterograde Amnesie bei Schädigung von Komponenten des Papez-Kreises, insbesondere des *Hippocampus*, verständlich (Escobar, Xu et al. 2019). Einen solchen lokalen Rhythmusgeber findet man beispielsweise im *Hippocampus* in CA3 (Escobar, Xu et al. 2019). Insgesamt herrscht im *Hippocampus* ein starker *Theta*-Rhythmus, der sich im Papez-Kreis widerspiegelt (Escobar, Xu et al. 2019). Der *Hippocampus* trägt also zusammengefasst zur Gedächtnisbildung bei. Von den verschiedenen Gedächtnis-Varianten, ist er speziell für das episodische Gedächtnis zuständig, das bewusstes, kontextbezogenes (Zeit und

Ort) Erinnern an ein bestimmtes Erlebnis ermöglicht (Knierim 2015). Dafür benötigt der *Hippocampus* unter anderem sogenannte Ortszellen, die während der Fortbewegung unter Beachtung der Umweltgegebenheiten und Blickrichtung eine Karte der Umgebung erstellen und so zum räumlichen Denken und Lernen beitragen (Knierim 2015). Ortszellen arbeiten eng mit *entorhinalen* Raster- und Grenzzellen zusammen, die ebenfalls räumliche Informationen zu codieren scheinen (Knierim 2015). Dieselben *hippocampalen* Pyramidenzellen, die die Aufgabe von Ortszellen übernehmen, sind ebenso befähigt, Zeit und Geschwindigkeit zu codieren; dann werden sie als Zeitzellen bzw. Distanzzellen bezeichnet und repräsentieren eine weitere Funktion des *Hippocampus* (Knierim 2015). Der *Hippocampus* bildet dementsprechend Erinnerungen in zeitlichem und räumlichem Kontext ab, auf die bei Bedarf zurückgegriffen werden kann (Knierim 2015). Die bereits genannten und weitere noch komplexere Vorgänge sowie fortwährende Aktualisierung der Erinnerungen erlauben also einem Individuum, mithilfe des *Hippocampus*, unter Beachtung des erinnerten bereits Erlebten, Entscheidungen mit Bezug auf die Zukunft zu treffen, sei es eine Entscheidung bezüglich möglichen Verhaltens oder der Auswahl einer Route (Knierim 2015). Durch Konsolidierung (Systemkonsolidierung) von Erinnerungen, also dem zunehmenden „Verschieben“ der Erinnerungen in andere Hirnareale, die das Langzeitgedächtnis repräsentieren, kann aber mit der Zeit auch ohne Einbezug des *Hippocampus* erinnert werden (Dudai, Karni et al. 2015, Knierim 2015). Für diese Überführung ins *neokortikale* Langzeitgedächtnis, besonders während des Schlafes, ist ebenfalls der *Hippocampus* zuständig (Sawangjit, Oyanedel et al. 2018, Klinzing, Niethard et al. 2019). Eine Gruppe von Erkrankungen, die der *Hippocampus* eventuell sogar durch Über-Aktivität mitverursachen könnte, sind Angsterkrankungen. Hierbei könnte der zugrunde liegende Mechanismus insgesamt verstärkt negativ-eingefärbtes Erinnern aufgrund vermehrt negativer Wahrnehmungsmuster sowie stärkerer Hemmung positiver Impulse sein (McNaughton 1997).

#### **1.4 Neuronale Plastizität**

Um sich fortwährend an neue Erfahrungen anpassen, lernen, Erinnerungen speichern und Verletzungen kompensieren zu können, müssen im Gehirn stetig Veränderungen stattfinden (Holtmaat and Svoboda 2009, Meyer, Bonhoeffer et al. 2014). Ein gewisser Basis-Umsatz ist aber auch generell vorhanden, besonders in jüngerem Alter, wenn die Entwicklung noch andauert (Holtmaat and Svoboda 2009). Veränderungen ereignen

sich an vielen verschiedenen Abschnitten von Neuronen und ihren Synapsen wie den axonalen *Boutons* und den Dornenfortsätzen (*Spines*), genauer gesagt an der präsynaptischen aktiven Zone mit Vesikeln und der postsynaptischen Verdichtungszone (= PSD) mit Rezeptoren (Takumi, Ramirez-Leon et al. 1999, Holtmaat and Svoboda 2009, Meyer, Bonhoeffer et al. 2014). Dabei gehen Änderungen der Stärke der synaptischen Übertragung, funktioneller Plastizität, mit Änderungen der Anatomie, struktureller Plastizität, einher (Engert and Bonhoeffer 1999, Holtmaat and Svoboda 2009). *Spines* scheinen dabei in größerem Maße und schneller Veränderungen zu unterliegen als beispielsweise *Boutons*; dies hängt zusätzlich aber auch von Zelltyp und Hirnregion ab (Holtmaat and Svoboda 2009, Meyer, Bonhoeffer et al. 2014). Außerdem gibt es auch *Spines*, die kein Bestandteil einer Synapse sind oder mehrere *Spines*, die sich ein *Bouton* „teilen“; dieser nennt sich dann *Multiple-Synapsen-Bouton* (= MSB) (Holtmaat and Svoboda 2009). Ein Mechanismus von Plastizität ist die Ausbildung neuer MSBs und im Verlauf das Abstoßen älterer *Spines* von der MSB (Holtmaat and Svoboda 2009). Neue *Spines* scheinen nämlich von der Anwesenheit einer bereits aktiven Synapse und deren Glutamat angezogen zu werden (Holtmaat and Svoboda 2009). Es gibt gewisse molekulare und morphologische Kennzeichen, anhand derer abgeschätzt werden kann, ob eine Synapse über lange Zeit stabil erhalten bleibt oder tendenziell schnell wieder in den Hintergrund tritt. *Spines* können nur tageweise existieren; falls jedoch eine Woche überschritten wird, können sie noch über Monate stabil sein oder sogar jahrzehntelang erhalten bleiben; dann handelt es sich meistens um große *Spines*, während kurzlebige *Spines* oft kleiner sind (Holtmaat and Svoboda 2009). Mit hauptverantwortlich für diese *Spine*-Eigenschaften scheint das Protein 95 der PSD (= PSD-95) zu sein, obwohl es selbst recht kurzweilig und über Diffusion ständig mobil ist (Holtmaat and Svoboda 2009). Große *Spines* enthalten mehr PSD-95 und dies über einen längeren Zeitraum als kleine (Holtmaat and Svoboda 2009). Dies aber auch nur in langfristig vergrößerten *Spines*, wohingegen Homer1c sich ebenso in PSDs kurzfristig vergrößerter *Spines* nach Stimulation erhöht (Meyer, Bonhoeffer et al. 2014). Ein weiterer wichtiger Treiber von struktureller Plastizität ist das Aktin des Zytoskeletts (Okamoto, Nagai et al. 2004). In stimulierten *Spines* erhöht sich F-Aktin, sodass sie vergrößert werden, wohingegen überwiegendes G-Aktin zu einer Verkleinerung führen würde (Okamoto, Nagai et al. 2004). Einzelne Bestandteile einer Synapse vergrößern sich gleichförmig als Anzeichen für langfristige Stabilität der Veränderungen und je größer eine Synapse schließlich ist, desto aktiver ist sie auch dank beispielsweise

Veränderungen des *Alpha*-Amino-3-Hydroxy-5-Methylisoxazol-4-Propionsäure (= AMPA) : N-Methyl-D-Aspartat (= NMDA) - Verhältnisses mit insbesondere mehr AMPA-Rezeptoren, während NMDA-Rezeptoren sowieso relativ zahlreich vorhanden sind (Baude, Nusser et al. 1995, Nusser, Lujan et al. 1998, Takumi, Ramirez-Leon et al. 1999, Meyer, Bonhoeffer et al. 2014). AMPA- und NMDA-Rezeptoren gehören beide zur Klasse der Glutamat-Rezeptoren und vermitteln schnell einen kurzzeitigen, geringen Kalzium-Strom oder letzterer - nach Depolarisations-Entblockung - langsam einen großen Kalzium-Einstrom, der unter anderem das Ausmaß der synaptischen Übertragung regelt (Seeburg 1993). Neuronale Plastizität führt also insbesondere bei langfristiger Stabilisierung ihrer Ergebnisse zu vergleichbaren Strukturveränderungen nicht nur einzelner, sondern vieler Bestandteile einer Synapse (Meyer, Bonhoeffer et al. 2014). Dies wird weiterhin untermauert durch für prä- und postsynaptische Proteine gleich große Nano-Organisationseinheiten, auch bezeichnet als synaptische Nanomodule, die sich im Zuge struktureller Plastizität zahlenmäßig, aber nicht bezüglich ihrer Größe verändern (Hruska, Henderson et al. 2018). Vermehren sie sich, vergrößern sich *Spine* und ebenso Präsynapse (Hruska, Henderson et al. 2018). Training ist in der Lage, Erhöhungen der *Spine*-Zahlen zu verursachen und über Wiederholungen zu stabilisieren (Holtmaat and Svoboda 2009). In Krankheiten hingegen, zum Beispiel bei Alzheimer und Schizophrenie, können die *Spines* nicht normal arbeiten; es werden oft geringere *Spine*-Zahlen nachgewiesen als normalerweise und auch die funktionelle Plastizität scheint verändert zu sein (Holtmaat and Svoboda 2009). Ebenfalls gestört ist die funktionelle Plastizität, wenn Stimuli unsynchronisiert auf rhythmisierte neuronale Netzwerke wie den *Hippocampus* (siehe Kapitel 1.3) treffen, denn dann wird Langzeitpotenzierung (= LTP) nicht oder schwerer erreicht (Orr, Rao et al. 2001). LTP bedeutet, dass durch Aktivierung von NMDA-Rezeptoren und darauf folgenden Kalzium-Einstrom die Serin/ Threonin-Protein-Kinase CaMKII (auch genannt Kalzium/ Kalmodulin-abhängige Protein-Kinase II) autophosphoryliert und dadurch langfristig aktiviert wird, sodass sie Mechanismen zur Verstärkung der synaptischen Übertragung in Gang setzen kann (El-Gaby, Shipton et al. 2015). Unter diese Effekte, die monatelang anhalten können, fallen beispielsweise Förderung der Aktivität von AMPA-Rezeptoren sowie *Spine*-Größenwachstum (El-Gaby, Shipton et al. 2015). Natürlich existiert auch ein gegenläufiger Mechanismus zur Langzeitpotenzierung, nämlich die Langzeitdepression. Langzeitdepression ist ebenfalls NMDA-Rezeptor-abhängig und führt über einen postsynaptisch verminderten Kalzium-Einstrom zu über Tage anhaltender, stark verminderter Aktivität der Synapse

(Wiegert and Oertner 2013). Im Falle, dass das *Spine* bereits im Voraus der Depression nur gering gefordert war, wird es schließlich samt der Präsynapse und sogar benachbarter Synapsen abgebaut, während sich langlebige *Spines* wieder erholen können (Wiegert and Oertner 2013). Neuronale Plastizität, die nur innerhalb kürzerer Zeitspannen, höchstens Minuten, anhält, wird als Kurzzeit-Plastizität bezeichnet und umfasst ebenso Kurzzeitpotenzierung wie Kurzzeitdepression (Zucker and Regehr 2002). Das ausgeprägte Auftreten neuronaler, insbesondere auch struktureller Plastizität an CA3-Neuronen konnte bereits vielfältig gezeigt werden (Shankaranarayana Rao, Raju et al. 1999, Ishiwata, Shiga et al. 2005, Martinez-Tellez, Hernandez-Torres et al. 2009, Weng, Garcia et al. 2018, Viana da Silva, Zhang et al. 2019), weshalb CA3 geeignet erscheint, morphologische Veränderungen an unterschiedlich beeinflussten Neuronen zu untersuchen. Interessanterweise finden sich seitendifferente Abweichungen neuronaler Plastizität, wie beispielsweise in CA3-CA1-Projektionen, im *Hippocampus* (El-Gaby, Shipton et al. 2015). Afferenzen aus dem linken CA3 bilden meist Synapsen mit kleinen *Spines*, wohingegen Afferenzen des rechten CA3 vorrangig große *Spines* ansteuern; zudem ist die Rezeptorverteilung anders, was letztlich dazu führt, dass CA3-Afferenzen von links im Gegensatz zu welchen von rechts leichter LTP ausbilden können (El-Gaby, Shipton et al. 2015).

### 1.5 Fragestellung

Stress scheint je nach Vorerfahrungen und Serotonin-Homöostase mit vielen, interindividuell verschieden ausgeprägten Veränderungen im Verhalten, aber auch morphologisch in neuronalen Netzwerken vergesellschaftet zu sein. Als sehr sensibel für diese Folgeerscheinungen gelten die stressempfindlichen *hippocampalen* CA3-Pyramidenzellen. Daher stellt sich die Frage, ob beim Vergleich der Apikaldendriten-Morphologie von *hippocampalen* CA3-Pyramidenzellen verschiedener Mäuse Unterschiede festgestellt werden können. Die verwendeten Serotonin-Transporter-*Knockout*-Mäuse unterscheiden sich hierbei in ihrer jeweils zugrunde liegenden Lebensgeschichte in Bezug auf mehr oder minder viele Stresserfahrungen und bezüglich ihres *Sert*-Genotyps. Ein Aufteilen ihrer Neurone in *Subpopulationen* soll mögliche Unterschiede verdeutlichen.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Versuchstiere

Die in dieser Arbeit verwendeten Gehirne stammen von Mäusen, welche im Rahmen einer Arbeit von Frau Carina Bodden aus der Arbeitsgruppe von Herrn Professor Norbert Sachser (Institut für Neuro- und Verhaltensbiologie, Westfälische Wilhelms-Universität Münster) gezüchtet und aufgezogen worden sind (Tierversuchsvotum AZ-84-02.05.20.12.212). Sie wurden experimentellen Gruppen zugeordnet, die von der *Pränatalphase* bis ins Erwachsenenalter hinein verschiedene Lebenserfahrungen machen durften (Bodden, Richter et al. 2015). Weiter unten werden diese Lebenserfahrungen kurz beschrieben. Die Tiere entstammten der Serotonin-Transporter (= *Sert*)-*Knockout*-Linie (Bengel, Murphy et al. 1998), rückgekreuzt mit C57BL/6J-Mäusen über mehr als zehn Generationen. Um das *Sert*-Gen zu verändern, wurde zuvor in embryonalen Stammzellen das *Sert*-Exon 2 zusammen mit umgebenden Gensequenzen mittels homologer Rekombination durch eine PGK-*neo*-Genkassette ersetzt (Bengel, Murphy et al. 1998). Die auf diese Weise erfolgreich generierten rekombinanten embryonalen Stammzellen wurden einer C57BL/6J-Blastocyste injiziert. Die entstandenen chimären Männchen wurden mit CD-1- und C57BL/6J-Weibchen verpaart. Der Nachwuchs hieraus, mit im *Southern Blot* nachgewiesener Heterozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels (= HET), wurde untereinander verpaart, um neben Mäusen mit Homozygotie bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels (= WT) auch homozygoten Nachwuchs bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels (= KO) zu erhalten (Bengel, Murphy et al. 1998). Frau Carina Bodden hat für ihre *Life history*-Studie jeweils eines von insgesamt 124 erwachsenen Weibchen mit einem von insgesamt 21 erwachsenen Männchen, beide HET, verpaart. Nur der männliche Nachwuchs aller drei entstehenden Genotypen (siehe Tabelle 2.1.1) wurde für diese Studie eingesetzt (Bodden, Richter et al. 2015). Der Genotyp der Mäuse konnte anhand von DNA-Proben aus Gewebe des Ohres, die nach Vervielfältigung mittels Polymerase-Kettenreaktion unter Einsatz spezifischer Primer einer Agarose-Gelelektrophorese zugeführt wurden, bestimmt werden (Bengel, Murphy et al. 1998, Bodden, Richter et al. 2015).

Die Mäuse wurden in transparenten, standardmäßigen Makrolonkäfigen Typ III gehalten. Ihnen standen Sägespan-Einstreu (Allspan, Höveler GmbH und Co.KG, Langenfeld, Deutschland) und ein Papierhandtuch als Nistmaterial zur Verfügung.

Zuchtweibchen erhielten neben Zuchtdiät-Futterpellets der Rezeptur 1314 (Altromin GmbH, Lage, Deutschland) auch Haferflocken (Fortin GmbH und Co.KG, Düsseldorf, Deutschland) und Wasser *ad libitum*. Alle anderen Mäuse erhielten Haltungsdiät-Futterpellets der Rezeptur 1324 (Altromin GmbH, Lage, Deutschland) und Wasser *ad libitum*. Es wurde ein Hell-/ Dunkel-Zyklus von 12 Stunden eingehalten, wobei um 8 Uhr morgens das Licht eingeschaltet wurde. Die Temperatur lag bei  $22 \pm 2$  °C, die relative Luftfeuchtigkeit bei  $50 \pm 10$  % (Bodden, Richter et al. 2015).

Tabelle 2.1.1 *Anzahl der für die Experimente verwendeten Männchen pro Serotonintransporter-Genotyp*

HET = Mäuse heterozygot bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; KO = Mäuse homozygot bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; WT = Mäuse homozygot bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels.

Genotyp	Anzahl der Mäuse
WT	40
HET	48
KO	34
Gesamt	122

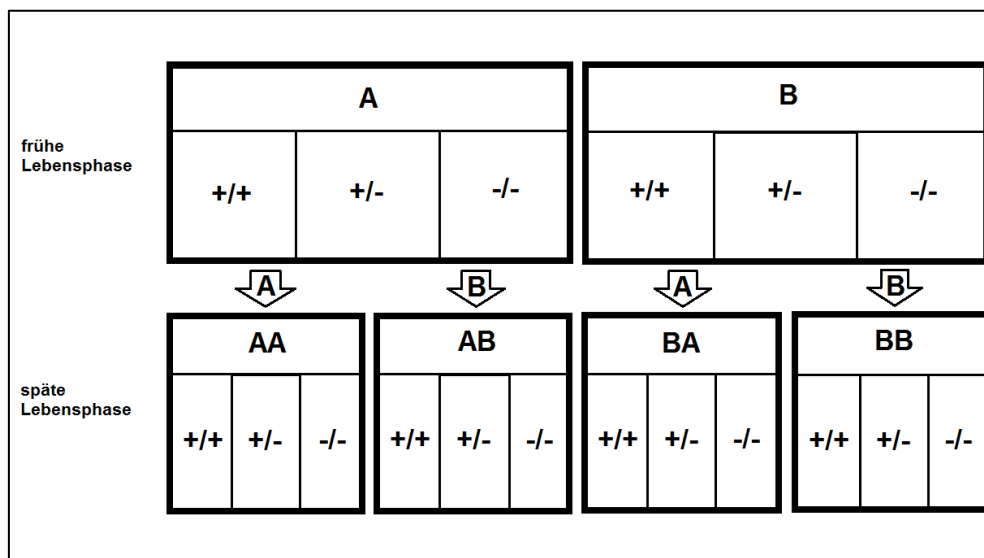
Die unterschiedlichen Lebensgeschichten der Mäuse. Die Mäuse aller drei Genotypen WT, HET sowie KO wurden im Rahmen der Studie von Frau Bodden und Mitarbeitern verschiedenen Lebensumständen ausgesetzt, die entweder negativ (widrig, *adverse* = A) oder positiv (wohltuend, *beneficial* = B) waren (Bodden, Richter et al. 2015). Die Durchführende war gegenüber den Genotypen der Mäuse während der Experimente und Verhaltenstests (siehe unten) verblindet. Eine frühe Lebensphase, welche die *Pränatalperiode* bis zur *Adoleszenz* umfasste, und eine späte Lebensphase, dem frühen Erwachsenenalter entsprechend, wurden bei dieser Studie unterschieden. Es gab also zwei Gruppen, deren frühes Leben unter widrigen Bedingungen stattfand und zwei, die angenehme Bedingungen erlebten. In der späten Lebensphase verblieben die widrigen beziehungsweise angenehmen Umstände für jeweils eine der Gruppen, die beiden anderen Gruppen machten jedoch von ihrer vorigen Lebensgeschichte abweichende Erfahrungen in positiver beziehungsweise negativer Hinsicht (*Mismatch*). Daraus ergaben sich insgesamt vier Gruppen mit verschiedenen Lebensgeschichten



(AA, AB, BA, BB; siehe Tabelle 2.1.2). Da pro Lebensgeschichte (*Life history*) Mäuse aller drei Genotypen (WT, HET, KO) eingesetzt wurden, umfasste diese *Life history*-Studie insgesamt zwölf verschiedene experimentelle Gruppen (siehe Grafik 2.1).

Tabelle 2.1.2 *Anzahl der für die Experimente verwendeten Männchen pro Lebensgeschichte*  
 \* = dritte Messung des Körpergewichtes konnte nicht bei allen Mäusen durchgeführt werden (Bodden, Richter et al. 2015); „[...]“ = wörtliches Zitat steht in Anführungszeichen (Bodden, Richter et al. 2015); A = Lebensphase mit widrigen Lebensumständen; B = Lebensphase mit wohlthuenden Lebensumständen.

Lebensgeschichte (frühe Lebensphase – späte Lebensphase)	Anzahl der Mäuse	Bemerkung
AA	30 (28*)	„matched adversity“
AB	29	„mismatch“
BA	31	„mismatch“
BB	32	„matched benefit“
Gesamt	122 (120*)	



Grafik 2.1 *Insgesamt zwölf experimentelle Gruppen zusammengesetzt aus Mäusen verschiedener Lebensgeschichten und Genotypen*  
 +/+ = Mäuse homozygot bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels; +/- = Mäuse heterozygot bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; -/- = Mäuse homozygot bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; A = Lebensphase mit widrigen Lebensumständen; B = Lebensphase mit wohlthuenden Lebensumständen.

Stress wurde in der *Pränatalperiode* (ab *Pränataltag* 9) und während des Säugens (ab *Postnataltag* 3) erzeugt, indem die Mütter von AA- und AB-Mäusen mehrfach gebrauchtem Einstreu verschiedener fremder Männchen ausgesetzt wurden (Heiming, Jansen et al. 2009, Heiming, Bodden et al. 2011), wodurch die Gefahr des *Infantizids* simuliert wurde (vom Saal and Howard 1982, Elwood and Kennedy 1991). Die Mütter von BA- und BB-Mäusen hingegen erhielten frische Einstreu, welche die Tiere dementsprechend nicht mit Gefahr assoziierten. Im Alter von 22 Tagen *postnatal* wurde der Nachwuchs von der Mutter getrennt, der Genotyp bestimmt (siehe oben) und ab diesem Zeitpunkt die ausschließlich für die Experimente verwendeten Männchen, getrennt von den Weibchen, zu zwei bis fünf Tieren gemischter Genotypen gehalten.

Ab dem *postnatalen* Tag  $35 \pm 2$  (entspricht dem Stadium der *Adoleszenz*) erhielt jedes Männchen einen eigenen Käfig. Ab *postnatalen* Tag  $37 \pm 2$  wurden AA und AB erneut gestresst, indem sie einzeln insgesamt fünf Mal in den Käfig eines aggressiven, erwachsenen NMRI (*Naval Medical Research Institute*)-Männchens gesetzt wurden wobei es bis zum Kampf kommen konnte (Navarro 1997). Auf diese Weise erfuhren die Mäuse eine soziale Niederlage (*social defeat*) (Jansen, Heiming et al. 2010, Bodden, Richter et al. 2015). BA und BB hingegen machten fünf angenehme soziale Erfahrungen mit erwachsenen, sexuell erfahrenen, begattungsbereiten Weibchen mindestens zweier verschiedener Genotypen (möglich waren WT, HET, KO) in einem neutralen Käfig mit frischer Einstreu.

Ab dem *postnatalen* Tag  $70 \pm 2$  (entspricht dem Erwachsenenalter) wurden die Tiere einzeln in einem speziell gefertigten Käfig (Lewejohann, Kloke et al. 2010) untergebracht, der aus einem Hauptkäfig und einem kleineren Nebenkäfig, verbunden durch ein Wasserbecken, bestand. Das Wasserbecken bot den Mäusen einen Fluchtweg in den Nebenkäfig. Haupt- sowie Nebenkäfig enthielten saubere Einstreu, ein Papierhandtuch und Zugang zu Futter und Wasser *ad libitum* und wurden für 24 Stunden von den experimentellen Männchen alleine bewohnt.

Die einzelnen Tiere der Gruppen AA und BA wurden am *postnatalen* Tag  $71 \pm 2$  im Hauptkäfig mit einem aggressiven NMRI-Männchen zusammen gebracht und konnten nur durch das Wasserbecken in den sicheren Nebenkäfig entkommen, von wo aus sie noch vier weitere Male zurück zum NMRI-Männchen in den Hauptkäfig gesetzt wurden. Durch die im Gegensatz zur reinen *social defeat*-Erfahrung der Adoleszenz nun gegebene Fluchtmöglichkeit über das Wasserbecken, konnte die Maus auf diesem Weg der sozialen Niederlage entgehen (*escapable social defeat*). Die einzelnen Tiere

der Gruppen AB und BB hingegen wurden jeweils mit einem begattungsbereiten Weibchen in den Hauptkäfig gesetzt und durften dort bis auf weiteres viermaliges, kurzes Herausnehmen bei dem Weibchen verbleiben. Die Fluchtmöglichkeit wurde von ihnen nicht genutzt.

Verhaltenstests. Die von Frau Bodden und Mitarbeitern (Bodden, Richter et al. 2015) durchgeführten Verhaltenstests *Elevated plus maze test*, *Dark-light test* und *Open field test*, um ängstliches gegen neugieriges Verhalten zu messen, werden hier kurz zusammengefasst. Jede Maus wurde pro Tag nur einem Test unterzogen, wobei abgestuft mit dem Test der geringsten Stresseinwirkung auf die Mäuse begonnen wurde (van Gaalen and Steckler 2000, McIlwain, Merriweather et al. 2001). Die Tests wurden videoaufgezeichnet (Logitech Webcam Pro 9000) und mithilfe von ANY-maze (Version 4.75, Stoelting Co., Wood Dale, USA) ausgewertet.

Am *postnatalen* Tag  $75 \pm 2$  fand der *Elevated plus maze test* (Pellow, Chopin et al. 1985, Lister 1987, Lister 1990) statt. Die Maus wurde hierfür in das quadratische Zentrum eines Kreuz-förmigen Feldes (Armlänge jeweils  $30 \times 5 \text{ cm}^2$ ) 50 cm über dem Boden mit Blick zu einem bewandeten (geschlossenen) Arm gesetzt. Zwei der sich jeweils gegenüberliegenden Arme besaßen an den Rändern 20 cm hohe Wände (geschlossener Arm), die anderen beiden nur eine 4 mm hohe Abgrenzung (offener Arm), damit kein Versuchstier herunterfallen konnte. Nun wurde über fünf Minuten hinweg gemessen, wie viel Zeit in Prozent die Maus auf den offenen Armen verbracht hat, wie oft sie diese betreten hat (Maß für ängstliches Verhalten) und wie oft sie insgesamt die geschlossenen plus offenen Arme betrat (Maß für neugieriges Verhalten).

Am *postnatalen* Tag  $76 \pm 2$  führte man den *Dark-light test* (Crawley and Goodwin 1980) durch. Hierfür wurde ein Makrolon Käfig Typ III in zwei Anteile ( $17 \times 27 \times 16 \text{ cm}^3$  und  $28 \times 27 \times 16 \text{ cm}^3$ ) getrennt, mit einer anfangs geschlossenen Schiebetür als einziger Verbindung. Der kleinere Anteil wurde schwarz angestrichen und mit einem lichtundurchlässigen Deckel versehen. Der größere Teil hatte transparente Wände ohne Deckel und wurde von oben mit 570 Lux beleuchtet. Die Maus wurde für eine Minute in den dunklen Anteil gesetzt, bevor die Schiebetür geöffnet wurde und sie weitere fünf Minuten alle Anteile des Käfigs frei betreten konnte. Die *Latenz* bis zum Eintreten ins helle Kompartiment sowie die dort verbrachte Zeit (Maß für ängstliches Verhalten) und außerdem wie oft sie das helle Kompartiment insgesamt betrat (Maß für neugieriges Verhalten) wurden gemessen.

Zuletzt wurde der *Open field test* (Archer 1973, Treit and Fundytus 1988) am *postnatalen* Tag  $77 \pm 2$  durchgeführt. Ein weißes, quadratisches, bewandetes Feld ( $80 \times 80 \times 42 \text{ cm}^3$ ), beleuchtet mit 600 Lux, konnte von der Maus über fünf Minuten lang frei betreten werden, nachdem man den übergestülpten Zylinder, durch den sie zuvor in einer Ecke gehalten wurde, nach einer Minute aus dem Feld entfernt hatte. Die Entfernung, die die Maus zurücklegte (Maß für lokomotorische Aktivität), sowie die Zeit, die sie im Zentrum verbrachte (Maß für ängstliches Verhalten), wurden erhoben.

Wiegen der Mäuse und Messen der Kortikosteronmetaboliten. Das Wiegen und Messen der Kortikosteronmetaboliten geschah im Rahmen einer anderen Arbeit und wird hier nur kurz dargestellt (Bodden, Richter et al. 2015). Die Mäuse wurden am *postnatalen* Tag 22,  $70 \pm 2$  sowie  $77 \pm 2$  gewogen. Am *Postnataltag*  $75 \pm 2$  wurde zwischen 16 bis 20 Uhr *Fäzes* der Mäuse gesammelt, um nicht-invasiv per  $5\alpha$ -Pregnan- $3\beta,11\beta,21$ -Triol- $20\text{-on-Enzym-Immunoassay}$  die Kortikosteronmetaboliten-Konzentration der Mäuse zu messen (Touma, Sachser et al. 2003, Touma, Palme et al. 2004, Lepschy, Touma et al. 2010). Als Referenz-Konzentration für Veränderungen der Kortikosteronmetaboliten nach sozialer Kontakterfahrung mit einem NMRI-Männchen beziehungsweise einem Weibchen dienten bereits am *postnatalen* Tag  $68 \pm 2$  gesammelte *Fäzes*.

## 2.2 Golgi-Imprägnation

Die Golgi-Imprägnation von ganzen Mäusegehirnen erfolgte etwas modifiziert nach der von Glaser und Van der Loos bereits 1981 beschriebenen Methode (Glaser and Van der Loos 1981). Mit dieser Methode wird eine lichtmikroskopisch dunkel erscheinende Schicht in Zellen des Gehirns eingebracht, sodass ein Kontrast zum umgebenden Medium entsteht, der die Betrachtung dieser Zellen ermöglicht.

Herstellung der Golgi-Cox-Lösung. Die Golgi-Cox-Lösung setzt sich aus drei vorbereiteten Stammlösungen, bezeichnet als  $A_L$ ,  $B_L$  und  $C_L$ , beschrieben in Tabelle 2.2.1, zusammen. Sie wurde fünf Tage vor Gebrauch vorbereitet. Lösung  $A_L$  wird zubereitet aus einer 5 % Kaliumdichromat-Lösung ( $K_2Cr_2O_7$ , Merck, Darmstadt, Deutschland) in destilliertem Wasser. Bei Lösung  $B_L$  handelt es sich um eine 5 % Quecksilberchlorid-Lösung (Sublimat,  $HgCl_2$ , Roth, Karlsruhe, Deutschland) in destilliertem Wasser.  $C_L$  ist eine 5 % Kaliummonochromat-Lösung ( $K_2CrO_4$ , J. T. Baker, Griesheim, Deutschland) in destilliertem Wasser. Nun wurden fünf Volumenteile von  $A_L$  mit fünf Volumenteilen von  $B_L$  gemischt. Danach wurden vier Teile von  $C_L$  mit zehn

Teilen destilliertem Wasser gemischt. Dieser Prozess wird in Tabelle 2.2.2 dargestellt.  $A_L B_L$  wurde dann langsam der verdünnten  $C_L$ -Lösung zugeführt. Dies geschah unter Rühren mit einem Glasspatel. Zur Aufbewahrung der Golgi-Cox-Lösung wurde eine mit Glasstopfen verschließbare Braunglasflasche verwendet, da in einer solchen die Lösung länger haltbar ist. Nach *circa* fünf Tagen bildete sich ein dunkelrötliches Präzipitat teils oberflächennah, teils am Gefäßboden. Nur Anteile der Flüssigkeit ohne Präzipitatbeimengung wurden mit einer Plastikspritze in kleinere Gefäße, für jeweils ein Gehirn, verbracht und im Weiteren verwendet.

Tabelle 2.2.1 *Stammlösungen  $A_L$ ,  $B_L$ ,  $C_L$  für Golgi-Cox-Imprägnation*  
A. dest. = Destilliertes Wasser.

Lösung	Zusammensetzung	Bemerkung
$A_L$ : 5 % $K_2Cr_2O_7$	10 g Kaliumdichromat + 200 ml A. dest.	mit Glasspatel gerührt, unter Abzug, unter Lichtausschluss, > 10 °C
$B_L$ : 5 % Sublimat, $HgCl_2$	10 g Quecksilberchlorid + 200 ml A. dest.	mit Glasspatel auf Heizplatte gerührt bis Auflösung, unter Abzug, unter Lichtausschluss
$C_L$ : 5 % $K_2CrO_4$	8 g Kaliummonochromat + 160 ml A. dest.	mit Glasspatel gerührt, unter Abzug, unter Lichtausschluss, > 10 °C

Tabelle 2.2.2 *Volumenanteile der Stammlösungen  $A_L$ ,  $B_L$ ,  $C_L$  in der Golgi-Cox-Imprägnationslösung*  
A. dest. = destilliertes Wasser; Vol. = Volumenteil(e).

Lösung	Zusammensetzung	Bemerkung
$A_L B_L$	5 Vol. $A_L$ + 5 Vol. $B_L$	unter Lichtausschluss, > 10 °C
$C_L$ (verdünnt)	4 Vol. $C_L$ + 10 Vol. A. dest.	unter Lichtausschluss, > 10 °C

Durchführung der Golgi-Cox-Imprägnation. Nach der Entnahme der Gehirne im Ganzen wurden diese sofort in eine Mullbinde gewickelt und jeweils einzeln pro Behältnis vollständig in Golgi-Lösung versenkt. Die Lösung wurde alle 48 Stunden ausgetauscht. Es musste außerdem zu jeder Zeit darauf geachtet werden, dass die

modifizierte Golgi-Cox-Lösung lichtgeschützt ist und weder in Kontakt mit Metall kommt, noch Temperaturen unter 10 °C ausgesetzt ist. Unterhalb dieser Temperaturgrenze wird der Färbeprozess gestoppt. Bei 20 – 22 °C herrschen optimale Bedingungen. Das Gewebe verblieb insgesamt 30 Tage (abhängig von Größe des Gehirns und Alter der Maus  $\pm$  2 Tage) in beschriebener Lösung. Daraufhin wurde es drei Mal, über eine Dauer von insgesamt zehn Minuten, mit destilliertem Wasser gewaschen und anschließend in einer Serie von Ethanollösungen steigender Konzentration bei 4 °C unter Lichtausschluss entwässert. Die Prozedur ist in Tabelle 2.2.3 dargestellt. Bei dieser Temperatur wird die Färbereaktion gestoppt. Es wurde begonnen mit 50 % Ethanol über 1,5 Stunden und fortgefahren mit 70 % über 5 Stunden, 96 % über 4 Stunden, 96 % über Nacht, 100 % für 2 Stunden sowie zuletzt 100 % über 2 bis 2,5 Stunden. Nun wurden die Gehirne für 4 Stunden in eine 1 : 2 - Ether : Ethanol - Mixtur verbracht, danach für die Celloidineinbettung einen Tag lang in 2 % Celloidin, 3 Tage in 4 % Celloidin und 4 Tage in 8 % Celloidin, wie in Tabelle 2.2.4 dargestellt. Schließlich wurde das Hirnmaterial in einem *Exsikkator* getrocknet, mit einem Schlittenmikrotom (Reichert-Jung HN 40) *koronal* in Sektionen von 150 Mikrometer Dicke geschnitten und unter Benutzung von Vitro-Clud (R. Langenbrinck, Emmendingen, Deutschland) als Eindeckmittel auf gläsernen Objektträgern (R. Langenbrinck, Emmendingen, Deutschland) platziert. Alle Arbeitsschritte, außer Dissektion und Überführen der Gehirne in die Golgi-Lösung, fanden am Universitätsklinikum Würzburg in der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie im Labor für funktionelle Neuroanatomie unter der Leitung von Privatdozentin Frau Dr. rer. nat. Angelika G. Schmitt-Böhrer statt. Die ausführende Mitarbeiterin war Frau Marion Winnig, medizinisch-technische Laboratoriumsassistentin. Die *Dissektion* und das Überführen der Gehirne in die Golgi-Lösung wurden im Institut für Neuro- und Verhaltensbiologie der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster durchgeführt.

Tabelle 2.2.3 *Ethanolreihe zur Entwässerung*  
h = Stunde(n).

<b>Lösung</b>	<b>Dauer</b>	<b>Bemerkung</b>
50 % Ethanol	1,5 h	unter Lichtausschluss, bei 4 °C
70 % Ethanol	5 h	unter Lichtausschluss, bei 4 °C
96 % Ethanol	4 h	unter Lichtausschluss, bei 4 °C
96 % Ethanol	über Nacht	unter Lichtausschluss, bei 4 °C
100 % Ethanol	2 h	unter Lichtausschluss, bei 4 °C
100 % Ethanol	2 – 2,5 h	unter Lichtausschluss, bei 4 °C

Tabelle 2.2.4 *Celloidineinbettung*  
d = Tag(e).

<b>Lösung</b>	<b>Dauer</b>
2 % Celloidin	1 d
4 % Celloidin	3 d
8 % Celloidin	4 d

### **2.3 Mikroskopie und Rekonstruktion der Neurone**

Hard- und Software. Für die Rekonstruktionen der mittels Golgi-Cox-Methode imprägnierten Neurone verwendete ich das Neurolucida-System der Firma *MicroBrightField* (= MBF) Bioscience. Dazu gehörten ein Olympus-Mikroskop (BX 51), ein in drei Achsen per Computer steuerbarer, motorisierter Objektträgtisch (MS-86; MBF Bioscience) sowie eine Kamera (CX 9000; MBF Bioscience). Die Kamera wurde zur Bildübertragung auf den Computerbildschirm genutzt. Die Neurolucida-Software (11.01.2; 32-bit; Image Library Version 5.65; MBF Bioscience) wurde benutzt.

Einstellungen. Die Bildschirmdarstellung des Objektträgers in Echtzeit erhielt man über den Modus „Live Image“. Außerdem wurde während des Rekonstruierens mit „AutoMove“ gearbeitet, um kontinuierlich nachzeichnen zu können, auch wenn die nachzuverfolgende Struktur sich über Bildschirmgröße hinaus erstreckte.

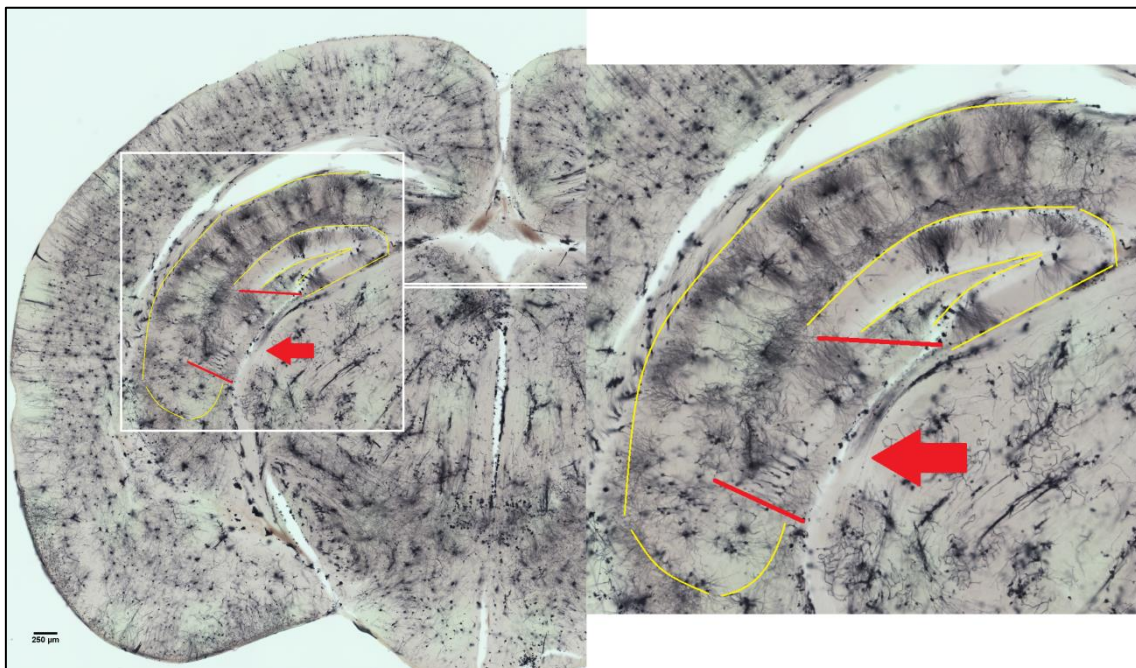
Qualitätskriterien der Zellauswahl. Um zur Rekonstruktion mittels Neurolucida ausgewählt zu werden, mussten die Pyramidenzellen gewisse Qualitätskriterien erfüllen. In Anlehnung an vorausgegangene Arbeiten (Magarinos, Li et al. 2011, Nietzer, Bonn et al. 2011, Pawluski, Valenca et al. 2012) mussten sie einen gut gefärbten, möglichst vollständigen Apikaldendriten sowie ein ebensolches *Soma* besitzen. Das Neuron sollte außerdem möglichst frei von Interferenzen mit gefärbten, benachbarten Zellanteilen sein. Weiterhin sollte es sich bestenfalls nicht in Regionen mit stellenweiser oder ausgedehnter starker Färbung der unmittelbaren Zellumgebung (im Sinne von Präzipitaten) befinden. Die Vollständigkeit der Apikaldendriten war in der *koronalen* Schnittebene leider selten gegeben (Xiong, Metheny et al. 2017).

Morphologische Kriterien für Dornenfortsätze. Es war das Ziel, alle an den rekonstruierten Apikaldendriten befindlichen Dornenfortsätze zu markieren. Eine Markierung als Dornenfortsatz erfolgte, wenn eine Ausstülpung am Dendritenbaum über das Niveau der normalen Unregelmäßigkeiten der Oberflächenstruktur des Apikaldendriten hinausgehend sichtbar war. Auch mutmaßliche Dornenfortsätze, deren Hals nicht klar sichtbar war, die aber einen eindeutigen, charakteristisch geformten Kopf besaßen, der sich in vergleichbarer Entfernung zur Oberfläche des Apikaldendriten fand, wie die übrigen Dornenfortsätze dieses Apikaldendriten, wurden markiert. Dies geschah jedoch erst, nachdem ebenfalls kritisch die Möglichkeit geprüft und mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen wurde, dass es sich um Präzipitate oder Zellanteile beschädigter anderer Zellen des untersuchten Gewebeschnittes handeln könnte. Es wurde nicht zwischen den verschiedenen Klassen der Dornenfortsätze unterschieden, sondern alle mit derselben Markierung „thin spine“ versehen (Holtmaat and Svoboda 2009).

Auswahlbereich innerhalb der Hippocampus-Region CA3. Die von Lorente de Nó erstbeschriebene *Hippocampus*-Region *Cornu Ammonis 3* (= CA3) (Lorente de Nó 1934) suchte ich mithilfe von *The Mouse Brain In Stereotaxic Coordinates* (Franklin and Paxinos 2013) auf. Ich definierte einen begrenzten Bereich, innerhalb dessen ich die Pyramidenzellen zur morphologischen Auswertung aufsuchte. Von der Auswertung ausgeschlossen wurden Zellen, deren *Soma medial* einer gedachten Verbindungslinie zwischen den *ventralen* und *dorsalen* Schenkelenden des *Gyrus dentatus* oder im



kaudalwärts beginnenden gekrümmten Anteil der CA3-Region lag (siehe Grafik 2.3). Der verbleibende Bereich enthält morphologisch typische, gut abgrenzbare Pyramidenzellen (Magarinos, Li et al. 2011). Er entspricht anfangs am ehesten dem als Subregion CA3b definierten Areal (Ropireddy, Scorcioni et al. 2011, Ropireddy, Bachus et al. 2012, Palomero-Gallagher, Kedo et al. 2020). In dieser Subregion ist die Dendritendichte vergleichsweise geringer als in CA3a (Ropireddy, Bachus et al. 2012), sodass sich die Wahrscheinlichkeit für störende Interferenzen mit anderen Dendriten verringert. Außerdem wird die Analyse von nicht charakteristischen Pyramidenzellen vermieden, die sich gehäuft zwischen den Schenkeln des *Gyrus dentatus* finden (Magarinos, Li et al. 2011). Je weiter *posterior* im Hirngewebe man sich jedoch befindet, desto weiter dehnt sich CA3 nach *ventral* aus, bis sich im Verlauf keine Kurve mehr findet, sondern die Region relativ linear in einen weiteren Abschnitt des *Gyrus dentatus* direkt am *ventralen* Hirnpol mündet (Franklin and Paxinos 2013). Dieses Areal wird von mir als *posteroventraler* Anteil von CA3 (= CA3pv) bezeichnet (O'Leary and Cryan 2014) und wurde ebenfalls in die Analysen einbezogen. Die *Hippocampi* beider Hemisphären wurden betrachtet.



Grafik 2.3 *Auswahlbereich innerhalb der Hippocampus-Region Cornu ammonis 3 (CA3)*  
Auswahlbereich: Zwischen roten Indikatoren mit Pfeil gekennzeichnet; gelbe Markierung: Deutet die Umrise von *Gyrus dentatus* und weiteren Anteilen des *Cornu ammonis* an.

## 2.4 Vorstudie zur Zellauswahl

Vor Beginn der eigentlichen quantitativen morphologischen Untersuchung einzelner Neurone der Golgi-Cox-imprägnierten Gehirne der *Life history*-Studie, waren einige Fragen zu beantworten:

- 1) Finden sich anterior oder posterior in der *Hippocampus*-Region CA3 besser rekonstruierbare Neurone?
- 2) Genügt es, die Apikaldendriten zu analysieren oder liefern die Basaldendriten zusätzlich relevante Ergebnisse?
- 3) Welche Arten von Neuronen finden sich in der *Hippocampus*-Region CA3 und sind relevant für diese Studie?
- 4) Wie ist die sehr frühe Verzweigung eines einzelnen Apikaldendriten von mehreren unabhängig voneinander entspringenden Apikaldendriten zu unterscheiden?

Zur Klärung der ersten Frage, ob sich Neurone im *anterioren* oder *posterioren* Teil des *Hippocampus* morphologisch besser darstellen und für die Rekonstruktion eignen, wurden Daten zahlreicher Neurone aus der CA3-Region des *Hippocampus* von drei zufällig ausgewählten Gehirnen gesammelt. Hierbei wurde der *Hippocampus* in *koronalen* Golgi-Schnitten mit zwischen beiden Hemisphären durchgehend verlaufendem *Corpus callosum* als *anterior* definiert, während der *Hippocampus* in Golgi-Präparaten mit einem nicht mehr durchgehenden *Corpus callosum* dem *posterioren Hippocampus* zugeordnet wurde (Karabeg, Grauthoff et al. 2013). Diese Unterbrechung des *Corpus callosum* erfolgt ungefähr ab dem Bregma-Level -2,53 mm (Franklin and Paxinos 2013). Dabei wurden die Zellen, die als auswertbar eingestuft wurden, in ansteigende Qualitätsklassen unterteilt (siehe Tabelle 2.4.1). Von der Auswertung ausgeschlossen wurden Zellen, die nicht mehr im vordefinierten CA3-Auswertungs-Bereich liegen (Magarinos, Li et al. 2011), Neurone, deren Apikaldendrit stark beschädigt war oder fehlte und von Präzipitaten verdeckte Zellen und Neurone, die im Schnitt direkt übereinander lagen (wohingegen solche, die nur nahe beieinander lagen, in diese Auswertung miteinbezogen wurden). In allen drei Gehirnen fand sich jeweils *anterior* ein Neuron sowie in einem Gehirn zusätzlich auch *posterior*, das morphologisch nicht sicher als Pyramidenzelle zu identifizieren war. Sie wurden trotzdem in die Auswertung aufgenommen. Im *anterioren Hippocampus* fanden sich insgesamt deutlich weniger auswertbare Neurone, deren Qualitätsniveau außerdem in allen Stufen stark unter dem der Neurone im *posterioren Hippocampus* angesetzt werden musste. Die Dendritenbäume der im *anterioren Hippocampus* lokalisierten Pyramidenzellen waren weit weniger ausgeprägt und erstreckten sich nicht so flächig in der Schnittebene wie in dessen *posteriorem* Teil. Diese Schräglage im Schnitt führte

zum Verlust vielzähliger Äste. Von Vorteil für das Auffinden von Neuronen war im *posterioren Hippocampus* außerdem, dass die CA3-Region sich dort fortschreitend nach *kaudal* auszudehnen beginnt sowie eine Verbreiterung der Zellschichten aufweist. Man fand dort also dementsprechend mehr Fläche und damit potentiell mehr Neurone zur Beurteilung (Franklin and Paxinos 2013). Diese von mir beobachtete große morphologische Variabilität der CA3-Region hinsichtlich Breite der Zellschichten und damit auch Ausdehnung der Dendritenbäume wurde schon in anderen Arbeiten beschrieben (Fitch, Juraska et al. 1989, Juraska, Fitch et al. 1989).

Tabelle 2.4.1 *Qualitätsunterschiede der anterioren gegenüber posterioren Hippocampus-Cornu ammonis 3 (CA3)-Neurone*  
 AD = Apikaldendrit; *anterior* = *anteriorer Hippocampus* CA3; BD = Basaldendriten;  
 Maus-Nr. = Maus-Nummer; *posterior* = *posteriore Hippocampus* CA3.

Maus-Nr.	Qualität	Anterior	Posterior
<b>6957</b>		Schnitte 29-37	Schnitte 38-43
	AD & BD unvollständig	1	0
	AD unvollständig	1	2
	BD unvollständig bis fehlend	8	6
	AD & BD in akzeptabler Vollständigkeit	8	22
	gesamt	18	30
<b>6608</b>		Schnitte 31-39	Schnitte 40-51
	AD & BD unvollständig	4	1
	AD unvollständig	3	1
	BD unvollständig bis fehlend	5	11
	AD & BD in akzeptabler Vollständigkeit	1	18
	gesamt	13	31
<b>7188</b>		Schnitte 32-40	Schnitte 41-45
	AD & BD unvollständig	1	4
	AD unvollständig	1	4
	BD unvollständig bis fehlend	5	9
	AD & BD in akzeptabler Vollständigkeit	7	30
	gesamt	14	47

Die Literaturrecherche zur Beantwortung der zweiten Frage ergab, dass der Einfluss von Stress auf Apikal- und Basaldendriten in CA3 sehr unterschiedlich zu sein scheint. Es wurden Abweichungen bei den verschiedenen Geschlechtern beobachtet. Bei gestressten Weibchen sind die Ergebnisse im Gegensatz zu den Männchen inkonsistent. Untersuchungen zeigten bei Männchen unter dem Einfluss von Stress oder Kortikosteronen eine *Atrophie* der Apikaldendriten, jedoch zumeist keine relevante Veränderung der Basaldendriten. Die Apikaldendriten wiesen eine im Vergleich verminderte Zahl an Verzweigungspunkten und/oder Dendritenlänge auf (Woolley, Gould et al. 1990, Watanabe, Gould et al. 1992, Watanabe, Gould et al. 1992b, Magarinos and McEwen 1995, Magarinos and McEwen 1995a, Galea, McEwen et al. 1997, Lambert, Buckelew et al. 1998, Sousa, Lukoyanov et al. 2000, Christian, Miracle et al. 2011, Ortiz, McLaughlin et al. 2013). Bei den Weibchen ergaben sich hingegen einerseits Veränderungen des basalen Dendritenbaumes betreffend die Verzweigungspunkte (Galea, McEwen et al. 1997) oder aber andererseits entsprachen die Veränderungen denen der Männchen und zeigten sich an den Apikaldendriten (Pawluski, Valenca et al. 2012, Ortiz, McLaughlin et al. 2013). Es wurden in allen Arbeiten Ratten verwendet, außer bei Christian *et al.* (Christian, Miracle et al. 2011), der sich mit Mäusen beschäftigte.

Zur Klärung der dritten Frage zu möglichen CA3-Pyramidenzellsubtypen durchgeführte Rekonstruktionen sowie Literaturrecherche ergaben, dass die typischen dort vorkommenden Neurone einen Apikaldendriten haben, aber auch Untergruppen mit mehreren Apikaldendriten existieren. Bei Letzteren kann man nicht sicher unterscheiden, um welche Art von apikalem Ast es sich jeweils handelt. Es ist demnach nicht klar, ob diese Äste als Apikaldendriten zu bezeichnen wären (Fitch, Juraska et al. 1989). Diese Subtypen wurden daraufhin von der Analyse ausgeschlossen. Ausgewertet wurden nur Einzelschaft-Pyramidenzellen, welche in zwei Erscheinungsbildern auftreten, als Langschaft- und als Kurzschaft-Neurone (Fitch, Juraska et al. 1989). Die Entscheidung, ob es sich im histologischen Schnitt um ein Kurz- oder Langschaft-Neuron handelt, wurde grundlegend nach Messung getroffen. War der Abstand zwischen Ursprung und erster Abzweigung des Apikaldendriten in der Rekonstruktion  $\leq 30 \mu\text{m}$ , galt das Neuron für mich als Kurzschaft-Pyramidenzelle; in anderen Arbeiten wurden nur Neurone  $< 30 \mu\text{m}$  zwischen Zell-Soma und erster Abzweigung als Kurzschaft-Neuron angesehen (Fitch, Juraska et al. 1989, Juraska, Fitch et al. 1989, Lambert, Buckelew et al. 1998). Die Zelle musste zusätzlich die für Kurzschaft-Pyramidenzellen typischen Morphologie-Kriterien erfüllen (Fitch, Juraska et

al. 1989). In manchen Arbeiten werden sie in meist ungefähr gleicher Anzahl (meist 3 : 3) einbezogen (Watanabe, Gould et al. 1992b, Galea, McEwen et al. 1997, Lambert, Buckelew et al. 1998, Christian, Miracle et al. 2011, Ortiz, McLaughlin et al. 2013), obwohl sie im Verhältnis 2:1 (Langschaft : Kurzschaft) vorkommen (Fitch, Juraska et al. 1989). Zur Übersicht siehe Tabelle 2.4.2. Bei den Ergebnissen werden nur in sehr wenigen Arbeiten noch einmal explizit getrennte Angaben für beide gemacht (Lambert, Buckelew et al. 1998, Christian, Miracle et al. 2011). Stattdessen werden meist in bestimmter Gewichtung die Ergebnisse gemittelt und nur einzelne Besonderheiten im Getrennten erwähnt (Watanabe, Gould et al. 1992b, Galea, McEwen et al. 1997, Ortiz, McLaughlin et al. 2013). Es gibt auch Arbeiten, in denen von vornherein keine Unterscheidung zwischen Lang- und Kurzschaft-Pyramidenzellen zu finden ist (Woolley, Gould et al. 1990, Watanabe, Gould et al. 1992, Magarinos and McEwen 1995, Magarinos and McEwen 1995a, Sousa, Lukoyanov et al. 2000). Wurde explizit und durchgehend zwischen beiden Typen getrennt (siehe oben), war ein signifikanter Effekt von Stress nur auf die Kurzschaft-Pyramidenzellen zu verzeichnen. Deswegen wurde entschieden, ausschließlich Kurzschaft-Pyramidenzellen zu rekonstruieren und in die Auswertung einzubeziehen.

Tabelle 2.4.2 *Anzahl der ausgewerteten Cornu ammonis 3 (CA3)-Pyramidenzellen pro Versuchstier in verschiedenen Arbeiten*  
 \*zusätzliche Unterteilung in *ventralen* und *dorsalen Hippocampus*; LS = Langschaft-Neuron; SS = Kurzschaft-Neuron.

<b>Arbeit</b>	<b>CA3-Pyramidenzellzahl pro Versuchstier (SS:LS)</b>
Christian <i>et al.</i> , 2011 (Christian, Miracle et al. 2011)	4-6 : 4-6*
Lambert <i>et al.</i> , 1998 (Lambert, Buckelew et al. 1998)	3:3 (teils nur 2)
Galea <i>et al.</i> , 1997 (Galea, McEwen et al. 1997)	3:3
Ortiz <i>et al.</i> , 2013 (Ortiz, McLaughlin et al. 2013)	mind. 3:2 oder 2:3
Watanabe <i>et al.</i> , 1992 (Watanabe, Gould et al. 1992b)	3:3

Die zur Klärung der vierten Frage durchgeführten Rekonstruktionen ergaben, dass zum Teil anhand rein morphologischer Gesichtspunkte nicht zu erkennen ist, ob es sich um einen einzeln vom Zell-Soma abgehenden Apikaldendriten handelt, der sich sehr früh verzweigt oder ob ein Neuron der von der Auswertung ausgeschlossenen atypischen Untergruppe von Pyramidenzellen mit mehreren apikal entspringenden Ästen vorliegt (siehe oben). Nur wenn die Verzweigung in genügendem Abstand zum Soma stattfindet, kann sie morphologisch sicher als solche identifiziert werden. Deswegen wurde kein Neuron in die Analyse einbezogen, dessen Abstand zur ersten Verzweigung des Apikaldendriten  $< 3 \mu\text{m}$  war.

Zusammengefasst erlaubten die Auswahlkriterien also nur die Analyse der Apikaldendriten von Einzel-Kurzschaf-Pyramidenzellen, deren Abstand in der Rekonstruktion von Beginn des Apikaldendriten bis zur ersten Aufzweigung zwischen  $3 \mu\text{m}$  bis einschließlich  $30 \mu\text{m}$  betrug und die innerhalb der eingegrenzten Regionen im *posterioren Hippocampus* (ab einschließlich Bregma  $-2,53 \text{ mm}$ ) lagen, welche anfangs am ehesten der CA3b- bzw. weiter *posterior* am ehesten der CA3pv-Region entsprachen.

## **2.5 Durchführung der Rekonstruktion von Neuronen**

Zuerst wurde die *posteriore* CA3-Region des *Hippocampus* mit dem 4x-Objektiv mithilfe von *The Mouse Brain In Stereotaxic Coordinates* (Franklin and Paxinos 2013) aufgesucht. Dann wurde zum 10x-Objektiv gewechselt. Bei jedem Objektivwechsel musste darauf geachtet werden, dass die benutzte Vergrößerung entsprechend korrekt im Neurolucida-Programm ausgewählt war. Alle in einem Schnittpräparat enthaltenen Pyramidenzellen, die den oben genannten Kriterien (siehe Kapitel 2.3 und 2.4) entsprachen, wurden durchgemustert und eine vorläufige Qualitätsbeurteilung protokolliert. So wurden erst alle Schnittpräparate mit enthaltenem (nach obigen Kriterien relevantem) Anschnitt der CA3-Region durchgesehen und eine Liste für eine Rekonstruktion möglicher Neurone erstellt. Fanden sich mehrere mögliche Neurone im selben Schnitt in derselben Hemisphäre, erhielten sie zur eindeutigen Identifikation eine aufsteigende Nummer entsprechend ihrer Abfolge im Schnitt von *dorsal* nach *ventral* (Neuronenfolge-Nummer). Die schließlich insgesamt am besten bewerteten Zellen wurden in absteigender Qualität (Neuron-Ranglisten-Nummer) nummeriert und in dieser Reihenfolge rekonstruiert. Dazu wurde der Referenzpunkt mittig in das Zell-

*Soma* gesetzt und auf das 100x-Objektiv am Mikroskop sowie zur 100x-Vergrößerung im Programm gewechselt. Das verwendete 100x-Objektiv kann nur mit Immersionsöl benutzt werden. Dann wurde das Objektiv über die Funktion „*Move*“ und „*To Reference Point*“ zur ausgewählten Zelle bewegt. Der Referenzpunkt wurde in 100-facher Vergrößerung erneut mittig in das Zell-*Soma* gesetzt und zwar auf der Höhe, an der man möglichst viel vom Abgang des Apikaldendriten scharf sah. Dies erschien für mich besser reproduzierbar, als die Ebene zu suchen, in der die größte Fläche des Zellkörpers lag, was teils nicht ganz eindeutig zu identifizieren war. Nun wurde das *Soma* einmal ganz durchfokussiert, um festzustellen, ob dies ohne ein Anstoßen des Objektivs möglich war. War das der Fall, dann wurde mit der Rekonstruktion begonnen. „*Cell Body*“ war im Programm vorausgewählt und so wurde direkt mit dem Nachzeichnen des *Soma*-Umrisses begonnen. Falls der Umriss in seiner geschätzt breitesten Ausdehnung am Abgang des Apikaldendriten nicht ganz sichtbar war, konnte der Fokus verändert werden, um den Rest zu ergänzen. Über einen Rechtsklick wurden mit „*Finish Cell Body*“ die Enden der Kontur verbunden und die Rekonstruktion des Zellsoma abgeschlossen. Danach konnte man über die Auswahl „*Apical Dendrite*“ mit dem Nachzeichnen des Apikaldendriten fortfahren, der dafür zu jeder Zeit scharf fokussiert sein musste. Um kontinuierlich nachzeichnen zu können, wurde mit aktivierter Funktion „*AutoMove*“ gearbeitet. So sind auch Strukturen, die sich über mehr als Bildschirmgröße erstrecken, durch automatische, konjugierte Weiterbewegung des Objektträgers beim Fortführen des Nachzeichnens verfolgbar. Bei einer Verzweigung konnte über einen Rechtsklick, je nach Anzahl der abgehenden Äste, „*Bifurcating Node*“ oder „*Trifurcating Node*“ ausgewählt werden. Es wurde erst der eine Ast bis zu seinem Ende verfolgt und dort über Rechtsklick und Auswahl von „*Ending*“ beendet, dann sprang das Programm wieder an die Stelle der ursprünglichen Verzweigung und der andere Ast konnte weiter rekonstruiert werden. War das Modell des Apikaldendritenbaumes erstellt, so konnte man über die Tastenkombination „*Move*“ und „*To Reference Point*“ bei weiterhin sichtbarem Modell zum Referenzpunkt zurückkehren und, vom Anfang des Apikaldendriten aus entlang seiner Äste, die Dornenfortsätze mit der Auswahl „*Thin Class*“ in der „*Spines*“-Toolbar markieren. Danach wurde unter „*File*“ und „*Save Data File As*“ die Rekonstruktion als .DAT-Datei gespeichert. Der Dateiname setzte sich aus *Maus-Nummer\_Neuron-Ranglisten-Nummer\_Schnittpräparat-Nummer\_HC (Hippocampus)\_r / l (rechts / links)\_p (posterior)\_Neuronenfolge-Nummer* zusammen. Sollte sich eine Zelle während des Rekonstruierens wider Erwarten als nicht den Qualitätskriterien genügend

herausstellen, wurde die Rekonstruktion abgebrochen und stattdessen die in der Liste nächst-rangige ausgewählt. Dies erfolgte so lange, bis in jedem Gehirn mindestens zwei bis fünf Zellen rekonstruiert waren.

Erfasste Variablen. Gemessen wurden die Anzahl der Verzweigungspunkte (*Nodes*), die Anzahl der Endpunkte, die Anzahl der Dornenfortsätze (*Spines*) und die Länge des Apikaldendriten. Bei Sholl-Analysen (siehe Kapitel 2.7) wurden zusätzlich die Schnittstellen von Dendritenästen mit der jeweiligen äußeren Abschnittsbegrenzungssphäre des Radius (*Intersections*) gemessen. Mittels Microsoft Excel wurden anschließend die Dichte der Dornenfortsätze (*Spine-Dichte*; Gesamtzahl der Dornenfortsätze pro Gesamtlänge des Apikaldendriten bzw. Anzahl der Dornenfortsätze innerhalb eines Radius pro Apikaldendritenlänge innerhalb desselben Radius) sowie nur für die Gesamtwerttabellen die Verzweigungspunkt-Dichte pro 100 µm Apikaldendritenlänge (*Node-Dichte*) errechnet.

## **2.6 Qualitätsbewertung und Zuordnung der Neurone zu Subpopulationen**

Während der Rekonstruktionen wurde die große Variabilität der CA3-Region hinsichtlich ihrer Pyramidenzellen deutlich. Ich versuchte also, die Pyramidenzellen mithilfe von Subgruppierungen sinnvoll in Gruppen mit ähnlichen Eigenschaften aufzuspalten. Dadurch hoffte ich, bei späteren statistischen Analysen Unterschiede deutlicher herausarbeiten zu können.

Während der Rekonstruktionen wurde zu allen analysierten Pyramidenzellen eine Qualitätsbeurteilung notiert, die, im Anschluss an die Rekonstruktionen zwischen allen Neuronen vergleichend, zu einer Einordnung in drei Qualitätsklassen führte. Die Stufen „unvollständig“ über „relativ vollständig“ bis zu „vollständig“ wurden dabei unterschieden. Als „unvollständig“ wurden Zellen eingestuft, deren Apikaldendrit nur wenige physiologische Enden besaß, bei dem also viele Äste oder mindestens ein Hauptast früh abgebrochen oder anderweitig beschädigt und daher erschwert zu verfolgen waren und bei dem mäßig gut abgrenzbare Dornenfortsätze vorlagen. „Relativ vollständig“ waren Zellen, bei denen eine gewisse Anzahl an abgebrochenen Ästen toleriert wurde, da physiologische Enden trotzdem die Mehrheit ausmachten und deren Dornenfortsätze eher gut erkennbar waren. „Vollständige“ Zellen haben größtenteils bis immer physiologische Enden, waren während der Rekonstruktion gut zu verfolgen und hatten relativ deutlich ausgeprägte Dornenfortsätze.



Weiterhin bedingt die Form insbesondere des *posteroventralen* Anteils der Region CA3 eine große Spannweite der möglichen Längenausdehnung der Apikaldendriten. Das Areal verjüngt sich zu seinem *septalen* bzw. *temporalen* Pol hin teils stark, wohingegen den Pyramidenzellen median sehr viel Platz bleibt, sich auszudehnen. Es wurde von mir beobachtet, dass die Pyramidenzellen, die nicht polwärts liegen, dazu neigen, den zunehmenden Platz auch auszunutzen und dadurch von vornherein tendenziell länger zu werden scheinen. Dies wurde genauer untersucht, indem nach Beendigung der Rekonstruktionen alle rekonstruierten Zellen erneut im Gewebeschnitt aufgesucht und, ebenfalls vergleichend zueinander, einer von vier möglichen Subregionen CA3b oder CA3pv, mit der weiteren Aufteilung in *dorsal* (= CA3pvd), mittig (= CA3pvm) oder *ventral* (= CA3pvv), zugeordnet wurden. Eine Einteilung in Subregionen wurde ebenso in anderen Arbeiten verwendet (Turner, Li et al. 1995, Ropireddy, Scorcioni et al. 2011). CA3b wurde vorangehend schon definiert und geht zusammen mit CA3a, c entlang der *septo-temporalen* Achse des *Hippocampus*, meinen Beobachtungen nach, fließend in CA3pv über. Um aber eine genauere, rekonstruierbare Einteilung zu ermöglichen, legte ich eine Grenze zwischen beiden Bereichen fest. Sobald sich die hier vordefinierte Auswertungsregion lateral der Schenkelenden des *Gyrus dentatus* aber *medial* der CA3-Kurve (siehe Kapitel 2.3) *septotemporal* das erste Mal länger ausdehnt als der *dorsale* Schenkel des *Gyrus dentatus*, wurden die Neuronen von mir zum CA3pv-Bereich gezählt. Im weiteren Verlauf nach *posterior* wäre es denkbar, dass der *dorsale* Schenkel des *Gyrus dentatus* wieder länger erscheinen könnte, als die auszuwertende Region. Da aber das erste Übertreten über die Länge des *dorsalen Gyrus-dentatus*-Schenkels hinaus grenzfestlegend ist und nicht der weitere Verlauf, handelt es sich nach meiner Definition weiterhin um CA3pv. So werden Zellen, deren distaler Anteil des Apikaldendriten ganz oder teilweise vom *dorsalen* Schenkel des *Gyrus dentatus* überragt wird, CA3pvd zugeordnet. Zellen wiederum, die im sich *ventral*-polwärts verjüngenden Bereich von CA3pv liegen und, wie oben beschrieben, dadurch besonders „komprimiert“ (Turner, Li et al. 1995) wirken, werden CA3pvv zugeordnet. Weit *posterior* im *Hippocampus* beansprucht vor allem dieser Bereich einen großen Teil der gesamten *dorsoventralen* Ausdehnung der CA3-Region. CA3pvm wurden demzufolge Zellen zugeordnet, die sich ventral von CA3pvd aber dorsal von CA3pvv fanden, also zwischen beiden Subregionen.

Während der Rekonstruktionen wurde bereits deutlich, dass sich die Pyramidenzellen hinsichtlich der Menge ihres apikaldendritischen Materials deutlich voneinander unterscheiden. Dies nicht nur aufgrund verschiedener Qualität (wie beispielsweise

Abbrüche), sondern, wie am Vergleich „vollständiger“ Zellen erkennbar, tatsächlich aufgrund ihrer physiologischen Größe. Um diesem weiteren Faktor, der ebenfalls zur großen Variabilität der CA3-Region beiträgt, gerecht zu werden, wurden weitere Subgruppen anhand der Zellgröße eingeführt und in „groß“ und „klein“ unterschieden. Die Untersuchungen anhand der Gesamtlänge des Apikaldendriten durchzuführen, schien am sinnvollsten, da andere Variablen nur eingeschränkt Aussagen über die Größe zulassen. Verzweigungspunkte beispielsweise bedingen zwar in gewisser Weise eine Vermehrung von dendritischem Material durch Entstehung eines neuen Astes, aber da diese „*bifurcating*“ oder „*trifurcating*“ sein können, ist die Aussagekraft wiederum eingeschränkt. Damit wie oben genannt „klein“ nicht vorgetäuscht werden kann durch „unvollständig“, schloss ich die „unvollständigen“ Pyramidenzellen von dieser Untersuchung aus. Es erfolgten Berechnungen einmal für „Vollständige“ (siehe Tabelle 2.6.1) und zweitens zusammen für „Vollständige“ und „relativ Vollständige“ (siehe Tabelle 2.6.2). Bei Berechnung des Mittelwertes aus den jeweiligen Mittelwerten der Subregionen der „vollständigen“ Zellen erhält man den Wert  $2706 \pm 476 \mu\text{m}$ , was in etwa dem Median der Einzelwerte aller Subregionen gleichkommt. Dies erscheint günstig, da so die Subgruppen „klein“ und „groß“ ungefähr gleiche Gruppengröße aufweisen. Für „vollständige“ Zellen wurde also bestimmt, dass bei einem Wert  $< 2700 \mu\text{m}$  Gesamtlänge des Apikaldendriten die Zelle als „klein“ gilt und bei einem Wert  $\geq 2700 \mu\text{m}$  Gesamtlänge des Apikaldendriten als „groß“. Bei Berechnung des Mittelwertes aus den jeweiligen Mittelwerten der Subregionen der „vollständigen“ und „relativ vollständigen“ Zellen erhält man den Wert  $2608 \pm 492 \mu\text{m}$ , was erneut sehr nah am Median der Einzelwerte aller Subregionen liegt. Für Analysen mit „vollständigen“ und „relativ vollständigen“ Zellen zusammen wurden aus Vergleichsgründen Ergebnisse ebenfalls für Einteilungen nach dem Grenzwert  $2700 \mu\text{m}$  bestimmt und zusätzlich für den Grenzwert  $2600 \mu\text{m}$ .

Tabelle 2.6.1 *Größenanalyse von Pyramidenzellen der Qualitätsstufe „vollständig“ anhand der Gesamtlänge des Apikaldendriten in [ $\mu\text{m}$ ]*  
CA3 = Cornu ammonis 3; pvd = posteroventral-dorsal; pvm = posteroventral-mittig; pvv = posteroventral-ventral; SD = Standardabweichung.

<b>Subregion</b>	<b>Mittelwert <math>\pm</math> SD</b>	<b>Median</b>
CA3b (n = 12)	2791 $\pm$ 898	2866
CA3pvd (n = 32)	3027 $\pm$ 1100	2854
CA3pvm (n = 45)	2998 $\pm$ 1024	3026
CA3pvv (n = 15)	2010 $\pm$ 593	1879
alle (n = 104)	2840 $\pm$ 1034	2701

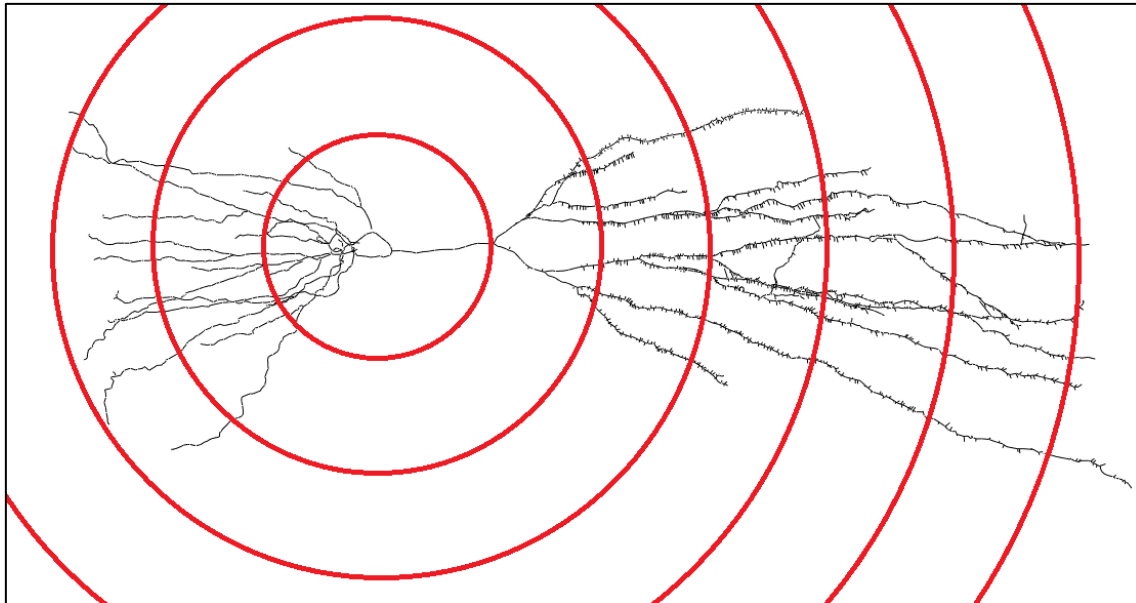
Tabelle 2.6.2 *Größenanalyse von Pyramidenzellen der Qualitätsstufen „vollständig“ und „relativ vollständig“ anhand der Gesamtlänge des Apikaldendriten in [ $\mu\text{m}$ ]*  
CA3 = Cornu ammonis 3; pvd = posteroventral-dorsal; pvm = posteroventral-mittig; pvv = posteroventral-ventral; SD = Standardabweichung.

<b>Subregion</b>	<b>Mittelwert <math>\pm</math> SD</b>	<b>Median</b>
CA3b (n = 17)	2588 $\pm$ 859	2636
CA3pvd (n = 37)	3015 $\pm$ 1067	2811
CA3pvm (n = 60)	2908 $\pm$ 956	2999
CA3pvv (n = 20)	1921 $\pm$ 614	1860
alle (n = 134)	2750 $\pm$ 997	2622

## 2.7 Datenanalyse, Statistik und Grafiken

Die Daten der mithilfe des Neurolucida-Systems rekonstruierten Neurone wurden über den Neurolucida-Explorer in Ergebnistabellen zusammengefasst und exportiert. Es wurde so vom Neurolucida-Explorer für jedes Neuron eine Tabelle mit den Gesamtwerten jeder gemessenen Variable sowie eine Tabelle mit den Ergebnissen der Sholl-Analyse (siehe unten) erstellt. Diese Ergebnistabellen wurden anschließend in

Tabellen im Programm Microsoft Excel überführt und mit diesem weiter bearbeitet. Es wurden zusätzlich nach der Entblindung des Untersuchers *Life history* und Genotyp in die Excel-Tabellen aufgenommen. Außerdem wurde eine Qualitätsbewertung der Neurone in drei Stufen und eine Zuordnung zu einer von vier Subregionen durchgeführt (siehe Kapitel 2.6). Die Daten der Vorstudie, um herauszufinden, welche Pyramidenzellen als klein und welche als groß zu bezeichnen sind, wurden ebenfalls in ein Microsoft-Excel-Tabellenblatt eingegeben und weiter berechnet (siehe Kapitel 2.6). Bei einer Sholl-Analyse (Sholl 1953) werden durch den Neurolucida-Explorer von der *Soma*-Mitte (entsprechend des zu Beginn des Rekonstruierens gesetzten Referenzpunktes) ausgehend, in um jeweils denselben Betrag ansteigenden Radien virtuelle Sphären über die Rekonstruktion des Neurons gelegt (siehe Grafik 2.7). Der Radius ist frei wählbar. Ich wählte, ausgehend von der *Soma*-Mitte als Sphärenmittelpunkt, als ersten Radius sowie als jeweilige Radiendifferenz 30  $\mu\text{m}$ , in Anlehnung an andere Arbeiten (McMullen, Saint-Cyr et al. 1984, Pyapali and Turner 1994, Drakew, Muller et al. 1996, Cohen, Kozlovsky et al. 2014). Auf diese Weise kann danach jeweils explizit das Dendritenmaterial zwischen der nächstkleineren und der nächstgrößeren Sphäre analysiert werden. So wird das Neuron in Abschnitte unterteilt, die anfangs eine kreisförmige Querschnittsfläche und nachfolgend einen ringförmigen Querschnitt haben und sich jeweils in Schritten von 30  $\mu\text{m}$  von der *Soma*-Mitte entfernen. Die Sholl-Analyse erstellt dann, getrennt für das in jedem Abschnitt befindliche Dendritenmaterial, eine Analyse der vorher genannten gemessenen Variablen. Dadurch sollen einerseits Veränderungen der Variablen genau lokalisiert werden, die ortsabhängig am Apikaldendriten auftreten. Außerdem soll vermieden werden, dass lokale Veränderungen am Apikaldendriten in Gesamtanalysen eventuell übersehen werden könnten. Die statistische Auswertung wurde von mir mit dem Programm SPSS 24/25 angefertigt. Dies geschah nach Besprechung mit den MitarbeiterInnen der statistischen Beratung des Instituts für Klinische Epidemiologie und Biometrie der Julius-Maximilians-Universität Würzburg. Es wurden SPSS-Tabellen mit Gesamtwerten der Variablen (siehe Kapitel 2.5) pro Neuron sowie Sholl-Analyse-Tabellen pro Neuron erstellt. Für die Auswertung der Gesamt-Einzelneuron-Tabellen sowie für die Sholl-Einzelneuron-Tabellen wurden verallgemeinerte Schätzungsgleichungen genutzt. Grafiken wurden mit dem Programm GraphPad-Prism 8, Microsoft Paint sowie Microsoft PowerPoint erstellt.



Grafik 2.7 *Zweidimensionales Schema der virtuellen Sphären für die Sholl-Analyse*  
 Abbildung nicht maßstabsgetreu; der Apikaldendrit befindet sich rechts im Bild; das Zellsoma findet sich annäherungsweise mittig im kleinsten Kreis; links im Bild mehrere Basaldendriten.

Untersucht wurden, wie oben beschrieben, nur die Apikaldendriten von Einzel-Kurzschicht-Pyramidenzellen der CA3-Region des *Hippocampus*. Die quantitativen Berechnungen wurden für ausgewählte (*Sub*-)*Populations* („alle Neurone, alle relativ vollständigen und vollständigen Neurone, alle vollständigen Neurone, relativ vollständige und vollständige Neurone ab einschließlich 2600  $\mu\text{m}$  beziehungsweise 2700  $\mu\text{m}$  Gesamtlänge des Apikaldendriten (siehe Kapitel 2.6), relativ vollständige und vollständige Neurone von kleiner als 2600  $\mu\text{m}$  beziehungsweise 2700  $\mu\text{m}$  Gesamtlänge des Apikaldendriten, vollständige große Neurone ab einschließlich 2700  $\mu\text{m}$  Gesamtlänge ihres Apikaldendriten, vollständige kleine Neurone von kleiner als 2700  $\mu\text{m}$  Gesamtlänge ihres Apikaldendriten, relativ vollständige und vollständige Neurone der Subregionen pvd und pvm sowie vollständige Neurone der Subregionen pvd und pvm“) jeweils getrennt durchgeführt und nur die aufschlussreichsten Ergebnisse unten dargestellt, weswegen die *Subpopulation*, auf die sich die Ergebnisse beziehen, an der jeweiligen Stelle genau bezeichnet ist und nicht alle *Subpopulationen* gleichermaßen erwähnt wurden. Die Ergebnisse wurden hauptsächlich mithilfe der geschätzten Randmittel der verallgemeinerten Schätzungsgleichungen ausgewertet, was bedeutet, dass es sich dabei um geschätzte, mittlere Werte handelt. Als Referenzgruppe wurden abhängig von der Vergleichsebene und außer, wenn anders angegeben, die Gruppen BB, WT oder die Subgruppe BB\*WT gewählt, da diese Gruppen im Gegensatz zu allen anderen Gruppen oder Subgruppen entweder unter keinerlei spezifischen

Stresseinflüssen standen (BB) oder eine „natürliche“ Gen-Ausstattung besaßen (WT) oder beides (BB\*WT). Somit scheint ein davon ausgehender Vergleich mit den anderen Gruppen, die allesamt variablen Stress-Leveln ausgesetzt waren (AA, AB, BA) beziehungsweise eine veränderte Gen-Ausstattung besaßen (HET, KO) oder mit den sich aus deren Kombination ergebenden Subgruppen (AA\*KO, AA\*HET, AA\*WT, AB\*KO, AB\*HET, ...), sinnvoll.

Die Ergebnisse aus den Berechnungen mithilfe der verallgemeinerten Schätzungsgleichungen für die Gesamtwerte einer Variable pro einzeltem Neuron konnten für die nachfolgend unter Kapitel 3 beschriebenen *Subpopulationen* umfänglich ausgewertet werden, da sich in allen genannten Fällen beide Haupteffekte *Life history* (= LH) und Genotyp (= GT) sowie auch die Interaktion aus *Life history* und Genotyp (= LH\*GT) signifikant zeigten.

Die ebenfalls mithilfe verallgemeinerter Schätzungsgleichungen angestellten Berechnungen für die, gemäß Sholl-Analyse in Segmente unterteilten, Neurone lieferten teils Ergebnisse, die über alle vorhandenen Radienstufen gemittelt worden waren (LH, GT, LH\*GT) und daher der Unterscheidung zwischen *Soma*-nahen bzw. – fernen Veränderungen einer Variable am Apikaldendriten des Neurons nicht dienlich sein konnten sowie teils Ergebnisse, die die für mich notwendige Aufspaltung nach Radien beinhalteten. Letztere waren am Vorhandensein einer Interaktion mit dem Faktor „Radius“ (= Rad) erkennbar. Die für mich wichtigen, aufschlussreichen Ergebnisse waren demnach als Interaktion zwischen *Life history* und Radius (= LH\*Rad) oder zwischen Genotyp und Radius (= GT\*Rad) verzeichnet. Eine alleinige signifikante Interaktion ohne unbedingte Signifikanz der jeweils assoziierten Haupteffekte ist sicherlich schwieriger erklärbar und scheint als Interpretationsbasis eventuell unsicherer. In diesem Fall muss bei als Interaktion gekennzeichneten Ergebnissen aber bedacht werden, dass man es mit einem Einflussfaktor (LH oder GT) zu tun hat, der für eine sinnvolle Interpretation notwendigerweise nach Radienstufen aufgetrennt sein muss, was nur durch Koppelung an den Einflussfaktor Radius möglich ist (LH\*Rad oder GT\*Rad). So handelt es sich bei LH\*Rad bzw. GT\*Rad hier also vielmehr um Haupteffekte, die eine Trennung nach Radienstufen zwar per Interaktion beinhalten, aber eben doch nur Haupteffekte mit räumlicher Lokalisierbarkeit darstellen und deswegen bei Signifikanz direkt sinnvoll interpretiert werden können und sollten, unabhängig von den normalerweise als Haupteffekte gefragten Faktoren LH sowie GT. Die einzeln dargestellten und über alle Radienstufen gemittelten Faktoren LH sowie GT stellen in diesem Fall also keine sinnvolle Basis für die Interpretation von LH\*Rad und

GT\*Rad dar und ihre Signifikanz sollte nicht als Voraussetzung für die Güte von LH\*Rad und GT\*Rad dienen, da sie wahrscheinlich auch dank der Mittelung über die Radian selten gegeben scheint.

Bei der Auflösung nach dem Faktor Radius allein, werden die Radianstufen beachtet, aber es wird nicht nach *Life history* oder Genotyp unterschieden. Das bedeutet, man erhält für die gesamte verwendete *Subpopulation* die für jede Radianstufe im Mittel geschätzt auftretenden Werte der gefragten Variable gemittelt über alle *Life histories* und Genotypen. Damit bekommt man die Möglichkeit, sozusagen das „Durchschnitts-Neuron“ dieser *Subpopulation* aufgeteilt in zwölf Stufen - von Radius 30  $\mu\text{m}$  (= Rad 30), 60  $\mu\text{m}$  (= Rad 60), *et cetera* bis Radius 360  $\mu\text{m}$  (= Rad 360) - zu betrachten. Da der Apikaldendrit aus dem *Soma* entspringt und sich dann weiter ausbreitet, wird die dem *Soma* am nächsten gelegene Radianzone 30  $\mu\text{m}$  von mir als Referenzradius ausgewählt, um von dort aus vergleichend die Signifikanz der im weiteren Wachstum und fortlaufenden Anpassung des Apikaldendriten entstandenen Veränderungen zu beurteilen. So möchte ich verdeutlichen, dass höhere Radianzonen andere Prozesse durchlaufen als niedrige und somit die Wichtigkeit einer gemäß der verschiedenen Radianzonen aufgefächerten Betrachtung eines Neurons unterstreichen.

Für die vergleichende Betrachtung der verschiedenen *Life histories* und Genotypen untereinander werden immer die gleichen Radianstufen einander gegenübergestellt. Als Referenzgrundlage wird weiterhin, wie bei den Gesamtwerten pro Neuron, immer entweder *Life history*-Gruppe BB oder Genotyp-Gruppe WT verwendet; durch den Zusatz der Radianstufen gelangt man dann aber zu einer Referenzgruppe von beispielsweise BB\*Rad 30 im Vergleich zu AA\*Rad 30, AB\*Rad 30 und BA\*Rad 30; anschließend wird BB\*Rad 60 mit AA\*Rad 60, AB\*Rad 60 und BA\*Rad 60 verglichen und so weiter. Dasselbe gilt auch für die Genotypen, denn nur so können sinnvolle Vergleichbarkeiten geschaffen werden.

### 3 Ergebnisse quantitativer morphologischer Untersuchungen der Apikaldendriten von CA3-Pyramidenzellen des Hippocampus

#### 3.1 Apikaldendritenlänge

In Untersuchungen der Apikaldendriten-Gesamtlänge mithilfe von verallgemeinerten Schätzungsgleichungen konnten für die *Subpopulation* der vollständigen, kleinen Pyramidenzellen signifikante Haupteffekte von *Life history* (= LH) (p-Wert < 0,001) sowie Genotyp (= GT) (p-Wert < 0,001) und auch eine signifikante Interaktion zwischen LH und GT (= LH\*GT) (p-Wert < 0,001) festgestellt werden. Die Apikaldendriten-Gesamtlänge pro Neuron, gruppiert nach LH, betrug geschätzt im Mittel für die Gruppe mit in früher und später Lebensphase widrigen Umständen (= AA) 1965  $\mu\text{m}$  (Standardfehler des Mittelwertes (= SEM) 36,7  $\mu\text{m}$ ; 95% Wald-Konfidenzintervall (= KI) 1893 – 2037  $\mu\text{m}$ ), für die Gruppe mit in früher Lebensphase widrigen Umständen und in später Lebensphase wohltuenden Umständen (= AB) 1990  $\mu\text{m}$  (SEM 97,5  $\mu\text{m}$ ; 95% Wald-KI 1799 – 2181  $\mu\text{m}$ ), für die Gruppe mit früh wohltuenden Lebensumständen und später widrigen Lebensumständen (= BA) 2182  $\mu\text{m}$  (SEM < 0,1  $\mu\text{m}$ ; 2182 – 2182  $\mu\text{m}$ ) und für die Gruppe mit stets wohltuenden Lebensumständen (= BB) 1895  $\mu\text{m}$  (SEM < 0,1  $\mu\text{m}$ ; 95% Wald-KI 1895 – 1895  $\mu\text{m}$ ). Hierbei zeigte sich, dass, im Vergleich zur Gruppe BB, BA im Mittel signifikant längere Apikaldendriten aufwies (Mittlere Differenz BB – BA = - 287  $\mu\text{m}$ ; SEM < 0,1  $\mu\text{m}$ ; Bonferroni-p-Wert < 0,001) (siehe Abbildung 3.1.1 A).

Die Apikaldendriten-Gesamtlänge pro Neuron bezogen auf die verschiedenen GT, zeigte im Mittel geschätzt für die Gruppe von Mäusen homozygot bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels (= KO) 1903  $\mu\text{m}$  (SEM 77,4  $\mu\text{m}$ ; 95% Wald-KI 1752 – 2055  $\mu\text{m}$ ), für die Gruppe mit Heterozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels (= HET) 1916  $\mu\text{m}$  (SEM 11,0  $\mu\text{m}$ ; 95% Wald-KI 1894 – 1938  $\mu\text{m}$ ) sowie für homozygote Mäuse bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels (= WT) 2204  $\mu\text{m}$  (SEM < 0,1  $\mu\text{m}$ ; 95% Wald-KI 2204 – 2204  $\mu\text{m}$ ). Im Vergleich zum WT wiesen sowohl KO (Mittlere Differenz WT – KO = 301  $\mu\text{m}$ ; SEM 77,4; Bonferroni-p-Wert < 0,001) als auch HET (Mittlere Differenz WT – HET = 288  $\mu\text{m}$ ; SEM 11,0  $\mu\text{m}$ ; Bonferroni-p-Wert < 0,001) signifikant kürzere Apikaldendriten auf (siehe Abbildung 3.1.1 B).

Die im Mittel geschätzt auftretende Gesamtlänge des Apikaldendriten eines Neurons innerhalb der verschiedenen Subgruppen einer LH mit zugeordnetem GT wird in Teil C der Abbildung 3.1.1 dargestellt. Verglichen mit der Referenzsubgruppe BB\*WT mit



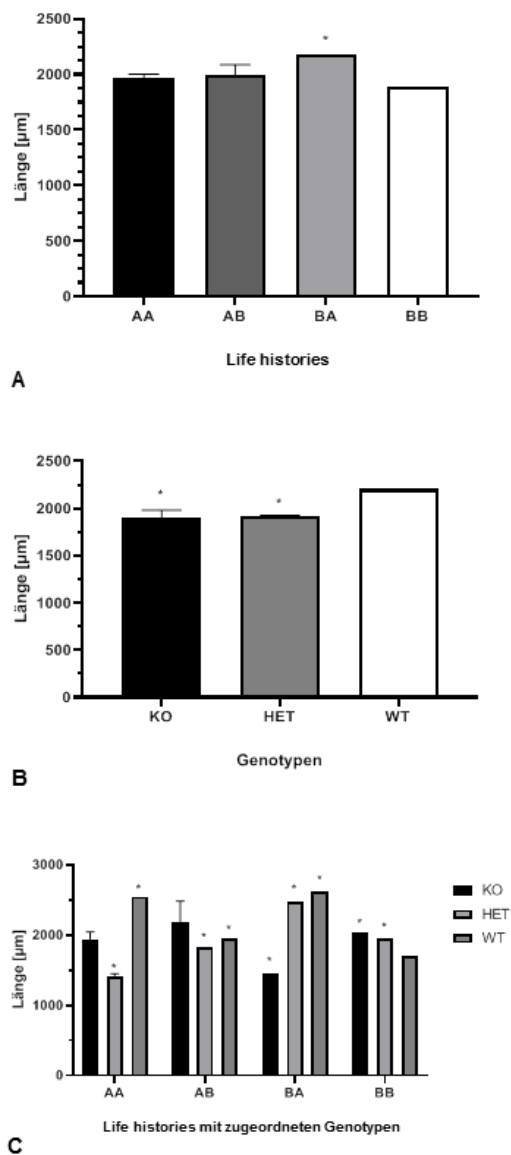
einer Gesamtlänge des Apikaldendriten von im Mittel 1701  $\mu\text{m}$  (SEM < 0,1  $\mu\text{m}$ ; 95% Wald-KI 1701 – 1701  $\mu\text{m}$ ) zeigten sich zu allen Subgruppen außer zu AA\*KO und AB\*KO signifikante Unterschiede der mittleren Apikaldendriten-Gesamtlänge pro Neuron. In den meisten Vergleichsfällen besaßen die anderen Subgruppen im Mittel signifikant (sämtliche Bonferroni-p-Werte < 0,001) längere Apikaldendriten als BB\*WT. Lediglich AA\*HET sowie BA\*KO hatten im Mittel signifikant (beide Bonferroni-p-Werte < 0,001) kürzere Apikaldendriten als BB\*WT.

Die Länge des Apikaldendriten pro Radius (= Rad) eines Neurons der *Subpopulation* der vollständigen und relativ vollständigen Neurone aus den Subregionen *dorsaler, posteroventraler* Anteil (= pvd) von *Cornu ammonis 3* (= CA3) und mittlerer, *posteroventraler* Anteil von CA3 (= pvm) wurde signifikant von den Haupteffekten LH (p-Wert < 0,001) und Rad (p-Wert < 0,001) sowie von den Interaktionen zwischen LH und GT (p-Wert = 0,002), LH und Rad (= LH\*Rad) (p-Wert < 0,001) sowie GT und Rad (= GT\*Rad) (p-Wert < 0,001) beeinflusst, hingegen nicht vom Faktor GT. Die Radienzone Rad 30 zeigte bei Untersuchung des Haupteffektes Rad auf die Länge eine im Mittel geschätzte Länge ihres Anteils am Apikaldendriten von 26  $\mu\text{m}$  (SEM 4,4  $\mu\text{m}$ ; 95 % Wald-KI 17 – 34  $\mu\text{m}$ ). Für die Werte der anderen Radien siehe Teil A in Abbildung 3.1.2. Alle Rad 60 – 360 zeigten signifikant (Bonferroni-p-Wert < 0,001) längere Anteile am Apikaldendriten pro Rad als jeweils verglichen zum Referenz-Rad 30.

Die jeweilige geschätzte mittlere Länge des Apikaldendriten pro Radienzone eines Neurons für die verschiedenen LH, also die Interaktion aus LH und Rad, bezogen aus der *Subpopulation* der vollständigen und relativ vollständigen Neurone aus den Subregionen pvd und pvm ist in Abbildung 3.1.2 B ersichtlich. Die mittleren Unterschiede zwischen BB-Radienzonen und entsprechenden Radienzonen einer jeweils anderen LH erwiesen sich bezüglich der Variable Länge als nicht signifikant.

Pro Radienstufe eines Neurons verschiedener GT aus der *Subpopulation* der vollständigen und relativ vollständigen Neurone der Subregionen pvd und pvm wurde die Länge des Apikaldendriten im Mittel geschätzt (siehe Abbildung 3.1.2 C). Keine Signifikanzen hinsichtlich unterschiedlicher Längen des Apikaldendriten innerhalb einer Radienzone eines Neurons vom WT verglichen mit jeweils der entsprechenden Radienzone eines der anderen GT waren ersichtlich.

**Mittlere Gesamtlänge des Apikaldendriten von Neuronen der Subpopulation der vollständigen, kleinen Neurone**

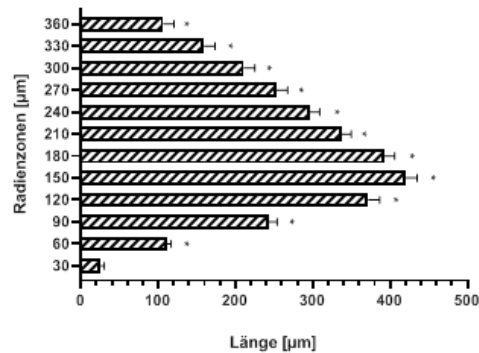


**Abbildung 3.1.1**

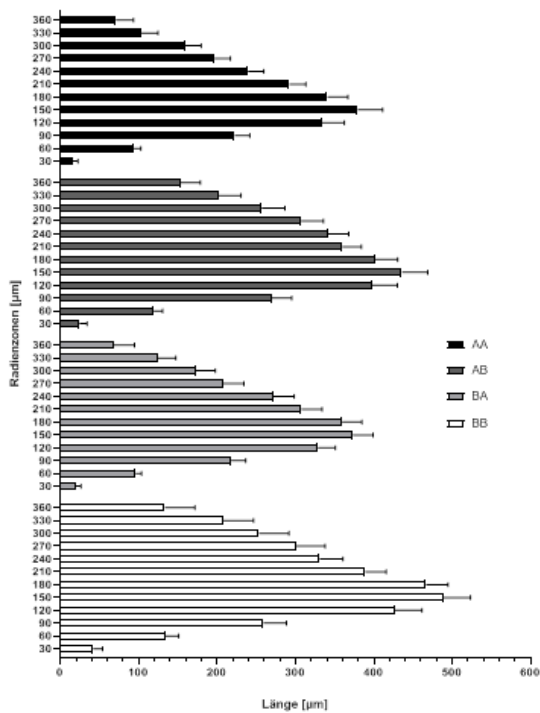
*Mittlere Gesamtlänge des Apikaldendriten von Neuronen der Subpopulation der vollständigen, kleinen Neurone gruppiert nach Life history (A), Genotyp (B) oder Life history mit zugeordnetem Genotyp (C)*

\* = Mittlere Differenz korrigiert nach Bonferroni auf dem 0,05-Niveau signifikant in Bezug zur Referenzgruppe BB bzw. WT oder zur Referenzsubgruppe BB\*WT; Querbalken über den Säulen zeigen den Standardfehler des Mittelwertes an; fehlende Abgrenzbarkeit eines Standardfehler-Balkens weist auf einen sehr kleinen Standardfehler hin. AA = frühe und späte Lebensphase mit widrigen Umständen; AB = frühe Lebensphase mit widrigen, späte Lebensphase mit wohltuenden Umständen; BA = frühe Lebensphase mit wohltuenden, späte Lebensphase mit widrigen Umständen; BB = frühe und späte Lebensphase mit wohltuenden Umständen; HET = Heterozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; KO = Homozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; WT = Homozygotie bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels.

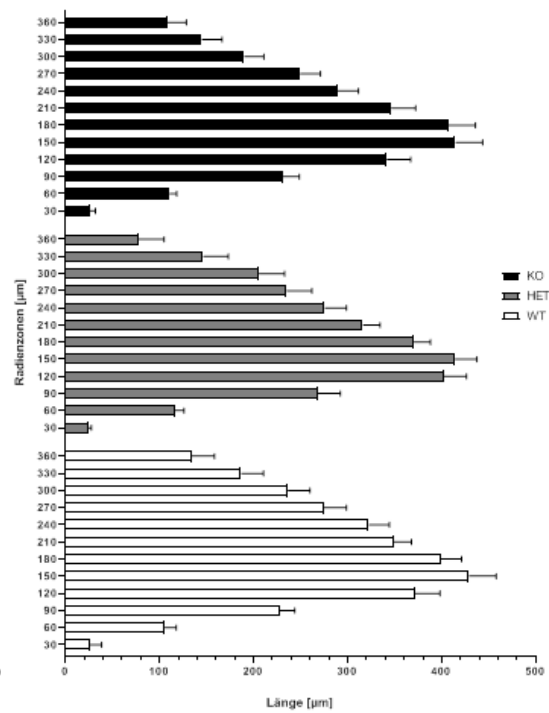
**Mittlere Länge des Apikaldendriten pro Radienzonen von vollständigen und relativ vollständigen Neuronen der Subregionen pvd und pvm**



**A**



**B**



**C**

**Abbildung 3.1.2**

Mittlere Länge des Apikaldendriten pro Radienzonen von vollständigen und relativ vollständigen Neuronen der Subregionen pvd und pvm ohne weitere Einordnung (A) oder gruppiert nach Life history (B) oder Genotyp (C) in der Sholl-Analyse

\* = Mittlere Differenz korrigiert nach Bonferroni auf dem 0,05-Niveau signifikant in Bezug zum Referenz-Radius 30 µm; Längsbalken neben den Säulen zeigen den Standardfehler des Mittelwertes an.  
 AA = frühe und späte Lebensphase mit widrigen Umständen; AB = frühe Lebensphase mit widrigen, späte Lebensphase mit wohltuenden Umständen; BA = frühe Lebensphase mit wohltuenden, späte Lebensphase mit widrigen Umständen; BB = frühe und späte Lebensphase mit wohltuenden Umständen; HET = Heterozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-Knockout-Allels; KO = Homozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-Knockout-Allels; pvd = dorsaler, posteroventraler Anteil von *Cornu ammonis* 3; pvm = mittlerer, posteroventraler Anteil von *Cornu ammonis* 3; WT = Homozygotie bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels.

### 3.2 Verzweigungspunkte

Bei Untersuchungen zur Gesamtzahl der Verzweigungspunkte (im Folgenden als *Nodes* bezeichnet) am Apikaldendriten, zeigten sich in mehreren *Subpopulationen* von Neuronen Signifikanzen für sowohl Haupteffekte von LH sowie GT als auch für die Interaktion aus LH und GT. So werden im Folgenden die Zahlen der im Mittel pro Neuron vorhandenen *Nodes* der beiden *Subpopulationen* der vollständigen, kleinen Neurone (beide Haupteffekte und Interaktion: p-Wert < 0,001) sowie der vollständigen Neurone aus den Subregionen pvd und pvm (Haupteffekt LH: p-Wert < 0,001; Haupteffekt GT: p-Wert = 0,015 und Interaktion LH\*GT: p-Wert < 0,001) geschildert und graphisch dargestellt. Innerhalb dieser beiden *Subpopulationen* fanden sich zum einen das größte n (Fallzahl) und zum anderen die höchsten Signifikanzen für Haupteffekte und Interaktion. Die vollständigen, kleinen Neurone der LH AA hatten im Mittel geschätzt insgesamt 14,4 *Nodes* pro Neuron an ihrem Apikaldendriten (SEM 0,566; 95 % Wald-KI 13,3 – 15,5), die von AB hatten 16,2 *Nodes* pro Neuron (SEM 0,477; 95 % Wald-KI 15,3 – 17,2), BA wies 16,3 *Nodes* pro Neuron auf (SEM < 0,001; 95 % Wald-KI 16,3 – 16,3) und BB 17,0 *Nodes* pro Neuron am Apikaldendriten (SEM < 0,001; 95 % Wald-KI 17,0 – 17,0). Signifikante Unterschiede in der mittleren *Node*-Zahl pro Neuron zeigten sich zwischen BB und AA (Mittlere Differenz BB – AA = 2,6; SEM 0,566; Bonferroni-p-Wert < 0,001) sowie zwischen BB und BA (Mittlere Differenz BB – BA = 0,7; SEM < 0,001; Bonferroni-p-Wert < 0,001) (siehe Abbildung 3.2.1 A). In der *Subpopulation* der vollständigen Neurone aus Subregion pvd und pvm enthielt ein Neuron der LH AA im Mittel insgesamt 17,5 *Nodes* an seinem Apikaldendriten (SEM 0,586; 95 % Wald-KI 16,3 – 18,6), Gruppe AB 18,6 *Nodes* (SEM 0,646; 95 % Wald-KI 17,3 – 19,9), BA wiederum enthielt 17,7 *Nodes* (SEM 0,410; 95 % Wald-KI 16,9 – 18,5) und BB 23,3 *Nodes* (SEM 0,569; 95 % Wald-KI 22,2 – 24,4). Die mittlere *Node*-Zahl verglichen mit der Anzahl der *Nodes* in Referenzgruppe BB war für alle LH-Gruppen signifikant geringer mit einem Bonferroni-p-Wert von < 0,001. Ein Neuron der LH AA besaß im Mittel 5,8 *Nodes* weniger (SEM 0,817), eines der LH AB 4,7 *Nodes* weniger (SEM 0,861) und eines der LH BA 5,5 *Nodes* weniger (SEM 0,701) als ein Neuron der Gruppe BB (siehe Abbildung 3.2.1 B).

Die vollständigen, kleinen Neurone des GT KO hatten geschätzt pro Neuron im Mittel 15,6 *Nodes* an ihrem Apikaldendriten (SEM 0,445; 95 % Wald-KI 14,7 – 16,4), die des GT HET 17,6 *Nodes* (SEM 0,331; 95 % Wald-KI 16,9 – 18,2) und GT WT im Mittel 14,9 *Nodes* (SEM < 0,001; 95 % Wald-KI 14,9 – 14,9). Im Vergleich zu WT wiesen Neurone des GT HET pro Neuron im Mittel signifikant 2,7 *Nodes* mehr an ihrem Apikaldendriten

auf (SEM 0,331; Bonferroni-p-Wert < 0,001) (siehe Abbildung 3.2.1 C). Ein KO-Neuron der vollständigen Neurone aus den Subregionen pvd und pvm wies im Mittel geschätzt 20,2 *Nodes* auf (SEM 0,342; 95 % Wald-KI 19,5 – 20,9), HET- Neurone hingegen 19,0 *Nodes* (SEM 0,587; 95 % Wald-KI 17,9 – 20,2) und Neurone des WT im Mittel 18,6 *Nodes* (SEM 0,493; 95 % Wald-KI 17,6 – 19,5). Lediglich KO unterschied sich signifikant (Bonferroni-p-Wert = 0,019) zum WT mit im Mittel 1,6 *Nodes* mehr am Apikaldendriten (SEM 0,601), als ein Neuron des WT sie zeigte (siehe Abbildung 3.2.1 D).

Die Subgruppen-Werte für die pro Neuron auftretende mittlere Zahl an *Nodes* innerhalb der *Subpopulation* der vollständigen, kleinen Neurone können Teil E der Abbildung 3.2.1 entnommen werden. Für die Referenzsubgruppe BB\*WT betrug die *Node*-Zahl im Mittel 10,5 (SEM < 0,001; 95 % Wald-KI 10,5 – 10,5) und unterschied sich damit signifikant von allen anderen Subgruppen außer von AA\*KO und AA\*HET. Alle sonstigen Subgruppen übertrafen BB\*WT mit ihrer *Node*-Zahl signifikant (sämtliche Bonferroni-p-Werte < 0,001). Innerhalb der *Subpopulation* der vollständigen Neurone aus pvd und pvm zeigte die Referenzsubgruppe BB\*WT eine mittlere *Node*-Zahl von 27,7 *Nodes* pro Neuron (SEM 0,720; 95 % Wald-KI 26,3 – 29,1). Ein Vergleich der Referenzsubgruppe BB\*WT zu den anderen LH\*GT-Subgruppen ist in Teil F der Abbildung 3.2.1 gegeben und stellt die signifikante (Bonferroni-p-Werte < 0,001, außer AB\*HET mit Bonferroni-p-Wert = 0,005) Mehrzahl von *Nodes* an Neuronen von BB\*WT im Vergleich zu allen anderen Subgruppen dar.

Die im Mittel geschätzte Anzahl an *Nodes* pro Radienzzone eines Neurons wurde in der *Subpopulation* der vollständigen, kleinen Neurone genauer untersucht, welche Signifikanz für den Faktor Rad (p-Wert < 0,001) sowie die Interaktion aus LH und GT (p-Wert = 0,001), die Interaktion aus LH und Rad (p-Wert < 0,001) und die Interaktion aus GT und Rad (p-Wert = 0,002) erreichen konnte. Die Faktoren LH sowie GT waren hingegen nicht signifikant. Innerhalb der Radienzzone bis 30  $\mu\text{m}$  fanden sich pro Neuron im Mittel geschätzt 0,5 *Nodes* (SEM 0,142; 95 % Wald-KI 0,2 – 0,8) bei Betrachtung des Faktors Rad. Rad 30 jeweils verglichen mit höheren Radienstufen zeigte für Rad 60 – Rad 180 (Bonferroni-p-Werte < 0,001) sowie für Rad 270 (Bonferroni-p-Wert = 0,033) und Rad 300 (Bonferroni-p-Wert = 0,031) signifikante Unterschiede. Rad 60 – Rad 180 zeigten jeweils im Mittel mehr *Nodes* als Rad 30, Rad 270 sowie Rad 300 zeigten im Vergleich weniger *Nodes* als Rad 30 (siehe Abbildung 3.2.2 A).

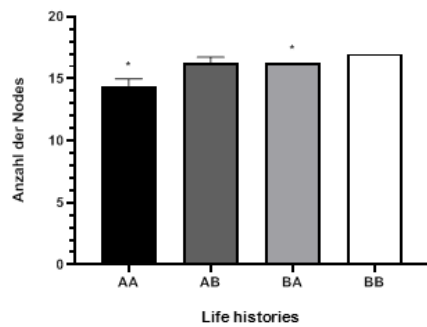
Die im Mittel geschätzten Werte für die *Node*-Zahl einer Radienstufe eines einzelnen Neurons der *Subpopulation* der vollständigen, kleinen Neurone für verschiedene LH werden in der Abbildung 3.2.2 B aufgeführt. Keine signifikanten Unterschiede zwischen gleichen Radienstufen von BB und jeweils einer der anderen LH konnten bezüglich der Anzahl der im Mittel geschätzten *Nodes* aufgezeigt werden.

Die *Node*-Zahlen pro Radienstufe eines Neurons der verschiedenen GT-Gruppen und entstammend der *Subpopulation* der vollständigen, kleinen Neurone können Teil C der Abbildung 3.2.2 entnommen werden. Im Vergleich der Radienzonen von WT mit jeweils entsprechenden Radienzonen eines der anderen Genotypen konnten keine signifikanten Unterschiede der im Mittel geschätzten Anzahl der *Nodes* eines Neurons gefunden werden.

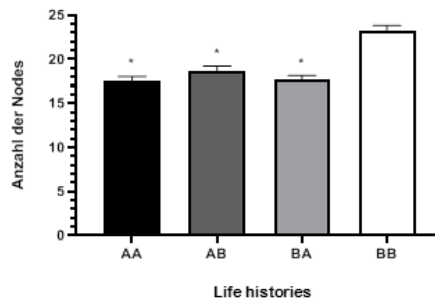
### Mittlere Anzahl der gesamten Nodes am Apikaldendriten von Neuronen verschiedener Subpopulationen

Subpopulation der vollständigen, kleinen Neurone

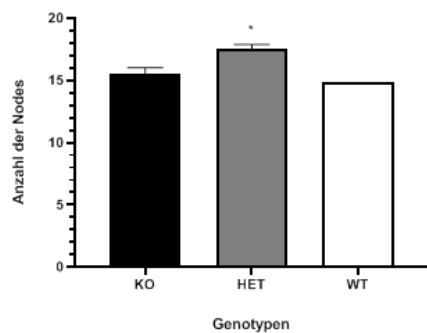
Subpopulation der vollständigen Neurone aus den Subregionen pvd und pvm



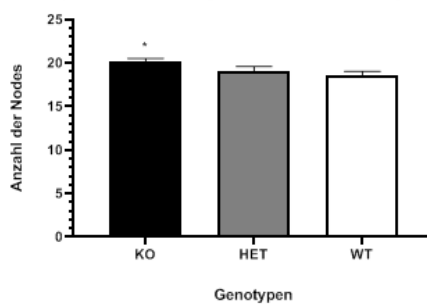
A



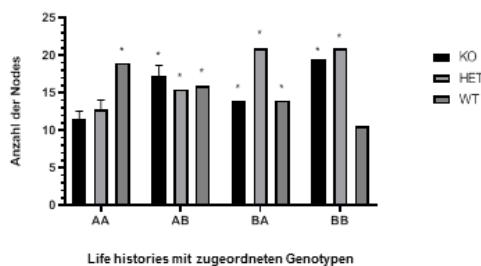
B



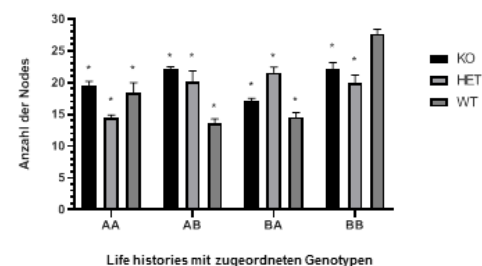
C



D



E



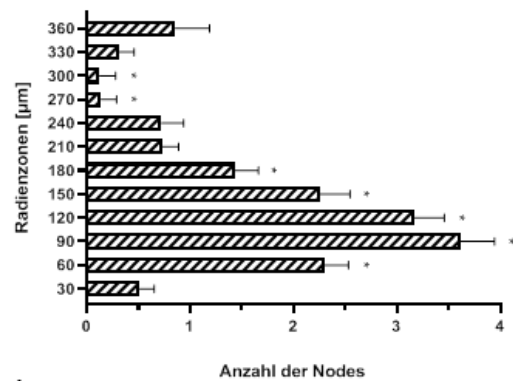
F

Abbildung 3.2.1

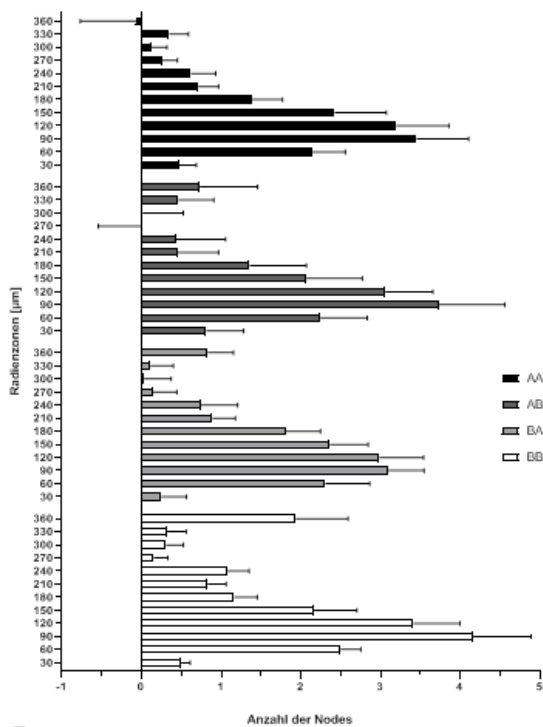
Mittlere Anzahl der gesamten Nodes am Apikaldendriten von Neuronen verschiedener Subpopulationen gruppiert nach Life history (A, B), Genotyp (C, D) oder Life history mit zugeordnetem Genotyp (E, F)

\* = Mittlere Differenz korrigiert nach Bonferroni auf dem 0,05-Niveau signifikant in Bezug zur Referenzgruppe BB bzw. WT oder zur Referenzsubgruppe BB\*WT; Querbalken über den Säulen zeigen den Standardfehler des Mittelwertes an. Fehlende Abgrenzbarkeit eines Standardfehler-Balkens weist auf einen sehr kleinen Standardfehler hin.  
 AA = frühe und späte Lebensphase mit widrigen Umständen; AB = frühe Lebensphase mit widrigen, späte Lebensphase mit wohlthuenden Umständen; BA = frühe Lebensphase mit wohlthuenden, späte Lebensphase mit widrigen Umständen; BB = frühe und späte Lebensphase mit wohlthuenden Umständen; HET = Heterozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-Knockout-Allels; KO = Homozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-Knockout-Allels; pvd = dorsaler, posteroventraler Anteil von *Cornu ammonis* 3; pvm = mittlerer, posteroventraler Anteil von *Cornu ammonis* 3; WT = Homozygotie bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels.

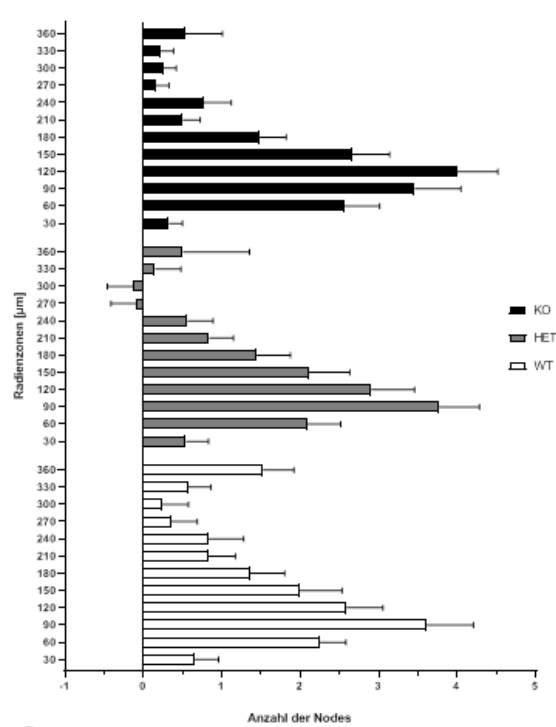
**Mittlere Anzahl der Nodes pro Radienzone von Neuronen der Subpopulation der vollständigen, kleinen Neurone**



A



B



C

**Abbildung 3.2.2**

Mittlere Anzahl der Nodes pro Radienzone von Neuronen der Subpopulation der vollständigen, kleinen Neurone ohne weitere Einordnung (A) oder gruppiert nach Life history (B) oder Genotyp (C) in der Sholl-Analyse

\* = Mittlere Differenz korrigiert nach Bonferroni auf dem 0,05-Niveau signifikant in Bezug zum Referenz-Radius 30 µm; Längsbalken neben den Säulen zeigen den Standardfehler des Mittelwertes an.

AA = frühe und späte Lebensphase mit widrigen Umständen; AB = frühe Lebensphase mit widrigen, späte Lebensphase mit wohlthuenden Umständen; BA = frühe Lebensphase mit wohlthuenden, späte Lebensphase mit widrigen Umständen; BB = frühe und späte Lebensphase mit wohlthuenden Umständen; HET = Heterozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; KO = Homozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; WT = Homozygotie bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels.



### 3.3 Dichte der Verzweigungspunkte

Die Dichte der Verzweigungspunkte (im Folgenden *Node*-Dichte) spiegelt die Anzahl der Verzweigungspunkte pro 100  $\mu\text{m}$  Länge des Apikaldendriten wieder. In den statistischen Auswertungen konnten signifikante Haupteffekte von LH (p-Wert < 0,001) und auch GT (p-Wert = 0,003) sowie eine signifikante Interaktion aus LH und GT (p-Wert < 0,001) betreffend die Gesamtheit der untersuchten Neurone festgestellt werden. Neurone der LH-Gruppe AA präsentierten sich mit einer geschätzten mittleren *Node*-Dichte von 0,746 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$  (SEM 0,018 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ; 95% Wald-KI 0,710 – 0,782 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ), AB mit einer *Node*-Dichte von 0,762 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$  (SEM 0,013 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ; 95 % Wald-KI 0,737 – 0,788 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ), BA mit einer *Node*-Dichte von 0,823 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$  (SEM 0,049 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ; 95 % Wald-KI 0,728 – 0,919 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ) sowie Gruppe BB mit einer *Node*-Dichte von 0,656 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$  (SEM 0,010 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ; 95 % Wald-KI 0,636 – 0,675 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ). Signifikante Unterschiede zur mittleren *Node*-Dichte von BB waren für alle weiteren LH-Gruppen festzustellen. Sowohl AA- (Mittlere Differenz BB – AA = - 0,091 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ; SEM 0,021 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ; Bonferroni-p-Wert < 0,001) als auch AB- (Mittlere Differenz BB – AB = - 0,107 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ; SEM 0,016 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ; Bonferroni-p-Wert < 0,001) und BA-Neurone (Mittlere Differenz BB – BA = - 0,168 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ; SEM 0,050 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ; Bonferroni-p-Wert 0,005) besaßen im Mittel eine signifikant höhere *Node*-Dichte (siehe Abbildung 3.3 A).

Bei Betrachtung der unterschiedlichen GT (siehe Abbildung 3.3 B) zeigte sich für KO eine geschätzte mittlere *Node*-Dichte von 0,768 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$  (SEM 0,008 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ; 95 % Wald-KI 0,752 – 0,785 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ), für HET eine *Node*-Dichte von 0,709 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$  (SEM 0,015 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ; 95 % Wald-KI 0,679 – 0,739 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ) und für WT eine *Node*-Dichte von im Mittel 0,763 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$  (SEM 0,037 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ; 95 % Wald-KI 0,690 – 0,835 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ). Keine signifikanten Unterschiede ergaben sich für den Vergleich von KO und HET mit WT.

Die *Node*-Dichte-Werte der Subgruppen aus LH und GT können der Abbildung 3.3 C entnommen werden. Die Referenzsubgruppe BB\*WT hatte eine *Node*-Dichte von im Mittel 0,679 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$  (SEM 0,003 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ; 95 % Wald-KI 0,672 – 0,686 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ) und unterschied sich damit signifikant von einigen anderen Subgruppen. Meist wies BB\*WT in diesen Fällen eine signifikant (Bonferroni-p-Werte < 0,001) geringere *Node*-Dichte auf als die anderen Subgruppen, außer im Fall von BB\*HET, dort fand sich eine im Vergleich signifikant (Bonferroni-p-Wert < 0,001) um

0,129 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$  (SEM 0,007 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ ) größere mittlere *Node*-Dichte von BB\*WT.

### Mittlere Node-Dichte von Neuronen der gesamten Neuronenpopulation



**Abbildung 3.3**

Mittlere Node-Dichte von Neuronen der gesamten Neuronenpopulation gruppiert nach Life history (A), Genotyp (B) oder Life history mit zugeordnetem Genotyp (C)

\* = Mittlere Differenz korrigiert nach Bonferroni auf dem 0,05-Niveau signifikant in Bezug zur Referenzgruppe BB bzw. WT oder zur Referenzsubgruppe BB\*WT; Querbalken über den Säulen zeigen den Standardfehler des Mittelwertes an; Fehlende Abgrenzbarkeit eines Standardfehler-Balkens weist auf einen sehr kleinen Standardfehler hin.  
 AA = frühe und späte Lebensphase mit widrigen Umständen; AB = frühe Lebensphase mit widrigen, späte Lebensphase mit wohltuenden Umständen; BA = frühe Lebensphase mit wohltuenden, späte Lebensphase mit widrigen Umständen; BB = frühe und späte Lebensphase mit wohltuenden Umständen; HET = Heterozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; KO = Homozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; WT = Homozygotie bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels.

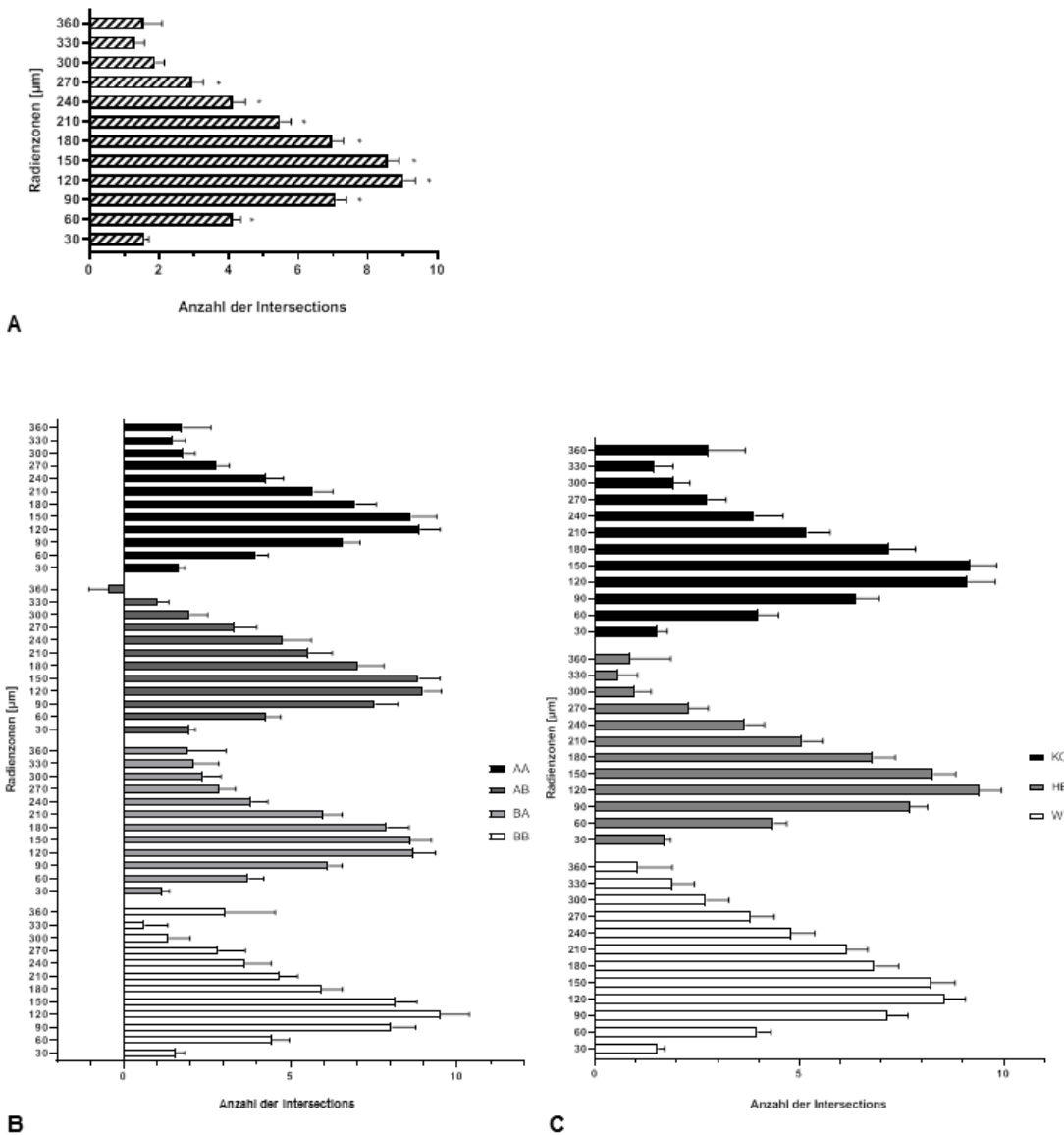
### 3.4 Schnittpunkte mit der Grenze zur nächsthöheren Radienzzone in der Sholl-Analyse

Die Schnittpunkte mit der Grenze zur nächsthöheren Radienzzone in der Sholl-Analyse (im Folgenden *Intersections*) wurden innerhalb der *Subpopulation* der vollständigen und relativ vollständigen, kleinen Neurone mit einer Apikaldendriten-Gesamtlänge von unter 2700  $\mu\text{m}$  genauer betrachtet. Im Schätzungsmodell zeigten sich die Faktoren LH sowie GT nicht signifikant, dahingegen wiesen der Faktor Rad sowie die Interaktion aus LH und GT, die Interaktion aus LH und Rad sowie die Interaktion aus GT und Rad deutliche Signifikanz auf mit einheitlich p-Werten  $< 0,001$ . Die Radienzzone bis 30  $\mu\text{m}$  enthielt im Mittel geschätzt 1,6 *Intersections* pro Neuron (SEM 0,1; 95 % Wald-KI 1,4 – 1,8) bei Betrachtung des Haupteffektes Rad. Dazu signifikant unterschiedlich (Bonferroni-p-Werte  $< 0,001$ , außer Rad 270 mit Bonferroni-p-Wert = 0,002) zeigten sich die Radienzonen 60 – 270  $\mu\text{m}$  mit jeweils einer größeren Zahl an *Intersections* als Rad 30 (siehe Abbildung 3.4 A).

Die Interaktion von LH und Rad bezüglich der im Mittel auftretenden *Intersections* pro Rad eines Neurons wird der Übersichtlichkeit wegen in Teil B der Abbildung 3.4 dargestellt, die alle vier LH umfasst. Im Vergleich der jeweils selben Radienstufen untereinander konnten keine signifikanten Unterschiede von BB zu anderen LH-Gruppen hinsichtlich *Intersections* festgestellt werden.

Das Verhalten der *Intersections* im Mittel pro Rad eines Neurons verschiedener GT kann mithilfe der Abbildung 3.4 C beurteilt werden. Auch zwischen jeweils WT und den anderen GT konnten keine signifikanten Unterschiede der *Intersections* innerhalb gleicher Radienstufen nachgewiesen werden.

**Mittlere Anzahl der Intersections pro Radienzzone von Neuronen der Subpopulation der vollständigen und relativ vollständigen, kleinen Neurone mit einer Apikaldendritengesamtlänge von unter 2700  $\mu\text{m}$**



**Abbildung 3.4**

*Mittlere Anzahl der Intersections pro Radienzzone von Neuronen der Subpopulation der vollständigen und relativ vollständigen, kleinen Neurone mit einer Apikaldendritengesamtlänge von unter 2700  $\mu\text{m}$  ohne weitere Einordnung (A) oder gruppiert nach Life history (B) oder Genotyp (C) in der Sholl-Analyse*

\* = Mittlere Differenz korrigiert nach Bonferroni auf dem 0,05-Niveau signifikant in Bezug zum Referenz-Radius 30  $\mu\text{m}$ ; Längsbalken neben den Säulen zeigen den Standardfehler des Mittelwertes an.  
 AA = frühe und späte Lebensphase mit widrigen Umständen; AB = frühe Lebensphase mit widrigen, späte Lebensphase mit wohltuenden Umständen; BA = frühe Lebensphase mit wohltuenden, späte Lebensphase mit widrigen Umständen; BB = frühe und späte Lebensphase mit wohltuenden Umständen; HET = Heterozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; KO = Homozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; WT = Homozygotie bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels.

### 3.5 Endpunkte

Mehrere *Subpopulationen* von Neuronen zeigten signifikante Haupteffekte und Interaktionen bezüglich der Variable Endpunkte des Apikaldendriten, weswegen weiterhin auf Untersuchungen der vollständigen, kleinen Neurone sowie der vollständigen Neurone der Subregionen pvd und pvm eingegangen wird. Innerhalb dieser *Subpopulationen* fanden sich zum einen das größte  $n$  sowie zum anderen die höchsten Signifikanzen für Haupteffekte und Interaktion. Die vollständigen, kleinen Neurone zeigten signifikante Haupteffekte für LH sowie für GT und auch eine signifikante Interaktion von LH und GT (sämtliche  $p$ -Werte  $< 0,001$ ). Neurone der LH AA hatten geschätzte Mittelwerte von 15,5 Endpunkten an ihrem Apikaldendriten (SEM 0,543; 95 % Wald-KI 14,4 – 16,6), die der LH AB 17,5 Endpunkte (SEM 0,479; 95 % Wald-KI 16,6 – 18,4), BA-Neurone hatten 17,7 Endpunkte (SEM  $< 0,001$ ; 95 % Wald-KI 17,7 – 17,7) und BB-Neurone im Mittel 18,5 Endpunkte (SEM  $< 0,001$ ; 95 % Wald-KI 18,5 – 18,5). Signifikante (Bonferroni- $p$ -Werte  $< 0,001$ ) Unterschiede zu BB fanden sich bei Neuronen von AA (Mittlere Differenz BB – AA = 3,0; SEM 0,543) und BA (Mittlere Differenz BB – BA = 0,8; SEM  $< 0,001$ ) mit jeweils im Vergleich weniger Endpunkten als BB (siehe A in Abbildung 3.5.1). Vollständige Neurone aus den Subregionen pvd und pvm wiesen ebenso signifikante Haupteffekte bezüglich LH ( $p$ -Wert  $< 0,001$ ) und GT ( $p$ -Wert = 0,008) sowie eine signifikante Interaktion von LH und GT auf ( $p$ -Wert  $< 0,001$ ). Im Mittel geschätzt gab es am Apikaldendrit jeden Neurons der LH-Gruppe AA 18,6 Endpunkte (SEM 0,644; 95 % Wald-KI 17,4 – 19,9), der LH-Gruppe AB 20,0 Endpunkte (SEM 0,660; 95 % Wald-KI 18,7 – 21,3), der Gruppe BA 19,1 Endpunkte (SEM 0,417; 95 % Wald-KI 18,3 – 19,9) und der Gruppe BB 25,1 Endpunkte (SEM 0,665; 95 % Wald-KI 23,7 – 26,4). AA (Mittlere Differenz BB – AA = 6,4; SEM 0,925), AB (Mittlere Differenz BB – AB = 5,1; SEM 0,936) und ebenso BA (Mittlere Differenz BB – BA = 6,0; SEM 0,784) hatten im Vergleich zu BB im Mittel allesamt signifikant (Bonferroni- $p$ -Werte  $< 0,001$ ) weniger Endpunkte pro Neuron (siehe Abbildung 3.5.1 B).

Die Verteilung der mittleren Endpunkte pro Neuron auf die verschiedenen GT der vollständigen, kleinen Neurone zeigte für KO 16,8 (SEM 0,446; 95 % Wald-KI 15,9 – 17,6), für HET 19,1 (SEM 0,309; 95 % Wald-KI 18,5 – 19,7) und für WT 16,0 (SEM  $< 0,001$ ; 95 % Wald-KI 16,0 – 16,0). Signifikanz (Bonferroni- $p$ -Wert  $< 0,001$ ) erreichte dabei der Unterschied zwischen WT und HET (Mittlere Differenz WT – HET = - 3,1; SEM 0,309) (siehe C in Abbildung 3.5.1). Vollständige Neurone aus pvd und pvm des GT KO hatten im Mittel 21,8 Endpunkte (SEM 0,386; 95 % Wald-KI 21,1 – 22,6), die

des GT HET 20,4 Endpunkte (SEM 0,598; 95 % Wald-KI 19,3 – 21,6) und die des WT hatten im Mittel geschätzt 19,8 Endpunkte an ihrem Apikaldendriten (SEM 0,563; 95 % Wald-KI 18,7 – 20,9). Mit im Mittel 2,0 Endpunkten mehr (SEM 0,683) als an Neuronen der Vergleichsgruppe WT unterschied sich KO signifikant (Bonferroni-p-Wert = 0,011) von dieser (siehe D in Abbildung 3.5.1).

Innerhalb der *Subpopulation* der vollständigen, kleinen Neurone waren pro Neuron der Subgruppe BB\*WT im Mittel 12,0 Endpunkte am Apikaldendriten vorhanden (SEM < 0,001; 95 % Wald-KI 12,0 – 12,0). Damit hatte BB\*WT signifikant (Bonferroni-p-Werte < 0,001) weniger Endpunkte als die meisten anderen Subgruppen, außer AA\*HET und AA\*KO, für die sich keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu BB\*WT zeigten (siehe E in Abbildung 3.5.1). Die mittlere Anzahl der Endpunkte, die bei vollständigen Neuronen aus pvd und pvm auftrat, betrug für BB\*WT 29,3 (SEM 0,981; 95 % Wald-KI 27,4 – 31,3). Die Referenzsubgruppe BB\*WT enthielt damit pro Neuron signifikant (Bonferroni-p-Werte < 0,001; nur AB\*HET mit Bonferroni-p-Wert = 0,005) mehr Endpunkte als fast alle anderen Subgruppen außer BB\*KO, die mit einem Bonferroni-p-Wert von 0,050 zwar knapp keine Signifikanz mehr erreichen konnte, aber dennoch denselben Trend widerzuspiegeln schien (Mittlere Differenz BB\*WT – BB\*KO = 4,8; SEM 1,430) (siehe Abbildung 3.5.1 F).

Die mittlere Anzahl an Endpunkten des Apikaldendriten eines Neurons innerhalb dessen verschiedener Radienzonen wurden in der *Subpopulation* aller vollständigen Neurone geschätzt und genauer untersucht, da sich dort alle Faktoren LH (p-Wert = 0,015), GT (p-Wert = 0,048), Rad (p-Wert < 0,001) sowie alle Interaktionen LH und GT (p-Wert < 0,001), LH und Rad (p-Wert = 0,001) und GT und Rad (p-Wert = 0,024) signifikant zeigten. Bei Betrachtung des Haupteffektes Rad und des normalerweise als Referenz gewählten Rad 30 fällt auf, dass für diese Radienzone mit im Mittel - 0,03 Endpunkten (SEM 0,029; 95 % Wald-KI - 0,09 – 0,03) ein negativer Wert geschätzt wurde. Da das Schätzer-Modell nicht imstande ist, zu erkennen, ob ein negativer Wert im Bereich des Möglichen liegt und eine negative Anzahl von Endungen nicht den natürlichen Gegebenheiten eines Neurons entspricht, kann dieser Wert eher im Sinne eines sehr kleinen positiven Wertes interpretiert werden, wie auch im KI enthalten. Dies entspräche eher den Gegebenheiten eines Neurons, denn Endungen des Apikaldendriten scheinen *Soma*-fern häufiger aufzutreten als derart *Soma*-nah, wie auch in Abbildung 3.5.2 Teil A ersichtlich. Hier diente trotz seines negativen Wertes Rad 30 als Referenz, um Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Alle anderen Rad bis auf

Rad 60 zeigten signifikant (Bonferroni-p-Wert < 0,001) mehr Endpunkte verglichen mit Rad 30.

Die Anzahl der pro Radienzone eines Neurons vorkommenden Endpunkte seines Apikaldendriten wurde im Mittel geschätzt für die verschiedenen LH und ist für die *Subpopulation* aller vollständigen Zellen aus der Abbildung 3.5.2 B abzulesen. Keine signifikanten Unterschiede der entsprechenden Radienzonen der jeweils anderen LH verglichen mit den Radienzonen von BB konnten gefunden werden.

Eine vergleichende Darstellung der Endpunktzahlen pro Radienzone eines Neurons für die verschiedenen GT ist für die *Subpopulation* aller vollständigen Neurone in der Abbildung 3.5.2 C zu finden. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Radien des WT und entsprechenden Radien der jeweils anderen GT ausgemacht werden, was die Anzahl der Endpunkte betraf.



## Mittlere Endpunktzahl des Apikaldendriten von Neuronen verschiedener Subpopulationen

Subpopulation der vollständigen, kleinen Neurone

Subpopulation der vollständigen Neurone aus den Subregionen pvd und pvm

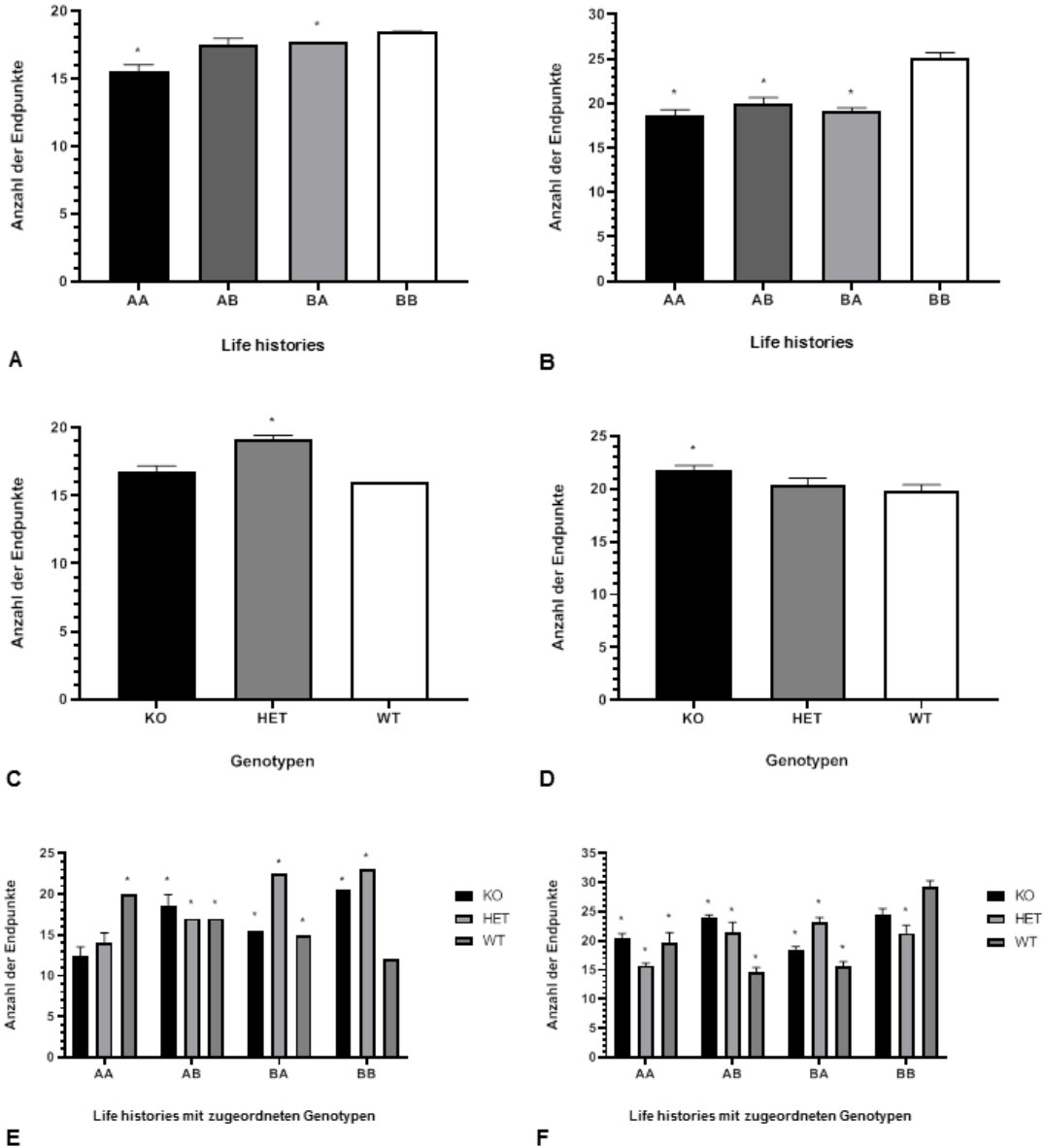
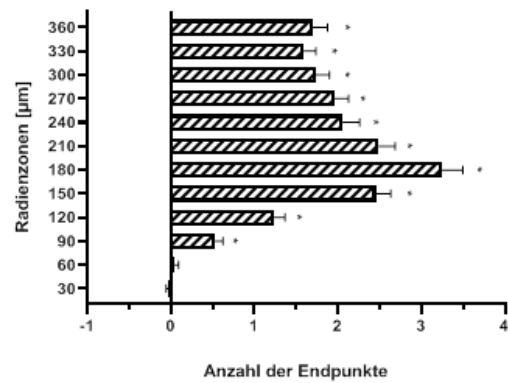


Abbildung 3.5.1

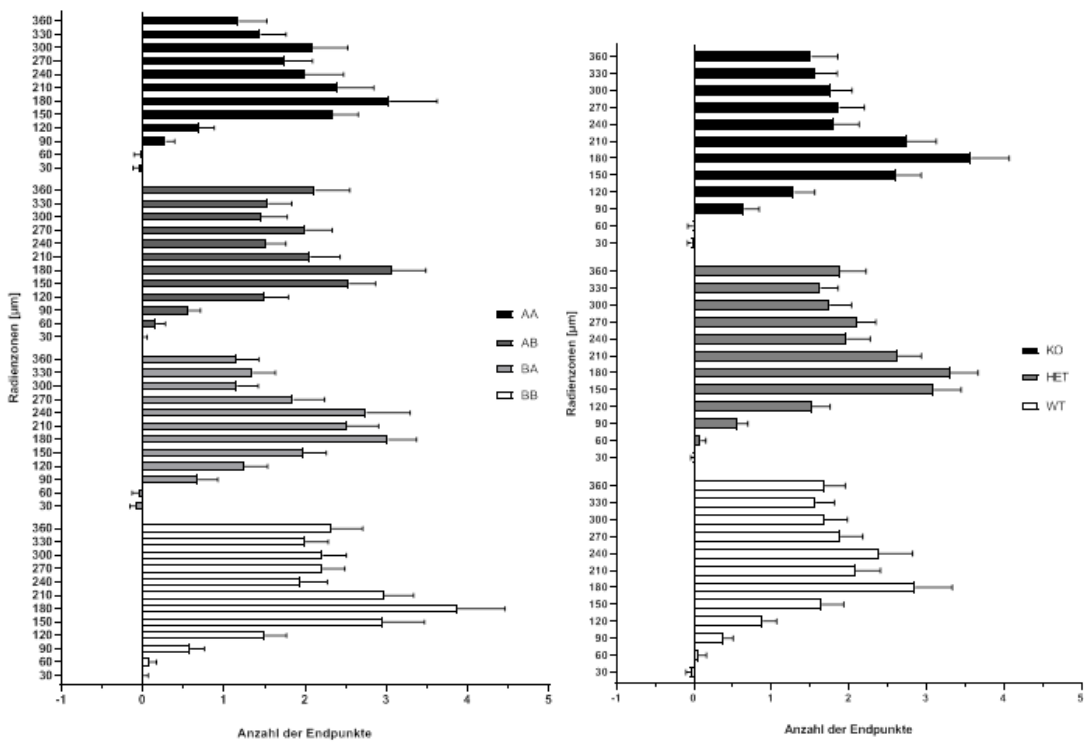
Mittlere Endpunktzahl des Apikaldendriten von Neuronen verschiedener Subpopulationen gruppiert nach Life history (A, B), Genotyp (C, D) oder Life history mit zugeordnetem Genotyp (E, F)

\* = Mittlere Differenz korrigiert nach Bonferroni auf dem 0,05-Niveau signifikant in Bezug zur Referenzgruppe BB bzw. WT oder zur Referenzsubgruppe BB\*WT; Querbalken über den Säulen zeigen den Standardfehler des Mittelwertes an; fehlende Abgrenzbarkeit eines Standardfehler-Balkens weist auf einen sehr kleinen Standardfehler hin. AA = frühe und späte Lebensphase mit widrigen Umständen; AB = frühe Lebensphase mit widrigen, späte Lebensphase mit wohlthuenden Umständen; BA = frühe Lebensphase mit wohlthuenden, späte Lebensphase mit widrigen Umständen; BB = frühe und späte Lebensphase mit wohlthuenden Umständen; HET = Heterozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; KO = Homozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; pvd = *dorsaler, posteroventraler* Anteil von *Cornu ammonis* 3; pvm = *mittiger, posteroventraler* Anteil von *Cornu ammonis* 3; WT = Homozygotie bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels.

**Mittlere Anzahl der Endpunkte pro Radienzone von Neuronen der Subpopulation aller vollständigen Neurone**



**A**



**B**

**C**

**Abbildung 3.5.2**

Mittlere Endpunktzahl pro Radienzone von Neuronen der Subpopulation aller vollständigen Neurone ohne weitere Einordnung (A) oder gruppiert nach Life history (B) oder Genotyp (C) in der Sholl-Analyse

\* = Mittlere Differenz korrigiert nach Bonferroni auf dem 0,05-Niveau signifikant in Bezug zum Referenz-Radius 30 µm; Längsbalken neben den Säulen zeigen den Standardfehler des Mittelwertes an.

AA = frühe und späte Lebensphase mit widrigen Umständen; AB = frühe Lebensphase mit widrigen, späte Lebensphase mit wohlthuenden Umständen; BA = frühe Lebensphase mit wohlthuenden, späte Lebensphase mit widrigen Umständen; BB = frühe und späte Lebensphase mit wohlthuenden Umständen; HET = Heterozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; KO = Homozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; WT = Homozygotie bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels.

### 3.6 Anzahl der Dornenfortsätze

Die im Mittel geschätzte Anzahl der Dornenfortsätze (im Folgenden *Spines*) am Apikaldendriten eines Neurons wurde in den *Subpopulationen* der vollständigen und relativ vollständigen, großen Neurone ab einschließlich 2700 µm Gesamtlänge ihres Apikaldendriten (Haupteffekt LH: p-Wert = 0,008; Haupteffekt GT: p-Wert < 0,001; Interaktion LH\*GT: p-Wert < 0,001) sowie der vollständigen, kleinen Neurone (alle p-Werte < 0,001) genauer untersucht, da für beide die Haupteffekte und die Interaktion signifikant waren. Sie wurden ausgewählt, da diese beiden *Subpopulationen* im Vergleich die vielversprechendsten Signifikanzen bezüglich Haupteffekten und Interaktion aufwiesen. Pro Neuron der *Subpopulation* der vollständigen und relativ vollständigen, großen Neurone ab einschließlich 2700 µm Gesamtlänge ihres Apikaldendriten fanden sich im Mittel für die Gruppe AA 2880 *Spines* am Apikaldendrit (SEM 190; 95 % Wald-KI 2507 - 3253), für AB 3731 *Spines* (SEM 240; 95 % Wald-KI 3260 - 4202), für BA 3257 *Spines* (SEM 149; 95 % Wald-KI 2966 - 3549) und für BB im Mittel pro Neuron 2772 *Spines* (SEM 204; 95 % Wald-KI 2371 - 3172). BB wies 960 *Spines* weniger auf als AB (SEM 316), die Gruppen unterschieden sich damit signifikant (Bonferroni-p-Wert = 0,014) voneinander (siehe Abbildung 3.6.1 A). Pro Neuron in der *Subpopulation* der vollständigen, kleinen Neurone traten im Mittel am Apikaldendrit in der LH-Gruppe AA 1547 *Spines* auf (SEM 68; 95 % Wald-KI 1413 - 1681), in der LH-Gruppe AB 1607 *Spines* (SEM 74; 95 % Wald-KI 1462 - 1752), in der LH-Gruppe BA 1862 *Spines* (SEM < 0,1; 95 % Wald-KI 1862 - 1863) und in der LH-Gruppe BB im Mittel 1875 *Spines* (SEM < 0,1; 95 % Wald-KI 1875 - 1875). BB wies damit signifikant mehr *Spines* auf als AA (Mittlere Differenz BB – AA = 329; SEM 68; Bonferroni-p-Wert < 0,001), AB (Mittlere Differenz BB – AB = 268; SEM 74; Bonferroni-p-Wert = 0,002) und BA (Mittlere Differenz BB – BA = 13; SEM < 0,1; Bonferroni-p-Wert < 0,001) jeweils im Vergleich zu BB (siehe Teil B in Abbildung 3.6.1).

Die *Subpopulation* der vollständigen und relativ vollständigen, großen Neurone ab einschließlich 2700 µm Gesamtlänge ihres Apikaldendriten brachte beim GT KO im Mittel geschätzt 2823 *Spines* pro Neuron hervor (SEM 211; 95 % Wald-KI 2410 - 3235), beim GT HET 3724 *Spines* (SEM 182, 95 % Wald-KI 3368 - 4080) und beim WT im Mittel 2933 *Spines* (SEM 107; 95 % Wald-KI 2723 - 3143). Ein signifikanter (Bonferroni-p-Wert = 0,001) Unterschied zu WT zeigte sich für HET, dessen Neurone im Mittel 791 *Spines* mehr besaßen (SEM 211) als die des WT (siehe Abbildung 3.6.1 C).

Vollständige, kleine Neurone hatten im Mittel geschätzt pro Neuron an ihrem Apikaldendriten in der GT-Gruppe KO 1642 *Spines* (SEM 64; 95 % Wald-KI 1515 - 1768), in der GT-Gruppe HET 1659 *Spines* (SEM 40; 95 % Wald-KI 1582 - 1737) sowie in der Gruppe WT, die wieder als Referenz diente, 1868 *Spines* (SEM < 0,1; 95 % Wald-KI 1868 - 1868). Zur Referenzgruppe WT zeigten sowohl KO (Mittlere Differenz WT – KO = 226; SEM 64; Bonferroni-p-Wert = 0,001) als auch HET (Mittlere Differenz WT – HET = 209; SEM 40; Bonferroni-p-Wert < 0,001) signifikante Unterschiede von in beiden Fällen einer geringeren *Spine*-Zahl als WT (siehe D in Abbildung 3.6.1).

Die *Subpopulation* der vollständigen und relativ vollständigen, großen Neurone ab einschließlich 2700 µm Gesamtlänge ihres Apikaldendriten zeigte im Mittel pro Neuron an dessen Apikaldendrit in der Referenzsubgruppe BB\*WT 2024 *Spines* (SEM 51; 95 % Wald-KI 1924 - 2124). Die Subgruppen AA\*HET, AB\*HET, AB\*WT, BA\*KO und BA\*WT unterschieden sich, mit einheitlich mehr *Spines* als die Referenzsubgruppe BB\*WT aufwies, signifikant (Bonferroni-p-Wert < 0,001) von dieser (siehe E in Abbildung 3.6.1). BB\*HET repräsentierte mit einem Bonferroni-p-Wert von 0,071 lediglich eine Tendenz in dieselbe Richtung (Mittlere Differenz BB\*WT – BB\*HET = -1993; SEM 609). Der Apikaldendrit eines Neurons der Referenzsubgruppe BB\*WT aus der *Subpopulation* der vollständigen, kleinen Neurone wies im Mittel geschätzt 1816 *Spines* auf (SEM < 0,1; 95 % Wald-KI 1816 - 1816). Bis auf die beiden Subgruppen AA\*KO und AB\*KO zeigten sich alle anderen Subgruppen in ihrer *Spine*-Anzahl jeweils signifikant (alle Bonferroni-p-Werte < 0,001, außer AA\*HET mit Bonferroni-p-Wert = 0,005) verschieden zu BB\*WT. Davon zeigten AA\*HET, AA\*WT, AB\*HET sowie BA\*KO jeweils geringere *Spine*-Zahlen als BB\*WT, während AB\*WT, BA\*HET, BA\*WT, BB\*KO und BB\*HET jeweils höhere *Spine*-Zahlen als BB\*WT aufwiesen (siehe Abbildung 3.6.1 F).

Außer dem Faktor GT zeigten sich alle Faktoren LH (p-Wert = 0,034) und Rad (p-Wert < 0,001) sowie alle Interaktionen zwischen LH und GT (p-Wert = 0,006), LH und Rad (p-Wert < 0,001) und GT und Rad (p-Wert = 0,041) signifikant bezüglich der *Spine*-Zahl pro Radienstufe eines Neurons aus der *Subpopulation* der vollständigen und relativ vollständigen Neurone der Subregionen pvd und pvm. Die im Mittel geschätzten *Spine*-Zahlen pro Radienzone des Apikaldendriten eines Neurons werden in Teil A der Abbildung 3.6.2 für die Betrachtung des Faktors Rad dargestellt. Die Radienzone 30 µm besaß im Mittel geschätzt - 33 *Spines* (SEM 18,9; 95 % Wald-KI - 70 - 4) und wurde als Referenz der Signifikanzbetrachtung jeweils mit den anderen Rad

abgeglichen, um die Vergleichbarkeit zu wahren, auch wenn, wie in diesem Fall, der Wert negativ ausfiel. Das Schätzermodell kann die fehlende Sinnhaftigkeit negativer Werte bezüglich *Spine*-Zahlen nicht wahrnehmen. Sie sind also eher als geringe positive Werte zu interpretieren, wie sie auch im KI beinhaltet sind. Alle Rad 60 - 360 verglichen jeweils mit Rad 30 unterschieden sich mit einer im Mittel signifikant (Bonferroni-p-Wert < 0,001) höheren *Spine*-Zahl von der Referenz.

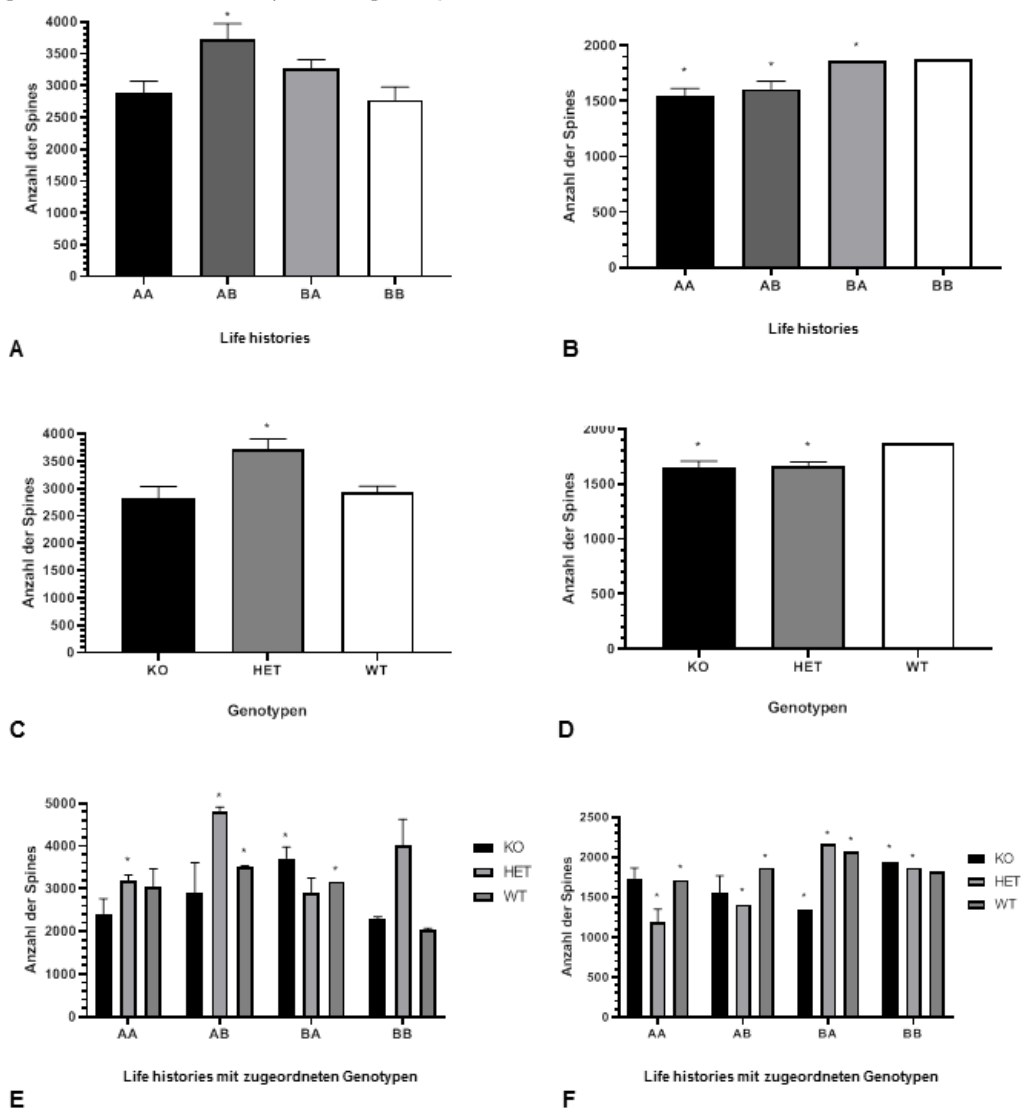
Für die *Subpopulation* der vollständigen und relativ vollständigen Neurone aus den Subregionen pvd und pvm wird die mittlere geschätzte Anzahl der *Spines* am Apikaldendriten des Neurons pro Radienzonen für die verschiedenen LH in der Abbildung 3.6.2 Teil B angegeben. Es waren keine signifikanten Unterschiede der *Spine*-Anzahl zwischen BB und jeweils der entsprechenden Radienzonen einer der anderen LH festzustellen.

Die im Mittel geschätzte Anzahl der *Spines* pro Radienzonen eines Neurons aus der *Subpopulation* der vollständigen und relativ vollständigen Neurone aus den Subregionen pvd und pvm für die unterschiedlichen GT-Gruppen ist der Abbildung 3.6.2 C zu entnehmen. Im Vergleich der Radien von WT mit den entsprechenden Radien der jeweils anderen GT tauchten keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der *Spine*-Zahl auf.

### Mittlere Gesamtzahl der Spines von Neuronen verschiedener Subpopulationen

Subpopulation der vollständigen und relativ vollständigen, großen Neurone ab einschließlich 2700 µm Gesamtlänge des Apikaldendriten

Subpopulation der vollständigen, kleinen Neurone

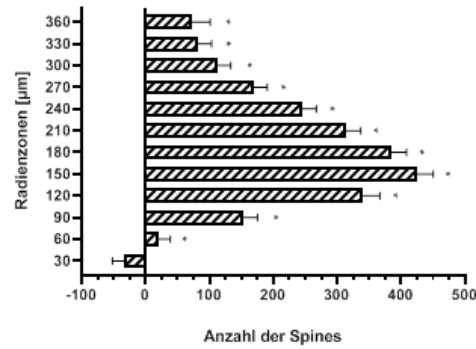


**Abbildung 3.6.1**

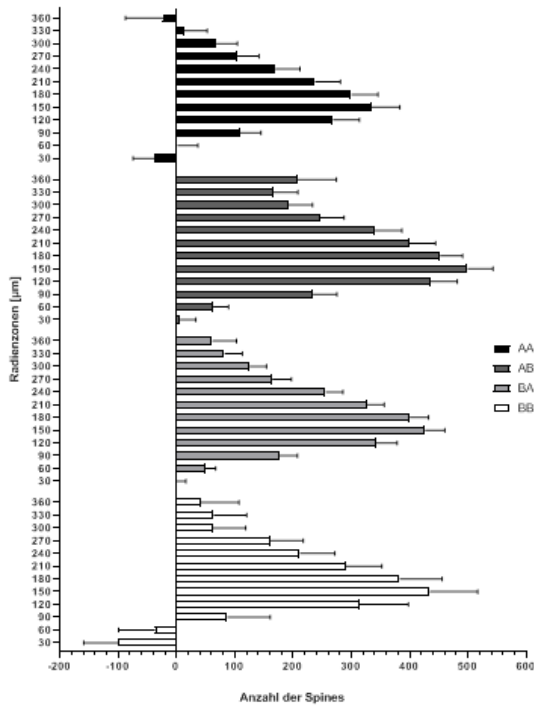
Mittlere Gesamtzahl der Spines von Neuronen verschiedener Subpopulationen gruppiert nach Life history (A, B), Genotyp (C, D) oder Life history mit zugeordnetem Genotyp (E, F)

\* = Mittlere Differenz korrigiert nach Bonferroni auf dem 0,05-Niveau signifikant in Bezug zur Referenzgruppe BB bzw. WT oder zur Referenzsubgruppe BB\*WT; Querbalken über den Säulen zeigen den Standardfehler des Mittelwertes an; fehlende Abgrenzbarkeit eines Standardfehler-Balkens weist auf einen sehr kleinen Standardfehler hin.  
 AA = frühe und späte Lebensphase mit widrigen Umständen; AB = frühe Lebensphase mit widrigen, späte Lebensphase mit wohlthuenden Umständen; BA = frühe Lebensphase mit wohlthuenden, späte Lebensphase mit widrigen Umständen; BB = frühe und späte Lebensphase mit wohlthuenden Umständen; HET = Heterozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; KO = Homozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; WT = Homozygotie bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels.

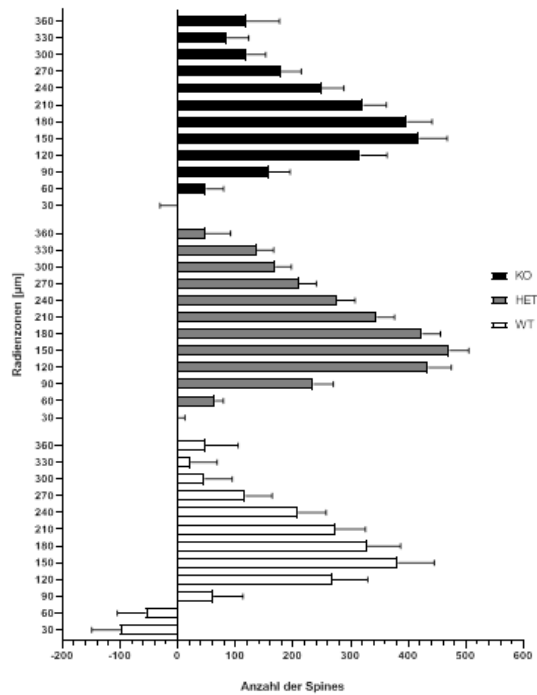
**Mittlere Anzahl der Spines pro Radienzone von vollständigen und relativ vollständigen Neuronen der Subregionen pvd und pvm**



**A**



**B**



**C**

**Abbildung 3.6.2**

Mittlere Anzahl der Spines pro Radienzone von vollständigen und relativ vollständigen Neuronen der Subregionen pvd und pvm ohne weitere Einordnung (A) oder gruppiert nach Life history (B) oder Genotyp (C) in der Sholl-Analyse

\* = Mittlere Differenz korrigiert nach Bonferroni auf dem 0,05-Niveau signifikant in Bezug zum Referenz-Radius 30 µm; Längsbalken neben den Säulen zeigen den Standardfehler des Mittelwertes an. AA = frühe und späte Lebensphase mit widrigen Umständen; AB = frühe Lebensphase mit widrigen, späte Lebensphase mit wohlthuenden Umständen; BA = frühe Lebensphase mit wohlthuenden, späte Lebensphase mit widrigen Umständen; BB = frühe und späte Lebensphase mit wohlthuenden Umständen; HET = Heterozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; KO = Homozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; pvd = *dorsaler, posteroventraler* Anteil von *Cornu ammonis* 3; pvm = *mittiger, posteroventraler* Anteil von *Cornu ammonis* 3; WT = Homozygotie bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels.

### 3.7 Dichte der Dornenfortsätze

Die Dichte der Dornenfortsätze (im Folgenden *Spine*-Dichte) wurde aus der Gesamtzahl der *Spines* bezogen auf die gesamte Länge des Apikaldendriten berechnet und wird als *Spines* pro Mikrometer Länge des Apikaldendriten angegeben. Mithilfe von verallgemeinerten Schätzungsgleichungen konnten signifikante Haupteffekte von LH (p-Wert = 0,001) sowie GT (p-Wert = 0,049) und ebenso eine signifikante Interaktion aus LH und GT (p-Wert = 0,007) betreffend die geschätzte mittlere Dichte der Dornenfortsätze pro Mikrometer Länge des Apikaldendriten eines Neurons aus der *Subpopulation* der gesamten vollständigen und relativ vollständigen Neurone ausgemacht werden. Im Mittel geschätzt fand sich bei einem Neuron der LH-Gruppe AA eine *Spine*-Dichte von 0,762 *Spines* / Mikrometer (SEM 0,112 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ; 95%-Wald-KI 0,542 – 0,981 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ), bei der Gruppe AB 0,788 *Spines* /  $\mu\text{m}$  (SEM 0,040 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ; 95%-Wald-KI 0,709 – 0,867 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ), bei BA 1,055 *Spines* /  $\mu\text{m}$  (SEM 0,063 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ; 95%-Wald-KI 0,931 – 1,179 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ) und innerhalb der Gruppe BB 0,953 *Spines* /  $\mu\text{m}$  (SEM 0,053 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ; 95%-Wald-KI 0,849 – 1,056 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ). Es zeigten sich im Vergleich der anderen LH-Gruppen mit BB keine signifikanten Unterschiede, lediglich eine Tendenz bei der Gruppe AB war erkennbar, die bei einem Bonferroni-p-Wert von 0,079 eine im Mittel um 0,164 *Spines* /  $\mu\text{m}$  (SEM 0,066 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ) geringere *Spine*-Dichte pro Neuron aufwies (siehe Abbildung 3.7.1 A).

Die Gruppierung der *Spine*-Dichte nach GT zeigte im Mittel geschätzt pro Neuron der Gruppe KO einen Wert von 0,805 *Spines* /  $\mu\text{m}$  (SEM 0,034 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ; 95 % Wald-KI 0,738 – 0,872 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ), für HET 0,930 *Spines* /  $\mu\text{m}$  (SEM 0,093 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ; 95 % Wald-KI 0,747 – 1,113 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ) und für WT 0,933 *Spines* /  $\mu\text{m}$  (SEM 0,043 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ; 95 % Wald-KI 0,849 – 1,018 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ). Zur Referenzgruppe WT zeigte sich bei keiner der anderen Gruppen ein signifikanter Unterschied der *Spine*-Dichte, jedoch war bei der Gruppe KO ein Trend (Bonferroni-p-Wert 0,060) zu erkennen. KO hatte eine um 0,129 geringere mittlere *Spine*-Dichte (SEM 0,055 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ) (siehe B Abbildung 3.7.1).

Innerhalb der Subgruppierungen aus Kombinationen verschiedener LH und GT erreichte die Referenzgruppe BB\*WT eine mittlere *Spine*-Dichte von 0,874 *Spines* /  $\mu\text{m}$  (SEM 0,069 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ; 95 % Wald-KI 0,739 – 1,008 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ). Die Werte der anderen Subgruppen können der Abbildung 3.7.1 Teil C entnommen werden. Keiner dieser anderen Subgruppen konnte ein signifikanter Unterschied zu BB\*WT nachgewiesen werden.

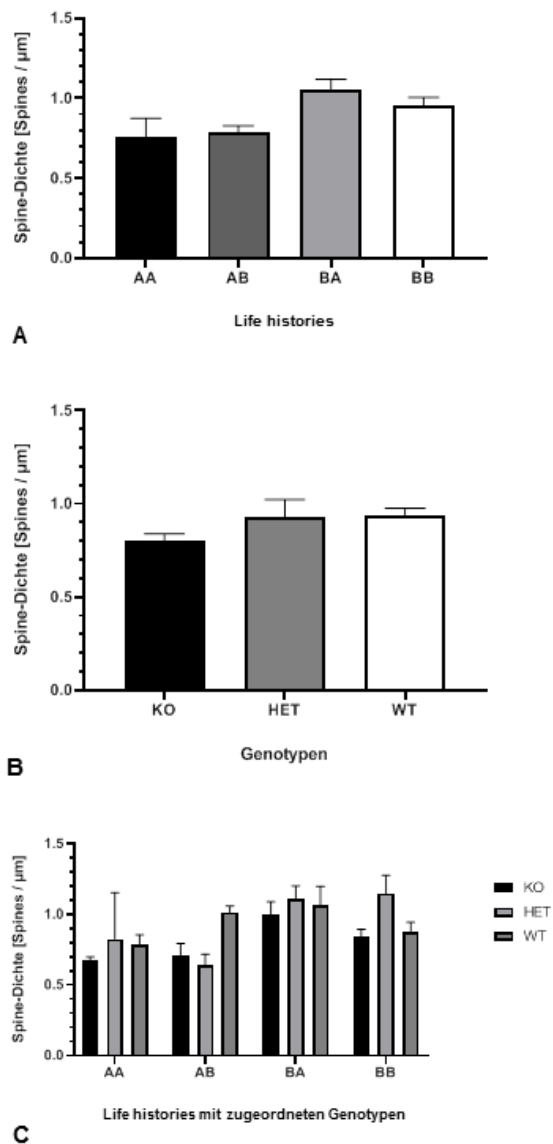


Um die *Spine*-Dichte einer bestimmten Radienzzone zu erhalten, wurde die *Spine*-Zahl innerhalb des Rad pro Apikaldendritenlänge innerhalb desselben Rad ins Verhältnis gesetzt. Für die Variable *Spine*-Dichte pro Radienzzone wurden signifikante Haupteffekte von LH (p-Wert = 0,049) sowie Rad (p-Wert < 0,001) und signifikante Interaktionen aus LH und Rad (p-Wert < 0,001) sowie GT und Rad (p-Wert = 0,012) für die *Subpopulation* vollständiger und relativ vollständiger Neurone der Subregionen pvd und pvm nachgewiesen, während keine Signifikanz des Faktors GT sowie der Interaktion LH und GT bestand. Die Radienzzone 30  $\mu\text{m}$  wies bei Betrachtung des Haupteffektes Rad eine geschätzte mittlere *Spine*-Dichte von 0,193 *Spines* /  $\mu\text{m}$  (SEM 0,028 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ; 95 % Wald-KI 0,139 – 0,247 *Spines* /  $\mu\text{m}$ ) auf. Damit besaß Rad 30 eine im Mittel signifikant (Bonferroni-p-Wert < 0,001) geringere *Spine*-Dichte als die anderen Rad 60 - 360 jeweils im Vergleich mit Rad 30 (siehe Abbildung 3.7.2 A).

Die in der *Subpopulation* der vollständigen und relativ vollständigen Neurone aus den Subregionen pvd und pvm für die verschiedenen LH im Mittel geschätzten Werte bezüglich *Spine*-Dichte pro Rad pro Neuron sind in Teil B der Abbildung 3.7.2 zu finden. Keine signifikanten Unterschiede der *Spine*-Dichte einer Radienzzone von BB verglichen mit der entsprechenden Radienzzone jeweils einer der anderen LH konnten gefunden werden.

Die *Spine*-Dichte pro Rad eines Neurons wird für verschiedene GT in der *Subpopulation* der vollständigen und relativ vollständigen Neurone aus den Subregionen pvd und pvm in der Abbildung 3.7.2 Teil C dargestellt. Signifikante Unterschiede der *Spine*-Dichte eines Rad von WT im Vergleich zum entsprechenden Rad jeweils eines der anderen GT konnten nicht gefunden werden.

**Mittlere Spine-Dichte von Neuronen der Subpopulation der vollständigen und relativ vollständigen Neurone**



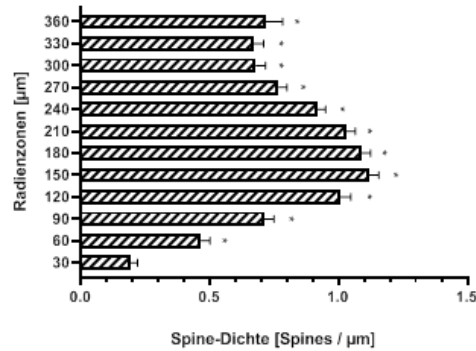
**Abbildung 3.7.1**

Mittlere Spine-Dichte von Neuronen der Subpopulation der vollständigen und relativ vollständigen Neurone gruppiert nach Life history (A), Genotyp (B) oder Life history mit zugeordnetem Genotyp (C)

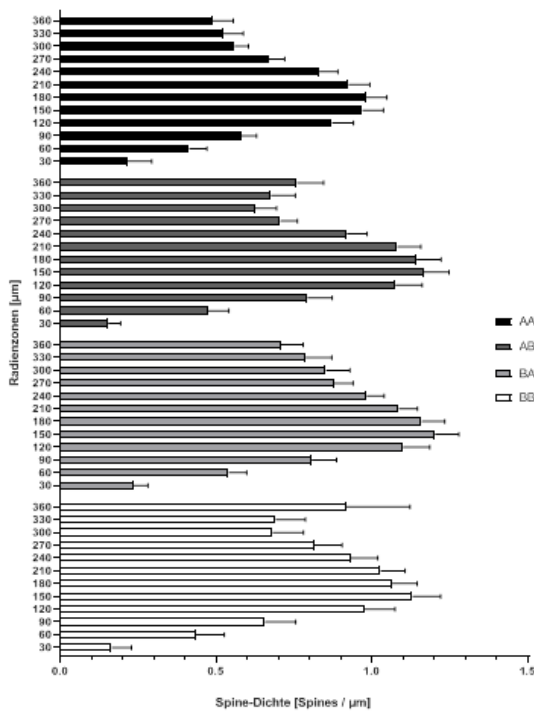
Querbalken über den Säulen zeigen den Standardfehler des Mittelwertes an.

AA = frühe und späte Lebensphase mit widrigen Umständen; AB = frühe Lebensphase mit widrigen, späte Lebensphase mit wohltuenden Umständen; BA = frühe Lebensphase mit wohltuenden, späte Lebensphase mit widrigen Umständen; BB = frühe und späte Lebensphase mit wohltuenden Umständen; HET = Heterozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; KO = Homozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels; WT = Homozygotie bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels.

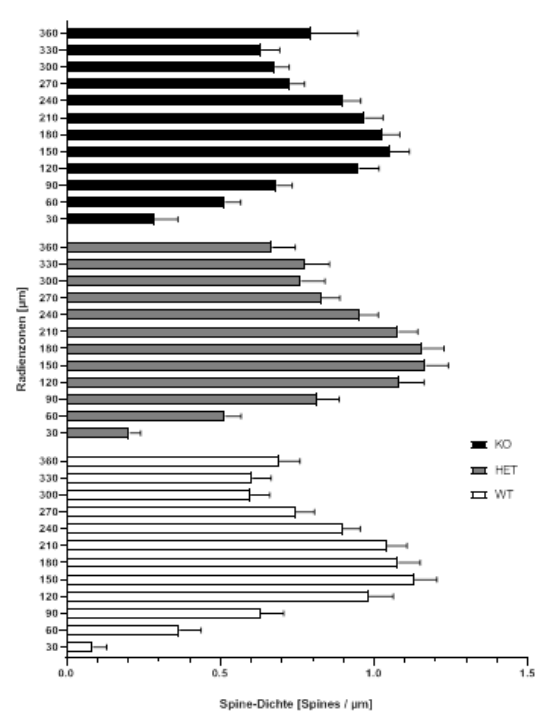
**Mittlere Spine-Dichte pro Radienzzone von vollständigen und relativ vollständigen Neuronen der Subregionen pvd und pvm**



A



B



C

**Abbildung 3.7.2**

Mittlere Spine-Dichte pro Radienzzone von vollständigen und relativ vollständigen Neuronen der Subregionen pvd und pvm ohne weitere Einordnung (A) oder gruppiert nach Life history (B) oder Genotyp (C) in der Sholl-Analyse

\* = Mittlere Differenz korrigiert nach Bonferroni auf dem 0,05-Niveau signifikant in Bezug zum Referenz-Radius 30 µm; Längsbalken neben den Säulen zeigen den Standardfehler des Mittelwertes an.

AA = frühe und späte Lebensphase mit widrigen Umständen; AB = frühe Lebensphase mit widrigen, späte Lebensphase mit wohltuenden Umständen; BA = frühe Lebensphase mit wohltuenden, späte Lebensphase mit widrigen Umständen; BB = frühe und späte Lebensphase mit wohltuenden Umständen; HET = Heterozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-Knockout-Allels; KO = Homozygotie bezüglich des Serotonin-Transporter-Knockout-Allels; pvd = dorsaler, posteroventraler Anteil von *Cornu ammonis* 3; pvm = mittlerer, posteroventraler Anteil von *Cornu ammonis* 3; WT = Homozygotie bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels.

## 4 Diskussion

Sowohl durch die verschiedenen Lebensgeschichten (im Folgenden *Life histories*) als auch durch die unterschiedlichen Genotypen der Mäuse wurde die Morphologie der Apikaldendriten von Kurzschaft-Pyramidenzellen in *Cornu ammonis* 3 (= CA3) des *posteriores Hippocampus* nachweislich beeinflusst. Dies konnte umfassend für die Variablen Länge, Verzweigungspunkte (im Folgenden *Nodes*), Endpunkte und Dornenfortsätze (im Folgenden *Spines*) sowie mit Einschränkungen (nicht bezüglich des Genotyps) auch für die *Node*-Dichte gezeigt werden. Bereits im Ergebnisteil beschränke ich mich auf die interessantesten, nach Haupteffekten beziehungsweise Interaktionen signifikanten Ergebnisse einiger *Subpopulationen*, sodass auch nur diese in die Diskussion einfließen. Im Vergleich zur *Life history*-Gruppe BB (B = wohltuende Lebensumstände) zeigte BA (A = widrige Lebensumstände) im Mittel signifikant längere Apikaldendriten. Unabhängig von ihrer *Life history* wiesen sowohl Neurone von - bezüglich des Serotonin-Transporter-*Knockout*-Allels - homozygoten (= KO) als auch heterozygoten Mäusen (= HET) im Vergleich zu Neuronen von Mäusen homozygot bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels (= WT) im Mittel signifikant kürzere Apikaldendriten auf. Verglichen mit der Referenzsubgruppe BB\*WT zeigten sich zu allen Subgruppen, außer zu AA\*KO und AB\*KO, signifikante Unterschiede der mittleren Apikaldendriten-Gesamtlänge pro Neuron. BB\*WT wies signifikant kürzere Apikaldendriten auf als BB\*HET, BB\*KO, BA\*WT, BA\*HET, AB\*WT, AB\*HET sowie AA\*WT und signifikant längere Apikaldendriten als BA\*KO sowie AA\*HET. In beiden untersuchten *Subpopulationen* hatten BA und AA signifikant weniger *Nodes* als BB. Die Neurone von WT-Mäusen wiesen je nach *Subpopulation* signifikant weniger *Nodes* auf als Neurone von HET- beziehungsweise KO-Mäusen. Je nach untersuchter *Subpopulation* verschieden zeigten sich die Subgruppenvergleiche: BB\*WT war in einem Fall (vollständige, kleine Neurone) überwiegend signifikant, weniger verzweigt und im anderen Fall (vollständige Neurone aus den Subregionen pvd und pvm) signifikant verzweigter als alle anderen Subgruppen. Sowohl AA als auch AB und BA besaßen im Mittel eine signifikant höhere *Node*-Dichte als BB. Für den Vergleich von KO und HET mit WT ergaben sich jedoch keine signifikanten Unterschiede. Die Referenzsubgruppe BB\*WT unterschied sich signifikant von einigen anderen Subgruppen. Meist wies BB\*WT in diesen Fällen eine signifikant geringere *Node*-Dichte auf als die anderen Subgruppen; nur im Fall von BB\*HET fand sich eine im Vergleich signifikant größere mittlere *Node*-Dichte von BB\*WT. Die Endpunkte wurden erneut in zwei verschiedenen *Subpopulationen* untersucht. BA und AA hatten in beiden

*Subpopulationen* zu BB im Mittel signifikant weniger Endpunkte. HET (vollständige, kleine Neurone) beziehungsweise KO (vollständige Neurone aus pvd und pvm) hatten signifikant mehr Endpunkte als WT. Bei den vollständigen, kleinen Neuronen hatte die Referenzsubgruppe BB\*WT signifikant weniger Endpunkte als die meisten anderen Subgruppen, außer AA\*HET und AA\*KO, für die sich keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu BB\*WT zeigten. Ganz anders enthielt BB\*WT bei den vollständigen Neuronen aus pvd und pvm signifikant mehr Endpunkte als fast alle anderen Subgruppen, außer BB\*KO knapp ohne Signifikanz. Dies stellt eine logische Parallele zu den Subgruppenvergleichen bezüglich der Nodes dar (siehe oben). Auch die im Mittel geschätzte Anzahl der *Spines* am Apikaldendriten wurde in zwei verschiedenen *Subpopulationen* (vollständige und relativ vollständige, große Neurone ab einschließlich 2700 µm Gesamtlänge ihres Apikaldendriten sowie vollständige, kleine Neurone) untersucht. Erstere *Subpopulation* zeigte für AB und HET zur jeweiligen Referenz BB beziehungsweise WT signifikant mehr *Spines*, während die nachfolgende *Subpopulation* für alle *Life history*- und Genotyp-Gruppen zur Referenz signifikant geringere *Spine*-Zahlen zeigte. Die Subgruppen verhielten sich in beiden *Subpopulationen* ebenfalls unterschiedlich. AA\*HET, AB\*HET, AB\*WT, BA\*KO und BA\*WT unterschieden sich, mit einheitlich mehr *Spines* als die Referenzsubgruppe BB\*WT aufwies, signifikant von dieser (vollständige und relativ vollständige, große Neurone). Bei den vollständigen, kleinen Neuronen zeigten sich bis auf die beiden Subgruppen AA\*KO und AB\*KO alle anderen Subgruppen in ihrer *Spine*-Anzahl jeweils signifikant verschieden zu BB\*WT. Davon zeigten AA\*HET, AA\*WT, AB\*HET sowie BA\*KO jeweils geringere *Spine*-Zahlen als BB\*WT, während AB\*WT, BA\*HET, BA\*WT, BB\*KO und BB\*HET jeweils höhere *Spine*-Zahlen als BB\*WT aufwiesen. Bezüglich der *Spine*-Dichte zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den *Life history*- oder Genotyp-Gruppen oder deren Kombinationen. Die nach *Life history* oder Genotyp gruppierten Ergebnisse aus den Sholl-Analysen verfehlten jeweils die Signifikanz. Im Folgenden werden die einzelnen *Subpopulationen*, auf die Bezug genommen wird, nicht mehr wiederholt namentlich genannt, da das Aufteilen der Neurone in *Subpopulationen* nur dazu dient, mögliche Veränderungen einzelner Variablen deutlicher hervorzuheben, nicht aber der eigentliche Gegenstand der Untersuchung ist. Für die eindeutige Zuordnung siehe obige Zusammenfassung der Ergebnisse beziehungsweise den Ergebnisteil (Kapitel 3).

#### 4.1 Diskussion der Ergebnisse

Aktuelle Studien zum Thema „Veränderungen neuronaler Morphologie und neuronaler Plastizität unter Stresseinwirkung abhängig von der subjektiven Suszeptibilität für diese Einflüsse“ konnten für CA3-Pyramidenzellen ebenfalls verschiedene Veränderungen feststellen. Unter anderem konnte in CA3 eine signifikant reduzierte *Spine*-Dichte innerhalb einer als Stress-empfindlich eingestuften Gruppe männlicher Mäuse im Vergleich zu einer als resilient eingestuften Gruppe auf Stress durch soziale Niederlagen hin festgestellt werden (Qu, Yang et al. 2018). Bei männlichen Ratten, die ein- oder mehrmalig Stress durch soziale Niederlagen erfuhren, verloren die Apikaldendriten von CA3-Pyramidenzellen an Länge (Kole, Costoli et al. 2004). Soziale Niederlagen finden sich auch in den Vorgeschichten von den in dieser Arbeit verwendeten Mäusen der *Life histories* AA, AB und BA (siehe Material und Methoden). Hier zeigte sich konträr zu den bisher geschilderten Ergebnissen anderer Arbeiten, dass BA, also Neurone von Mäusen mit Erfahrung in sozialer Niederlage, sogar signifikant längere Apikaldendriten besaßen als Neurone von Mäusen ohne Stresserleben. Dies passt gut zu den von Frau Bodden erhobenen Ergebnissen aus Verhaltenstests von BA-Mäusen (Bodden, Richter et al. 2015), auf die ich noch zu sprechen komme. Psychosozialer Stress und stark fettreiche Ernährung führten bei männlichen Ratten zu kürzeren und weniger verzweigten Apikaldendriten in CA3-Pyramidenzellen (Baran, Campbell et al. 2005). Chronischer psychosozialer Stress aufgrund hierarchischer Strukturen schaffte es, bei den dominierenden männlichen Ratten die Länge und Verzweigungspunkte des Apikaldendriten von CA3-Pyramidenzellen zu reduzieren, bei den niedriger gestellten Ratten hingegen fand sich nur die Verzweigung verringert (McKittrick, Magarinos et al. 2000). Sowohl bei Tieren an der Spitze als auch an der Basis der Hierarchie konnte unter anderem im Stratum radiatum, innerhalb dessen die Apikaldendriten der CA3-Pyramidenzellen lokalisiert sind, weniger Serotonin-Transporter (= SERT) - Protein nachgewiesen werden (McKittrick, Magarinos et al. 2000). Unabhängig vom Stresserleben – also der *Life history* – schien auch bei den von mir untersuchten Mäusegehirnen die vom Genotyp abhängige, jeweils unterschiedliche SERT-Verfügbarkeit einen großen Einfluss auf die Apikaldendritengesamtlänge auszuüben, denn KO- und HET-Apikaldendriten waren jeweils signifikant kürzer als die des WT. Wiederum andersartiger Stress, in diesem Fall chronischer Stress aufgrund von Immobilisation, führte in CA3 männlicher Mäuse zu einer Verkürzung der Dendriten von Kurzschafft-Pyramidenzellen, dies insbesondere am *ventralen* Pol des *Hippocampus* (Christian, Miracle et al. 2011). Auch in

männlichen Ratten unter Stress durch chronische Mobilitätsbeschränkung verringerte sich die Länge und darüber hinaus die Verzweigung der Apikaldendriten in CA3 (McLaughlin, Gomez et al. 2007). Eine andere Gruppe männlicher Ratten, die unter chronischem Stress durch Immobilisation litten, büßte ebenso unter anderem Apikaldendritenlänge und -verzweigungspunkte ihrer Kurzschaff-Neurone ein, wohingegen diejenigen Ratten, die chronischen, aber unvorhersehbaren, da verschiedenartigen Stress erfuhren, kaum Veränderungen ihrer CA3-Pyramidenzellen unterlagen (Vyas, Mitra et al. 2002). Weibliche Ratten hatten, vergleichbar zu den Erfahrungen mit Männchen, nach mehrfacher Stresserfahrung aufgrund eingeschränkter Mobilität an CA3-Pyramidenzellen sowohl signifikant kürzere als auch weniger verzweigte Apikaldendriten (Pawluski, Valenca et al. 2012). Sowohl männliche als auch weibliche Ratten zeigten nach *pränatalem* Stress, wie ihn auch die in dieser Arbeit verwendeten Mäuse der *Life histories* AA und AB erfuhren, in CA3-Pyramidenzellen kürzere Dendriten geringerer Komplexität (Bock, Murmu et al. 2011). CA3-Pyramidenzellen männlicher Ratten, die *pränatal* Stress erfahren hatten, besaßen signifikant kürzere Dendriten sowie weniger *Intersections* (Hosseini-Sharifabad and Hadinedoushan 2007). Weiterhin fand sich in CA3-Pyramidenzellen männlicher Ratten eine signifikant reduzierte *Spine*-Dichte nach *pränatalem* Stresserleben (Martinez-Tellez, Hernandez-Torres et al. 2009). Eine verringerte *Spine*-Dichte konnte ebenso an den Apikaldendriten von Pyramidenzellen der CA3-Region *pränatal* gestresster, männlicher Mäuse ausgemacht werden (Ishiwata, Shiga et al. 2005). Auch in meiner Arbeit konnte sich eine - nicht signifikante - Tendenz zu geringeren *Spine*-Dichten der ebenfalls *pränatal* gestressten Mäuse von AA und AB im Vergleich zu BB andeuten. Es ist also ersichtlich, dass trotz verschiedenartigen Stresses ähnliche morphologische Veränderungen besonders der Apikaldendriten von CA3-Pyramidenzellen in der Folge mehrheitlich vorzukommen scheinen. Bei diesen Veränderungen handelt es sich vorrangig um eine reduzierte *Spine*-Dichte, reduzierte Dendritenlänge sowie verringerte Verzweigungen der Pyramidenzellen in CA3. Weitere Studienergebnisse sind bereits unter Kapitel 2.4 erläutert und werden in einer umfassenden Übersicht beispielsweise von Qiao *et al.* dargestellt (Qiao, Li et al. 2016). Bezüglich der *Spine*-Dichte zeigten sich, anders als in den zuvor beschriebenen Arbeiten, zwischen meinen *Life history*- oder Genotyp-Gruppen oder deren Kombinationen keine signifikanten Unterschiede. Die absoluten *Spine*-Zahlen deuteten jedoch zumindest in einer der untersuchten *Subpopulationen* (vollständige, kleine Neurone) darauf hin, dass diese durch Stress signifikant reduziert werden könnten. In Übereinstimmung zu den anderen

genannten Arbeiten (siehe oben) zeigten sich auch Neurone meiner gestressten Mäuse überwiegend signifikant weniger verzweigt. Darüber hinaus präsentierte sich in meinen Ergebnissen, wie zuvor bereits kurz geschildert, die Apikaldendritenlänge der CA3-Pyramidenzellen von BA insgesamt signifikant höher als die von BB ohne signifikante Veränderungen der Gruppen AA und AB. Das bedeutet, dass die Stress-Gruppen (AA, AB, BA) nicht wie aufgrund anderer Studienergebnisse hätte vermutet werden können, insgesamt kürzere Apikaldendriten aufwiesen, sondern sich entweder nicht signifikant zu BB veränderten oder sogar im Vergleich zur nicht-gestressten Gruppe BB wie im Fall von BA mit insgesamt signifikant längeren Apikaldendriten reagierten. Interessanterweise zeigten sich BA-Mäuse in Verhaltenstests neugieriger und weniger ängstlich als Mäuse der *Life histories* AA, AB und teils sogar der *Life history* BB (Bodden, Richter et al. 2015), was gut zu der von mir beobachteten Morphologie passt und worauf später noch genauer eingegangen wird. Bei Betrachtung der verschiedenen Genotypen fiel auf, dass sowohl KO als auch HET, also die Gruppen ohne oder mit weniger verfügbarem SERT, signifikant kürzere Apikaldendriten aufwiesen als CA3-Pyramidenzellen von Mäusen des WT. Dies könnte dafür sprechen, dass Serotonin in die Regulation der Neuronenmorphologie eingreift und eine gewisse Transportkapazität über SERT notwendig für die Erhaltung einer normalen Dendritenlänge ist. Dafür sprechen auch einige Untersuchungsergebnisse in der nachfolgend genannten Literatur, wobei Stress-Einflüsse natürlich nicht nur das Serotonin-System betreffen. Sie erreichen noch viele weitere Regulationssysteme des Körpers, deren Ineinandergreifen im Folgenden zur Übersicht gebracht wird. Zur *Atrophie* der Pyramidenzellendendriten, unter anderem in CA3, unter dem Einfluss von Stress tragen beispielsweise Glukokortikoide, exzitatorische Aminosäuren, N-Methyl-D-Aspartat (= NMDA)-Rezeptoren, Serotonin und verhältnismäßig zu geringe inhibitorische *Gamma*-Aminobuttersäure (= GABA)-Aktivität bei (Watanabe, Gould et al. 1992, Watanabe, Gould et al. 1992a, Magarinos and McEwen 1995a, Magarinos, Deslandes et al. 1999). Stress erhöht die Serotonin-Freisetzung im *Hippocampus* (Joseph and Kennett 1983). Für Serotonin ist eine Beeinflussung der CA3-Region des *Hippocampus* bekannt, indem es zum einen hauptsächlich aus Projektionen des *medianen* Raphe-Kerns indirekt auf die Apikaldendriten der Pyramidenzellen (Lacaille and Schwartzkroin 1988) über Inhibition von Kalbindin-positiven GABAergen inhibitorischen Interneuronen wirkt, wodurch letztlich die hemmende Wirkung auf die Pyramidenzellen reduziert wird (Freund, Gulyas et al. 1990). Dies führt schließlich zur Enthemmung der Langzeitpotenzierung (= LTP) sowie zur Enthemmung der



rekurrenten Erregung (Freund, Gulyas et al. 1990, Malouf, Robbins et al. 1990). Serotonin besitzt außerdem die Fähigkeit, die Glutamat-Affinität für NMDA-Rezeptoren, unter anderem in der CA3-Region, zu fördern und damit die Empfänglichkeit der Neurone für exzitatorische Einflüsse zu erhöhen (Mennini and Miari 1991, McEwen, Conrad et al. 1997). Stress und die damit einhergehende Ausschüttung von Glukokortikoiden aus der Nebenniere sorgen in CA3 des *Hippocampus* für eine verstärkte Freisetzung des exzitatorischen Neurotransmitters Glutamat (Lowy, Gault et al. 1993). Stress verändert weiterhin die Verhältnisse der verschiedenen *Subunit-messenger-Ribonuklein-Säuren* (= mRNAs) der NMDA- und Alpha-Amino-3-Hydroxy-5-Methylisoxazol-4-Propionsäure (= AMPA)-Glutamat-Rezeptoren in CA3-Pyramidenzellen, was die Funktion der Rezeptoren und damit die Empfindlichkeit der Region für Glutamat beeinflusst (Bartanusz, Aubry et al. 1995). Die Vulnerabilität des *Hippocampus* unter chronischem Stress scheint sich bereits bei nur geringen Änderungen der Zusammensetzung des NMDA-Rezeptors zu erhöhen, aufgrund der synergistischen Wirkung der oben beschriebenen mit Stress einhergehenden erhöhten Glutamat-Freisetzung (Weiland, Orchinik et al. 1997). Vermehrt vorhandene exzitatorische Neurotransmitter können schwere neuronale Schäden verursachen, weshalb der dendritischen *Atrophie* eine Schutzfunktion zukommen könnte (Conrad 2006). Da Serotonin zusätzlich dazu über den Serotonin-Rezeptor (= 5-HTR) 5-HTR<sub>2A</sub> die Aktivierung von NMDA-Rezeptoren erleichtert sowie andererseits über 5-HTR<sub>1A</sub> trophische Effekte auszuüben scheint (Rahman and Neuman 1993, Riad, Emerit et al. 1994, McKittrick, Magarinos et al. 2000) und beide Rezeptoren an CA3-Pyramidenzellen vorhanden sind (Prince, Bacon et al. 2016), kommt es in der Konsequenz darauf an, welche Rezeptorwirkungen überwiegen (McKittrick, Magarinos et al. 2000). Als Auswirkung von Stress wurde erhöhte 5-HTR<sub>2A</sub> - Bindung im *parietalen Kortex* festgestellt (McKittrick, Blanchard et al. 1995, López, Chalmers et al. 1998). Nach *Adrenalektomie* fand sich eine Erhöhung sowohl der 5-HTR<sub>1A</sub> - mRNA als auch der 5-HTR<sub>1A</sub> - Bindung in allen Feldern des *Hippocampus*; exogene Kortikosteron-Zufuhr verhinderte dies (Chalmers, Kwak et al. 1993). Glukokortikoidwirkung über Mineralokortikoid-Rezeptoren (= MR) scheint die Erhöhungen bezüglich des postsynaptischen 5-HTR<sub>1A</sub> in größerem Maße als über Glukokortikoid-Rezeptoren (= GR) zu begrenzen (Chalmers, Lopez et al. 1994) und wird im Gegensatz zu GR schon bei geringen Konzentrationen an Glukokortikoiden aktiviert (siehe Kapitel 1.2.1). Im Zusammenspiel bei hohen Glukokortikoid-Konzentrationen, wie sie beispielsweise bei Stress auftreten (siehe Kapitel 1.2.1), könnten MR sowie GR sich in ihrer Wirkung auf

5-HTR<sub>1A</sub> additiv verhalten (Chalmers, Lopez et al. 1994) und scheinen dann in der Lage zu sein, 5-HTR<sub>1A</sub> umso stärker zu beeinflussen (Mendelson and McEwen 1992, López, Chalmers et al. 1998). Stress verursacht also eine signifikant verminderte 5-HTR<sub>1A</sub> - Expression sowie -Bindung im *Hippocampus*, die zunächst nicht durch das Serotonin-System selbst bedingt zu sein scheint (López, Chalmers et al. 1998). Es wurden Bindungs-Möglichkeiten für als Transkriptionsfaktoren wirkende GR an 5-HTR gefunden (Falkenberg and Rajeevan 2010), die diese Einflüsse erklären könnten. Besonders CA3 war bei Stress deutlich von der 5-HTR<sub>1A</sub> - Bindungs-Reduktion betroffen (McKittrick, Blanchard et al. 1995). Selbstmord-Opfer mit bekannter *Major-Depression* wiesen gleichfalls verminderte *hippocampale* 5-HTR<sub>1A</sub> - mRNA - Konzentrationen auf (López, Chalmers et al. 1998). Im Gegenzug wirkt aber auch Serotonin selbst auf die Expression von GR im *Hippocampus* und erhöht diese über den 5-HTR<sub>7</sub> (Laplanche, Diorio et al. 2002). Darüber hinaus unterdrückt Serotonin, und dies ohne zusätzlichen Einfluss von Glukokortikoiden, die Synthese von MR im *Hippocampus* (Semont, Fache et al. 1999). Je nach Art des aktiven Kortikosteroid-Rezeptors verschiedene Wirkungen ergeben sich im Hinblick auf Neuroplastizität. Die Diskussion einiger Studien wurde letztlich dahingehend interpretiert, dass niedrige Glukokortikoid-Konzentrationen durch Aktivierung von MR am ehesten zu erhöhter LTP führen und höhere Konzentrationen, zum Beispiel bei Stress, über GR LTP im *Hippocampus* eher zu vermindern scheinen (Kim and Haller 2007). Dementsprechend wird beispielsweise räumliches Erinnern im *Hippocampus* durch GR-, aber nicht MR-Wirkung beeinträchtigt (Kim and Haller 2007). Chronischer Stress durch soziale Unterlegenheit sorgt für eine signifikante Abnahme der GR-mRNA und MR-Proteine in unter anderem CA3 und eine signifikante Erhöhung der GR-mRNA sowie der GR-Kern-Immunreaktivität im *Nucleus raphe dorsalis* und im *Locus coeruleus* (Zhang, Fan et al. 2017). Chronischer unvorhersehbarer Stress hingegen führte zu geringeren MR-mRNA-Konzentrationen ohne Einfluss auf GR im *Hippocampus* und reduzierte damit das MR / GR - Verhältnis (López, Chalmers et al. 1998). In Selbstmord-Opfern konnte ebenso ein vermindertes MR / GR - Verhältnis festgestellt werden (López, Chalmers et al. 1998). Schwächer ausfallende Aktivierung von GR- und MR-Rezeptoren im *Hippocampus* führte zu verlängerter Aktivität der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (= HPA)-Achse (Herman, McKlveen et al. 2016). Aktivierung von GR im *Nucleus raphe dorsalis* wirkte inhibitorisch auf dessen Expression des Tryptophan-Hydroxylase-Isoform 2-Gens (= *Tph2*) (Vincent, Donner et al. 2018), was zur Begrenzung seiner Serotonin-Synthese unter Stress führen und somit eine Art

negatives *Feedback* bedeuten könnte, womit sich der Kreis schließt. Ein weiterer Effekt chronischen Stresses ist eine signifikant erhöhte Expression von SERT im *Nucleus raphe dorsalis* und in CA3 *Stratum oriens* (Zhang, Fan et al. 2017). Andere Untersuchungen zeigen unter Stress eine Herunterregulation von SERT in CA3 *Strata pyramidale, radiatum, lacunosum-moleculare*, aber keine Veränderung im *Gyrus dentatus* und den *Nuclei raphes dorsalis et medianus* (McKittrick, Magarinos et al. 2000). Apikal- und Basaldendriten scheinen also bezüglich SERT unterschiedlich gerichtete Regulation zu erfahren. Serotonin kann schädliche Effekte auf Zellen ausüben, wenn es vermehrt vorhanden ist (Riad, Emerit et al. 1994). Dementsprechend wird deutlich, dass Serotonin die Pyramidenzellen ebenso auf direktem Wege beeinflussen und auch schädigen kann. Diese Gefahr wird bei unter Stresseinwirkung teilweise stattfindender Herunterregulation des SERT im CA3-Feld, der die Serotoninwirkung beenden könnte (siehe Kapitel 1.1.6), nicht gemindert (McKittrick, Magarinos et al. 2000). Vor allem die Apikaldendriten sind von dieser Gefahr der Schädigung betroffen. Die Apikal- und Basaldendriten der CA-Pyramidenzellen im *Hippocampus* scheinen aber ebenso durch GABA jeweils unterschiedlich reguliert zu werden und auch zwischen dem CA und dem *Gyrus dentatus* gibt es nochmals Unterschiede (Orchinik, Carroll et al. 2001). Diese Unterschiede sind auf jeweils verschiedene GABA<sub>A</sub>-Rezeptor-Subtypen mit unterschiedlichen Bindungs-Eigenschaften unter Stress zurückzuführen (Orchinik, Carroll et al. 2001). So könnte bei chronischem Stress insgesamt der *Gyrus dentatus* und damit seine Erregung der CA3-Pyramidenzellen aus den Moosfasern gebremst, aber die CA3-Pyramidenzell-Erregbarkeit erhöht und für andere Afferenzen erleichtert sein (Orchinik, Carroll et al. 2001). Auch andere glutamaterge Afferenzen, wie solche aus dem *Entorhinalen Kortex*, können zur dendritischen *Atrophie* in CA3 beitragen (Sunanda, Meti et al. 1997). Wie deutlich zu erkennen ist, handelt es sich bei den mehreren ineinandergreifenden Regulationssystemen, die letztlich die Funktion und Morphologie der CA3-Region des *Hippocampus* verändern können, um vielfältig auf mehreren Ebenen vernetzte, sich gegenseitig beeinflussende Mechanismen. Verkürzt dargestellt, werden die Vorgänge zwar der Natur nicht gerecht, was auch daran liegen mag, dass sie noch nicht vollständig verstanden sind, ermöglichen aber eine bessere Übersicht. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass unter Stress ein verstärkter Serotonin-Einfluss auf die CA3-Pyramidenzellen herrscht und sich daraus tendenziell verringerte GABA-Wirkung sowie erhöhte Glutamat-Wirkung ergeben, was eine erleichterte Exzitabilität der Pyramidenzellen bedingt. Glukokortikoide neigen ebenfalls

dazu für insgesamt größere glutamaterge Reizung zu sorgen sowie trophische Wirkungen auf die Pyramidenzellen hinweg zu nehmen. Sowohl Glukokortikoide als auch Serotonin in großen Mengen können Neurone schädigen, wofür die Gefahr besonders an den Apikaldendriten in CA3 durch Herunterregulation von SERT noch gesteigert wird. Serotonin, Stress und Glukokortikoide vermögen es außerdem, die Verhältnisse der Kortikosteroid-Rezeptoren GR und MR untereinander zu verändern und damit eventuell die Inaktivierung der HPA-Achse zu erschweren sowie das Erinnern zu beeinträchtigen. Es deuten sich durchaus auch einige *Feedback*-Mechanismen an, die den Zweck haben könnten, diese Stress-Effekte wiederum zu begrenzen, die wohl aber in der Unterzahl zu sein scheinen. Stress übt somit eine massive Belastung auf vor allem CA3-Apikaldendriten durch ein Überangebot von Reizen aus den *hippocampalen* Afferenzen aus, die aus vielen Regionen des Gehirns kommen und in CA3 zusammentreffen. Eine Möglichkeit der Apikaldendriten, die auf sie eintreffende, gesteigerte Erregung zumindest zu begrenzen, ist, bildlich gesprochen, die „Angriffsfläche“ zu verringern, was zur vielfach beobachteten *Retraktion* der Apikaldendriten führen könnte. Dieser Versuch der Kompensation vermehrt erregender Einflüsse bei Stress wird zumindest von manchen Forschern (siehe unten) als möglicher Grund für die *Atrophie* besonders der Apikaldendriten von CA3-Pyramidenzellen betrachtet. Es ist leicht vorstellbar, dass die Apikaldendriten von CA3-Pyramidenzellen besonders empfindlich auf Stress reagieren könnten, da sie den größten Anteil der Moosfaser-Synapsen mit den Zellen des *Gyrus dentatus* bilden (Bayer 1985, Watanabe, Gould et al. 1992). Ihre *Atrophie* könnte also als Ausgleichsmechanismus zur gesteigerten Exzitation durch die Moosfasern nach chronischem Stress dienen (Magarinos, Deslandes et al. 1999). So sollte beachtet werden, dass die morphologische Reduktion der Apikaldendriten der CA3-Pyramidenzellen bei Stress nicht unbedingt als negativ angesehen werden muss, da sie die, möglicherweise überfordernde, Informationsflut auf die Zellen abfangen könnte (McKittrick, Magarinos et al. 2000). Außerdem waren beispielsweise die morphologischen Veränderungen in dominanten Tieren einer Hierarchie stärker ausgeprägt als bei den untergeordneten Tieren, wobei letztere jedoch als stärker gestresst eingestuft wurden und durch den hierarchischen Stress in vielen anderen Bereichen, wie dem Verhalten, auch weitaus stärker geschädigt erschienen, was letztlich nicht zu erklären wäre, wenn man den Grad der morphologischen Änderungen mit dem Grad an erfahrener Stress und dadurch erfahrener Schädigung gleichsetzen würde (McKittrick, Magarinos et al. 2000). Zuletzt führen McKittrick *et al.* bezüglich

ihrer Hypothese der dendritischen *Atrophie* als Form der natürlichen Stressanpassung an, dass die unter Stress stattfindenden morphologischen Änderungen grundsätzlich reversibel sind und somit erhaltene Anpassungsfähigkeit und erhaltene Zellfunktionen zeigen sowie dass *Atrophie* und Zellschäden beziehungsweise -tod zeitlich sowie bezüglich der sonstigen jeweils damit verbunden auftretenden Rahmenbedingungen deutlich getrennt stattzufinden scheinen (McKittrick, Magarinos et al. 2000). Zum Punkt der Reversibilität muss gesagt werden, dass zwar nach zehn Tagen ohne weiteren Stress die vorher festgestellte *Atrophie* der CA3-Pyramidenzellen nicht mehr nachgewiesen werden konnte (Conrad, LeDoux et al. 1999), dass aber mit Rückverweis (siehe Kapitel 1.2.2) auf das *Match- / Mismatch-* und das Kumulative-Stress-Modell sowie Stresseinwirkungen in besonders sensiblen Phasen, wie beispielsweise *pränatal*, bedacht werden sollte, dass sich Stresserfahrungen, auch wenn morphologisch nicht mehr nachweisbar, so ansammeln können (Kumulation), oder in unerwarteter und unbekannter Weise auf eine Person treffen können (*Mismatch*) oder für Veränderungen endokriner Stressantworten und damit eventuell gesteigerter lebenslanger Stressempfindlichkeit (*pränatale* Phase) sorgen können, dass durch all diese Faktoren einer Person auch noch lange nach der eigentlichen Stresserfahrung und trotz Reversibilität der dendritischen *Atrophie* Schäden drohen könnten. Weiterhin zu betonen ist die von Conrad treffend zusammengefasste Erkenntnis, dass, selbst wenn man davon ausgeht, dass dendritische *Atrophie* an sich keine Pathologie beinhaltet, sie dennoch zu erhöhter Suszeptibilität für gleichzeitige andere negative Ereignisse führen kann, seien es Toxine, Krankheiten oder weitere Stresseinflüsse, die in der Summe dann durchaus zu Zellschäden im *Hippocampus* führen können (Conrad 2006). Weitere nützliche Hinweise, wie die hier vorliegenden morphologischen Veränderungen der Neurone zu interpretieren sein könnten, gibt mir außerdem das Verhalten der dem Modell zugrunde liegenden Mäuse, das von Frau Carina Bodden und Mitarbeitern getestet wurde (siehe Material und Methoden) (Bodden, Richter et al. 2015). Dabei wurde festgestellt, dass das Verhalten der KO-Mäuse auf signifikant gesteigertes Angstepfinden sowie weniger Neugierde hindeutete, als beide anderen Genotypen darboten. BB- und AA-Mäuse verhielten sich nicht messbar unterschiedlich in ihrem deutlich ängstlichen und wenig erkundenden Verhalten. BA-Mäuse hingegen zeigten sich erstaunlicherweise neugieriger sowie weniger ängstlich als Mäuse der *Life histories* AA, AB und teils sogar der *Life history* BB. Besonders die frühen Erfahrungen der Mäuse schienen ihr späteres Verhalten zu bedingen und wenn diese negativ ausgefallen waren, bei ihnen

Ängstlichkeit auszulösen. Spätere Erfahrungen vermitteln ergänzend dazu nur noch geringumfängliche verhaltenstechnische Anpassungen (Bodden, Richter et al. 2015). Hierfür könnte auch von Bedeutung sein, dass die Mäuse den frühen Stresserfahrungen nicht entkommen konnten, sie aber bei den späteren Stresserfahrungen eine Fluchtmöglichkeit eingeräumt bekamen (Bodden, Richter et al. 2015). Möglicherweise empfanden sie deshalb die späteren Stresserfahrungen als weniger belastend.

In der *Life history* BB ohne Stresserfahrungen zeigten sich BB\*KO und BB\*HET, die geringere Verfügbarkeit von SERT aufweisen (siehe Kapitel 1.1.6), im Vergleich zu BB\*WT mit signifikant längeren Apikaldendriten. Ein mutmaßlich höherer beziehungsweise länger wirksamer extrazellulärer Serotoninspiegel bei KO und HET könnte also beim Fehlen von Stress eventuell die dendritische Verkürzung bremsen. Dahingegen hatten Neurone in BA\*WT und BA\*HET signifikant längere Apikaldendriten als die Referenz, was erneut dafür sprechen könnte, dass diese Mäuse, die sich als neugieriger und weniger ängstlich gezeigt hatten (Bodden, Richter et al. 2015), den Stress in ihrer späten Lebensphase nicht als so belastend empfanden, wie erwartet, also sie eine gewisse Resilienz aufwiesen. BA\*KO-Neurone fielen in ihrer Apikaldendritenlänge deutlich zu den anderen Genotypen derselben *Life history* ab und zeigten sich signifikant kürzer als BB\*WT, was bei ihnen für geringere Resilienz sprechen könnte, eventuell aufgrund fehlender Transportkapazität über SERT. Überraschend war allerdings, dass die Apikaldendriten von AB\*HET, AB\*WT und sogar AA\*WT, alle in ihrer frühen Lebensphase von Stress betroffen, der sich akkumulierte beziehungsweise *mismatchte*, signifikant länger waren als die Referenz und AA\*WT sogar der Länge von BA\*WT nahezukommen schien. Hinsichtlich *Nodes* zeigten sich in mehreren *Subpopulationen* für die *Life histories* AA, teils AB und BA signifikant kleinere Werte als für die Referenz BB. Stresseinflüsse reduzierten also signifikant die *Nodes* am Apikaldendriten. Je nach *Subpopulation* waren HET oder KO signifikant verzweigter als WT, was bei deren schlechterer Ausstattung mit SERT verwunderlich erscheint, da so die negativen Wirkungen von Serotonin bei Stress länger bestehen (siehe oben). Ebenso unerwartet war die in einer *Subpopulation* signifikant stärkere Verzweigung fast aller anderen Subgruppen im Vergleich zur Referenz BB\*WT, wobei BB\*KO, BB\*HET, BA\*HET und AA\*WT jeweils *circa* die doppelte Anzahl an *Nodes* im Vergleich zu BB\*WT erreichten. Dass BB\*HET und BB\*KO verzweigter sind als die Referenz, könnte dafür sprechen, dass, wie bei der Apikaldendritenlänge bei fehlendem Stress, verlängerte Serotoninwirkung von Vorteil sein könnte. Unter

stressigen Lebensbedingungen, wie sie bei AA\*WT über das ganze Leben vorhanden waren, scheint eine gute Gen-Ausstattung mit *Sert* sehr von Vorteil zu sein und die negativen Folgen des Stresses auf die Apikaldendriten abzumildern (siehe oben), wie sich bereits bezüglich der Apikaldendritenlänge zeigte. In einer anderen *Subpopulation* ergab sich jedoch eine gegenteilige Verteilung der *Nodes* mit signifikant weniger *Nodes* aller anderen Subgruppen im Vergleich zu BB\*WT. Dies wäre am ehesten das Ergebnis, das zu erwarten gewesen wäre, wüsste man nicht aus den Verhaltenstests (Bodden, Richter et al. 2015), dass nicht BB\*WT, sondern Mäuse der *Life history* BA am wenigsten ängstlich gewesen waren. Die *Node*-Dichte erwies sich bei Neuronen aller *Life histories* mit Stresserfahrungen AA, AB, BA im Vergleich zur Referenz BB als signifikant höher, mit den höchsten Werten in der *Life history* BA. Dagegen ergaben sich bei der *Node*-Dichte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen. Gleich zwei Genotypen der *Life history* BA, nämlich BA\*HET sowie BA\*KO, wiesen signifikant größere *Node*-Dichte-Werte auf als BB\*WT, was zu der Hypothese der größeren Resilienz in dieser *Life history* passen könnte. Da die Schätzungen der *Nodes* und Endpunkte aus den jeweils gleichen *Subpopulationen* stammen und meine Beobachtung während des *Tracens* war, dass die Verzweigung eines Dendritenastes meist zu nur zwei und nicht zu drei oder mehr neuen Ästen führt und dementsprechend zu nur einer begrenzten Mehrzahl an Endungen führen dürfte als es *Nodes* gab, würde eine gewisse Ähnlichkeit dieser Ergebnisse nicht verwundern. Neurone aller anderen *Life histories* hatten signifikant weniger Endpunkte als Neurone der Gruppe BB (ausgenommen AB in einer *Subpopulation*). HET oder KO zeigten in verschiedenen *Subpopulationen* von Neuronen jeweils signifikant mehr Endpunkte als WT. Das spräche dafür, dass einerseits BB, andererseits aber überraschenderweise auch HET und KO die Komplexität ihrer Neurone bewahren konnten. Die geschätzten Ergebnisse der Subgruppen-Analysen mit Neuronen verschiedener *Subpopulationen* wiederum zeigten sich tendenziell gegenteilig ausgerichtet. Die Referenzsubgruppe BB\*WT beispielsweise zeigte sich je nach untersuchter *Subpopulation* unterschiedlich ausgeprägt. In einer *Subpopulation* wurde BB\*WT von fast allen anderen Subgruppen hinsichtlich Endungen signifikant übertroffen, in einer anderen *Subpopulation* hingegen besaß BB\*WT im Vergleich zu fast allen anderen Subgruppen signifikant mehr Endungen am Apikaldendriten. Man muss sich fragen, ob das Auseinanderweichen der Ergebnisse für Neurone aus verschiedenen *Subpopulationen* tatsächliche Unterschiede in der Funktion oder der Reaktion der Neurone zwischen den *Subpopulationen* widerspiegelt, was meines Wissens nach in der Literatur bisher nicht

untersucht wurde. Dies könnte erreicht werden, indem man weitere *Subpopulationen* von Neuronen untereinander vergleicht. Das unterschiedliche Verhalten der *Spines* in verschiedenen *Subpopulationen* regt schließlich ebenfalls zu diesem Gedanken an. Neurone der *Life history* AB hatten signifikant mehr *Spines* als die der Referenz BB in der einen *Subpopulation*, in der anderen hingegen ergab sich eine die anderen *Life histories* signifikant übertreffende *Spine*-Zahl von BB. Bei Betrachtung der verschiedenen Genotypen unterschieden sich die Ergebnisse für die *Subpopulationen*, ebenso wie im Hinblick auf die *Life histories*, mit zum einen signifikant erhöhter *Spine*-Zahl von HET im Vergleich zum WT und zum anderen signifikant niedrigerer *Spine*-Zahl von sowohl KO als auch HET verglichen mit WT. BB\*WT zeigte sich für vollständige und relativ vollständige, große Neurone im Vergleich zu den übrigen elf Subgruppen mit der geringsten *Spine*-Zahl; davon unterschieden sich fünf Subgruppen signifikant von BB\*WT. Die mit Abstand höchste *Spine*-Zahl entstammte vollständigen und relativ vollständigen, großen Neuronen der Subgruppe AB\*HET, die damit mehr als doppelt so viele *Spines* aufwies wie Neurone der Referenz. Neurone der weiterhin untersuchten *Subpopulation* zeigten exemplarisch für AA\*HET, AA\*WT, AB\*HET signifikant weniger *Spines*, was zum früh erfahrenen Stress und der Kumulation dessen beziehungsweise dem *Mismatch* passen könnte (siehe Kapitel 1.2.2) und für BB\*HET, BB\*KO, BA\*WT, BA\*HET jeweils signifikant ansteigende *Spine*-Zahlen im Vergleich zur Referenz mit dem Höchstwert für BA\*HET. BB\*KO und BB\*HET würden damit erneut zu dem Gedanken anregen, dass sich bei nicht vorhandenem Stress eine geringere Menge an SERT eventuell positiv auswirken könnte und dadurch eine *Atrophie* des Apikaldendriten verhindern könnte. BA\*WT und BA\*HET würden mit den beiden *Spine*-Höchstwerten die Erwartungen an ihre anscheinend vorhandene Resilienz in Bezug auf ihr wenig ängstliches Verhalten trotz Stress in ihrer späten Lebensphase erfüllen (Bodden, Richter et al. 2015). Dass BA\*KO, im Vergleich zur Referenz, signifikant weniger *Spines* aufwies, könnte den Stresserfahrungen geschuldet sein, die seine Neurone, durch ihre stark gehemmte Inaktivierung (siehe Kapitel 1.1.6) der unter Stress erhöhten Serotoninwirkung mit all ihren negativen Folgen, nicht in der Lage waren, auf anderem Wege abzuhalten, als durch die Begrenzung ihres *Input* über die *Spines* (siehe oben). AB\*WT-Neurone präsentierten zwar im Vergleich zu BB\*WT signifikant mehr *Spines*, aber dies nur mit insgesamt geringem zahlenmäßigen Unterschied. Beachtet man jedoch den Trend, den die sich signifikant von der Referenz unterscheidenden Subgruppen mit frühen Stresserfahrungen AA\*HET, AA\*WT, AB\*HET, AB\*WT zeigen, so beobachtet man



jeweils einen scheinbaren Abfall der *Spine*-Zahl von WT zu HET, der ebenso der schlechteren Ausstattung mit dem unter Stress wichtigen SERT von HET im Vergleich zu WT (siehe oben und Kapitel 1.1.6) geschuldet sein könnte. Im Gruppen- und Subgruppenvergleich fanden sich bezüglich *Spine*-Dichte trotz signifikanter Haupteffekte und Interaktion zwischen den Faktoren *Life history* sowie Genotyp, auch bei Betrachtung einzelner Abschnitte eines Neurons, keine signifikanten Unterschiede. Die *Spine*-Dichte zeigte sich für BA-Neurone am höchsten, darauf folgte BB; HET und WT ähnelten sich und übertrafen beide KO. BA zeigte auch im Subgruppenvergleich insgesamt durchweg die mit am höchsten liegenden *Spine*-Dichte-Werte für die Genotypen. Mit diesen Ergebnissen hätten BA und BB sowie HET und WT hinsichtlich zu erwartender *Spine*-Dichte passend zu ihren mäßigen, spät im Leben auftretenden Stresseinflüssen sowie, dank höherer SERT-Verfügbarkeit, eventuell besser zu kompensierenden Stresserfahrungen (siehe oben und Kapitel 1.1.6) abgeschnitten, wenn die Ergebnisse Signifikanz erreicht hätten, was sie aber nicht taten.

In den Schätzungen der unterschiedlichen gefragten Variablen für die verschiedenen Radienzonen zeigten sich, beim Vergleich entsprechender Radien, lediglich augenscheinlich in manchen Fällen zwischen den Referenzen und den jeweils anderen *Life history*- oder Genotyp-Gruppen etwaige Unterschiede, die aber keine Signifikanz erreichten, statistisch gesehen also nicht relevant waren.

## 4.2 Diskussion der Methodik

Mithilfe der *Hard-* und *Software* des Neurolucida-Systems (siehe Kapitel 2.3) war es mir möglich, die Apikaldendriten möglichst realitätsnah als 3D-Modelle abzubilden. Somit hatte ich einen Vorteil gegenüber der vormaligen meist 2D-Rekonstruktionen (Fitch, Juraska et al. 1989), bei denen ein gewisser Informationsverlust durch die Projektion dreidimensionaler Strukturen in eine zweidimensionale Ebene nicht ausgeschlossen war.

Die Apikaldendriten-Gesamtlängen zwischen verschiedenen Neuronen-*Populationen* der CA3-Region schienen sich teilweise stark zu unterscheiden. Um ein Beispiel zu nennen, wird die gesamte Neuronen-*Population*, die in die statistischen Auswertungen aufgenommen wurde und 191 Neurone enthielt, aber bezüglich der Variable Länge weder signifikante Haupteffekte noch Interaktion aufwies, hinsichtlich ihrer Apikaldendriten-Gesamtlänge betrachtet. In dieser Gesamt-*Population* fanden sich eine minimale Apikaldendriten-Gesamtlänge von 858  $\mu\text{m}$  sowie eine maximale

Apikaldendriten-Gesamtlänge von 5408  $\mu\text{m}$ , was eine Unterscheidung um den Faktor 6,3 zeigt. Wenn man die weiteren minimal und maximal erreichten Werte für die einzelnen untersuchten Variablen betrachtet, die im gesamten Kollektiv von 191 Neuronen auftraten, scheint sich die Aufteilung in *Subpopulationen*, sodass jeweils ähnliche Neurone miteinander verglichen werden können, als sinnvoll zu erweisen. Die nachfolgenden Angaben dienen nur der Übersicht und wurden aufgrund oft fehlender Signifikanz für Haupteffekte bzw. Interaktion für die weitere Auswertung meist nicht verwendet. Im Gesamtkollektiv zeigten sich pro Neuron zwischen 7 – 41 Nodes, 8 – 44 Endpunkte, 365 – 6269 *Spines*, 0,283 – 1,773 *Spines* /  $\mu\text{m}$  und 0,365 – 1,827 *Nodes* / 100  $\mu\text{m}$ . Auch die Beachtung der Tatsache, dass signifikante Haupteffekte und Interaktionen vermehrt in *Subpopulationen* und nicht dem Gesamtkollektiv aufgedeckt werden konnten, spräche dafür, eine Aufteilung durchzuführen. Was jedoch weiterer Untersuchungen bedarf, sind die eventuell vorhandenen morphologischen Veränderungen innerhalb verschiedener Entfernungen vom *Soma*, die ich in der Sholl-Analyse betrachtete. Auf den ersten Eindruck schienen teilweise Unterschiede vorhanden zu sein, die aber keine Signifikanz erlangten. Möglicherweise sollten die Radien-Abstände in der Sholl-Analyse anders gewählt werden oder höhere Fallzahlen in die Untersuchungen eingehen, damit sich signifikante Unterschiede offenbaren. Sicherlich benötigen die durch Schätzungen erhaltenen negativen Zahlen im Schätzungs-Modell eine Erklärung, wie sie zustande kommen und zu interpretieren sind, nämlich eher als niedrige, positive Werte, die im fraglichen Konfidenzintervall enthalten sein müssten. Auch in diesen Fällen könnten höhere Fallzahlen oder kleine Veränderungen des statistischen Schätzungs-Modells hilfreich sein, um treffendere Schätzungen zu ermöglichen. Die bereits mehrfach erwähnte Aufteilung der Neurone in *Subpopulationen* ermöglichte einerseits, signifikante Ergebnisse aufzudecken, wo sich sonst keine Signifikanzen gezeigt hätten, führte aber andererseits auch dazu, dass bei den Schätzungen zu den unterschiedlichen Variablen jeweils verschiedene *Subpopulationen* von Neuronen zugrunde lagen. Als ich diese Aufteilung vornahm, ging ich davon aus, dass die Vergleichbarkeit der *Subpopulationen* untereinander gegeben sei und wenn morphologische Veränderungen an den Apikaldendriten stattgefunden hätten, diese gleichermaßen an beispielsweise großen wie kleinen Neuronen geschehen wären, nur in größenbedingt eventuell etwas anderem Abstand zum *Soma*. Ich konnte zum Beispiel die Variable Länge statistisch gesehen am besten in der *Subpopulation* der vollständigen, kleinen Neurone untersuchen, *Spines* hingegen boten die aussichtsreichsten Ergebnisse teils aber auch innerhalb der als groß

eingeschätzten Neurone. Bei solch unterschiedlichen *Subpopulationen* muss also genau darauf geachtet werden, welche Neurone man gerade betrachtet, damit nicht *Spine*-Zahlen der großen Neurone in Beziehung zur Länge der kleinen Neurone betrachtet werden. Weiterhin war es, außer bei der Variable *Nodes*, nicht immer möglich und statistisch gesehen sinnvoll, die Gesamtwert-Schätzungen der Neurone und die Schätzungen je Neuronen-Radius in der jeweils selben *Subpopulation* auszuwerten. Deswegen können sich die Ergebnisse der Gesamtwertschätzungen und die der Radien-Schätzungen etwas unterscheiden. Später fiel jedoch zudem auf, dass die Ergebnisse in verschiedenen *Subpopulationen* teils auseinanderwichen, sodass es ebenfalls interessant sein könnte, zu untersuchen, ob sich möglicherweise manche Neuronen-*Subpopulationen* als Reaktion auf Stress morphologisch unterschiedlich verhalten könnten (siehe Kapitel 4.1). Zusätzlicher Erkenntnisgewinn könnte auch aus dem Testen gegen eine andere Referenz bezogen werden. Ein möglicher Kandidat hierfür wäre beispielsweise die *Life history*-Gruppe BA, die sich in den Verhaltenstests von Bodden *et al.* durch augenscheinlich hohe Resilienz auszeichnete (Bodden, Richter *et al.* 2015).

### 4.3 Kernaussagen und Ausblick

Letztlich zeigte sich also eine Übereinstimmung mit bisherigen morphologischen Untersuchungen zur Apikaldendriten-*Atrophie* in CA3-Pyramidenzellen unter Stresseinfluss (siehe Kapitel 4.1) im Hinblick auf die *Nodes*. Tatsächlich waren die Neurone von Mäusen ohne Stresserlebnisse signifikant verzweigter. Die in anderen Studien aufgetretene reduzierte *Spine*-Dichte (siehe Kapitel 4.1), konnte ich durch meine Untersuchungen nicht replizieren, jedoch zeigen meine absoluten *Spine*-Zahlen für die Apikaldendriten von Mäusen mit Stresserleben in einer bestimmten *Subpopulation* von Neuronen durchaus signifikante Verminderungen der *Spines*. Schlussendlich erscheint aber auch die Hypothese plausibel, dass die in Verhaltenstests als besonders wenig ängstlich und vielmehr neugierig erscheinenden Mäuse der *Life history* BA - was durchaus als eine gewisse Resilienz gegen das vorhandene Stresserleben gedeutet werden könnte (Bodden, Richter *et al.* 2015) - sich auch morphologisch anhand ihrer Neurone als widerstandsfähig erweisen könnten, mit trotz Stresserleben wenig ausgeprägter oder fehlender *Atrophie* ihrer Apikaldendriten. Diese Hypothese, wie es scheint, bestätigend, präsentierten sich BA-Neurone mit signifikant längeren Apikaldendriten als Neurone von Mäusen komplett ohne

Stresserleben; zusätzlich mit signifikant mehr *Nodes* pro 100 µm Apikaldendritenlänge als bei BB-Mäusen und auch insgesamt der scheinbar höchsten *Node*-Dichte; zwar signifikant weniger *Spines* als BB, jedoch mit nur minimalem zahlenmäßigen Unterschied und somit gemeinsam mit BB an der Spitze der *Spine*-Zahlen des Apikaldendriten stehend, zumindest in einer der ausgewählten *Subpopulationen*. Weiterhin zeigte die Gruppe BA die höchste *Spine*-Dichte, was aber verglichen mit der Referenz BB keinen signifikanten Unterschied ausmachte. Bei also teils nicht erreichter Signifikanz dieser Ergebnisse und in Untersuchungen anderer Variablen oder anderer *Subpopulationen* dazu verschieden lautender Erkenntnisse, muss noch eine gründliche Prüfung der Hypothese in weiteren Untersuchungen erfolgen. Die Anzahl der *Spines* lieferte als einzige der untersuchten Variablen - und dies auch nur in einer bestimmten Neuronen-*Subpopulation* - Ergebnisse, die zum Abgleich mit einigen bereits erwähnten Stress-Modellen (siehe Kapitel 1.2.2) hilfreich sein könnten. In dieser *Subpopulation* unterschieden sich sowohl BA, AB und AA mit jeweils zu BB fortschreitend ausgeprägter Reduktion ihrer *Spines* am Apikaldendriten mit dem niedrigsten Wert bei AA. Daraus könnte sich eine besondere Belastung und entsprechende Vulnerabilität von AA aufgrund von kumulativem Stress ableiten; doch auch *Mismatch*-Erfahrungen sorgten in geringerem Maße für diese Reduktion, wovon die Gruppe AB mit bereits frühem Stresserleben stärker betroffen war als BA mit erst späten Stresserfahrungen. BB mit der in dieser *Subpopulation* signifikant höchsten Anzahl an *Spines* könnte die Resilienz von Individuen repräsentieren, die in ihrem Leben keinem Stress ausgesetzt waren und nur Erfahrungen machten, die zu ihrem bereits gesammelten Erfahrungsschatz passten und damit ein *Match* aufwiesen (siehe Kapitel 1.2.2). Es sollten weitere morphologische Untersuchungen durchgeführt werden, um zu überprüfen, ob dies auch für größere Neuronen-*Populationen* und andere Variablen gelten könnte. Auffällige Muster der *Atrophie* zeigten sich weiterhin bei Betrachtung der Variable Apikaldendriten-Gesamtlänge für BB\*WT, BB\*HET, BB\*KO und BA\*WT, BA\*HET, BA\*KO. BB\*HET und BB\*KO zeigten jeweils eine zu BB\*WT signifikant ansteigende Länge des Apikaldendriten. Dies regt die Überlegung an, ob nicht bei fehlendem Stress und dementsprechend niedrigeren extrazellulären Serotoninkonzentrationen sowie einer verstärkten Wirkung von Serotonin über 5-HTR<sub>1A</sub> mit *trophischen* Wirkungen auf die Apikaldendriten (siehe Kapitel 4.1), eine längere Wirkzeit von Serotonin aufgrund geringerer Mengen von SERT bei HET und KO (siehe Kapitel 1.1.6) dem Erhalt der Dendritenlänge besonders förderlich sein könnte. BA\*WT sowie BA\*HET hatten signifikant längere Apikaldendriten und BA\*KO signifikant

kürzere Apikaldendriten als BB\*WT. Der Theorie entsprechend, dass bei Stress schädlich hohe Serotoninkonzentrationen entstehen und diese - neben anderen - durch viele Mechanismen zur erleichterten Erregung der Neurone durch Glutamat beitragen, was zur dendritischen *Atrophie* führt (siehe Kapitel 4.1), trat nur bei BA\*KO eine vergleichsweise Dendriten-Verkürzung auf, da ohne SERT eine verlängerte Serotoninwirkung die Folge ist (siehe Kapitel 1.1.6). BA\*HET und BA\*WT hingegen können bereits durch mindestens eine Gen-Kopie des wildtypischen *Sert* (Kim, Tolliver et al. 2005) die bei Stress überwiegend negative Serotoninwirkung (siehe Kapitel 4.1) schneller beenden. Ein ähnliches und ebenso signifikantes *Atrophie*-Muster ergab sich auch für die Anzahl der *Spines* am Apikaldendriten in einer *Subpopulation*. Außerdem traf man - zumindest für die *Life history* BB mit zugeordneten Genotypen - wieder eine ähnliche und signifikante *Atrophie*-Form bezüglich Anzahl der *Nodes* und der Endpunkte in einer bestimmten *Subpopulation* an. Aufgrund der beobachteten unterschiedlichen Morphologie der Apikaldendriten von CA3-Pyramidenzellen des *Hippocampus* von Mäusen, vor dem Hintergrund ihrer verschiedenen Lebensgeschichten bezüglich Stresserfahrungen und in Kenntnis ihres jeweils zugrunde liegenden *Sert*-Genotyps, kann in einem Versuch der Übertragung der gewonnenen Erkenntnisse auch auf den Menschen durchaus der Vermutung zugestimmt werden, dass Stresseinflüsse die Vulnerabilität von Neuronen und damit auch die Vulnerabilität für psychische Erkrankungen erhöhen können, besonders bei gering vorhandenen Mengen an SERT. Ebenfalls zutreffend scheint aber auch, dass trotz Stress, solange am Anfang des Lebens positive Erfahrungen standen und ausreichende Gen-Ausstattung mit *SERT* gegeben ist, hohe Widerstandsfähigkeit bestehen kann und dass selbst geringe SERT-Level nicht unweigerlich zu hoher Vulnerabilität führen müssen. Im Gegenteil können sie bei nicht vorhandenem Stress durch Verlängerung der dann überwiegend positiven Serotoninwirkungen für größere Resilienz gegen psychische Erkrankungen sorgen.

## 5 Zusammenfassung

Chronischer Stress hat negative Folgen, die sich im Verhalten und auf neuronaler Ebene äußern können. Als besonders stressemphindlich gelten die Neurone der dritten Region des *hippocampalen* Ammonshorns CA3. Sie reagieren auch im bereits ausgereiften Zustand noch sehr sensibel auf äußere Einflüsse, was als neuronale Plastizität bezeichnet wird. Sie erfahren unter anderem durch Stress und Serotonin morphologische und funktionelle Veränderungen. Serotonin-Transporter wahren das Serotonin-Gleichgewicht, indem sie dessen Wirkung schließlich durch Wiederaufnahme in die Zellen beenden. *Polymorphismen*, also verschiedene Gen-Varianten, bedingen Unterschiede in der Zahl der verfügbaren Transporter. Dieses Wechselspiel zwischen Gen-Varianten des Serotonin-Transporters und Stress wurde an Serotonin-Transporter-*Knockout*-Mäusen untersucht. Einige Mäuse erfuhren bereits früh im Leben Stress, der entweder anhielt oder im späteren Leben positiven Erfahrungen wich; weitere Mäuse hingegen machten in frühen Lebensabschnitten positive Erfahrungen, die sich später entweder fortsetzten oder durch Stresserfahrungen ersetzt wurden. Nach Durchführung von Verhaltenstests wurde zudem in deren Golgi-imprägnierten Gehirnen die Morphologie der Apikaldendriten von CA3-Kurzschicht-Pyramidenzellen lichtmikroskopisch untersucht und in 3D-Computermodellen abgebildet. Aufgrund regionaler Eigenheiten innerhalb von CA3 wurden diese Neurone verschiedenen *Subpopulationen* zugeordnet. Tatsächlich konnten mithilfe der Kombination aus vier verschiedenen Lebensgeschichten und drei unterschiedlichen Serotonin-Transporter-Genotypen Unterschiede in der Morphologie der CA3-Pyramidenzellen zwischen den einzelnen Gruppen festgestellt werden. Ohne Stresserleben zeigten sich die Neurone meist signifikant verzweigter; nach Stresserleben zeigten sich, zumindest in einer bestimmten *Subpopulation*, signifikante Verminderungen der *Spines*. Mäuse mit zwei oder einem wildtypischen Serotonin-Transporter-Allel und ausschließlich späten aversiven Erfahrungen hatten signifikant längere Apikaldendriten als die Referenz mit zwei wildtypischen Allelen und ohne Stresserfahrung; homozygot Serotonin-Transporter-*defiziente* Mäuse der gleichen Lebensgeschichte hatten zur Referenz signifikant verkürzte Apikaldendriten. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass Stress in Verbindung mit genetisch bedingt geringen Mengen des Serotonin-Transporters durchaus eine erhöhte Vulnerabilität für psychische Erkrankungen bedingen könnte, aber dass ausschließlich späte Stresserfahrungen bei höheren Mengen des Serotonin-Transporters auch protektiv wirken könnten.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Abdulla, Z. I., J. L. Pennington, A. Gutierrez and M. R. Skelton (2020). "Creatine transporter knockout mice (Slc6a8) show increases in serotonin-related proteins and are resilient to learned helplessness." Behav Brain Res **377**: 112254.
2. Ahs, F., A. Frick, T. Furmark and M. Fredrikson (2015). "Human serotonin transporter availability predicts fear conditioning." Int J Psychophysiol **98**(3 Pt 2): 515-519.
3. Akiyama, T., T. Yamazaki, H. Mori and K. Sunagawa (2004). "Simultaneous monitoring of acetylcholine and catecholamine release in the in vivo rat adrenal medulla." Neurochem Int **44**(7): 497-503.
4. Altemus, M., T. Pigott, K. T. Kalogeras, M. Demitrack, B. Dubbert, D. L. Murphy and P. W. Gold (1992). "Abnormalities in the regulation of vasopressin and corticotropin releasing factor secretion in obsessive-compulsive disorder." Arch Gen Psychiatry **49**(1): 9-20.
5. Anden, N. E., A. Carlsson, N. A. Hillarp and T. Magnusson (1964). "5-HYDROXYTRYPTAMINE RELEASE BY NERVE STIMULATION OF THE SPINAL CORD." Life Sci (1962) **3**: 473-478.
6. Andolina, D., M. Di Segni, A. Accoto, L. Lo Iacono, A. Borreca, D. Ielpo, N. Berretta, E. Perlas, S. Puglisi-Allegra and R. Ventura (2019). "Correction to: MicroRNA-34 Contributes to the Stress-related Behavior and Affects 5-HT Prefrontal/GABA Amygdalar System through Regulation of Corticotropin-releasing Factor Receptor 1." Mol Neurobiol.
7. Arato, M., C. M. Banki, G. Bissette and C. B. Nemeroff (1989). "Elevated CSF CRF in suicide victims." Biol Psychiatry **25**(3): 355-359.
8. Arborelius, L., K. H. Skelton, K. V. Thirivikraman, P. M. Plotsky, D. W. Schulz and M. J. Owens (2000). "Chronic administration of the selective corticotropin-releasing factor 1 receptor antagonist CP-154,526: behavioral, endocrine and neurochemical effects in the rat." J Pharmacol Exp Ther **294**(2): 588-597.
9. Archer, J. (1973). "Tests for emotionality in rats and mice: a review." Anim Behav **21**(2): 205-235.
10. Arora, R. C. and H. Y. Meltzer (1981). "A modified assay method for determining serotonin uptake in human platelets." Clin Chim Acta **112**(2): 225-233.
11. Assenmacher, I., A. Szafarczyk, G. Alonso, G. Ixart and G. Barbanel (1987). "Physiology of neural pathways affecting CRH secretion." Ann N Y Acad Sci **512**: 149-161.
12. Azmitia, E. C., Jr. and B. S. McEwen (1969). "Corticosterone regulation of tryptophan hydroxylase in midbrain of the rat." Science **166**(3910): 1274-1276.
13. Baran, S. E., A. M. Campbell, J. K. Kleen, C. H. Foltz, R. L. Wright, D. M. Diamond and C. D. Conrad (2005). "Combination of high fat diet and chronic stress retracts hippocampal dendrites." Neuroreport **16**(1): 39-43.
14. Bargsten, G. and D. Grube (1992). "Serotonin storage and chromogranins: an experimental study in rat gastric endocrine cells." J Histochem Cytochem **40**(8): 1147-1155.

15. Bartanusz, V., J. M. Aubry, S. Pagliusi, D. Jezova, J. Baffi and J. Z. Kiss (1995). "Stress-induced changes in messenger RNA levels of N-methyl-D-aspartate and AMPA receptor subunits in selected regions of the rat hippocampus and hypothalamus." Neuroscience **66**(2): 247-252.
16. Baude, A., Z. Nusser, E. Molnar, R. A. McIlhinney and P. Somogyi (1995). "High-resolution immunogold localization of AMPA type glutamate receptor subunits at synaptic and non-synaptic sites in rat hippocampus." Neuroscience **69**(4): 1031-1055.
17. Bayer, S. A. (1985). Hippocampal region. The rat nervous system. G. Paxinos. Sydney, Academic Press. **1**: 335-352.
18. Belin, M. F., G. Chouvet and J. F. Pujol (1974). "[Synaptosomal transport of cerebral tryptophan and tyrosine. Stimulation of the rate of uptake after administration of reserpine or monoamine oxidases inhibitor]." Biochem Pharmacol **23**(3): 587-597.
19. Belsky, J. and M. Pluess (2009). "Beyond diathesis stress: differential susceptibility to environmental influences." Psychol Bull **135**(6): 885-908.
20. Bengel, D., D. L. Murphy, A. M. Andrews, C. H. Wichems, D. Feltner, A. Heils, R. Mossner, H. Westphal and K. P. Lesch (1998). "Altered brain serotonin homeostasis and locomotor insensitivity to 3, 4-methylenedioxymethamphetamine ("Ecstasy") in serotonin transporter-deficient mice." Mol Pharmacol **53**(4): 649-655.
21. Berger, M., J. A. Gray and B. L. Roth (2009). "The expanded biology of serotonin." Annu Rev Med **60**: 355-366.
22. Berkovits, L., O. Mucsi and G. Mozsik (1967). "[On the functional study of the gallbladder with enteramin]." Fortschr Geb Rontgenstr Nuklearmed **106**(2): 255-260.
23. Bertrand, P. P. (2004). "Real-time detection of serotonin release from enterochromaffin cells of the guinea-pig ileum." Neurogastroenterol Motil **16**(5): 511-514.
24. Bertrand, P. P. and R. L. Bertrand (2010). "Serotonin release and uptake in the gastrointestinal tract." Auton Neurosci **153**(1-2): 47-57.
25. Birdsall, T. C. (1998). "5-Hydroxytryptophan: a clinically-effective serotonin precursor." Altern Med Rev **3**(4): 271-280.
26. Boado, R. J., J. Y. Li, M. Nagaya, C. Zhang and W. M. Pardridge (1999). "Selective expression of the large neutral amino acid transporter at the blood-brain barrier." Proc Natl Acad Sci U S A **96**(21): 12079-12084.
27. Bock, J., M. S. Murmu, Y. Biala, M. Weinstock and K. Braun (2011). "Prenatal stress and neonatal handling induce sex-specific changes in dendritic complexity and dendritic spine density in hippocampal subregions of prepubertal rats." Neuroscience **193**: 34-43.
28. Bock, K. W. and C. Kohle (2005). "UDP-glucuronosyltransferase 1A6: structural, functional, and regulatory aspects." Methods Enzymol **400**: 57-75.
29. Bodden, C., S. H. Richter, R. S. Schreiber, V. Kloke, J. Gerss, R. Palme, K. P. Lesch, L. Lewejohann, S. Kaiser and N. Sachser (2015). "Benefits of adversity?! How life history affects the behavioral profile of mice varying in serotonin transporter genotype." Front Behav Neurosci **9**: 47.



30. Bogdanski, D. F., H. Weissbach and S. Udenfriend (1957). "The distribution of serotonin, 5-hydroxytryptophan decarboxylase, and monoamine oxidase in brain." J Neurochem **1**(3): 272-278.
31. Borba, T. K., L. C. M. Galindo, K. N. Ferraz-Pereira, R. da Silva Aragao, A. E. Toscano, O. Guzman-Quevedo and R. Manhaes-de-Castro (2017). "Peripheral and Central Glucocorticoid Signaling Contributes to Positive Energy Balance in Rats." Horm Metab Res **49**(6): 472-479.
32. Bostancikloglu, M. (2020). "Optogenetic stimulation of serotonin nuclei retrieve the lost memory in Alzheimer's disease." J Cell Physiol **235**(2): 836-847.
33. Bourgoin, S., A. Faivre-Bauman, P. Benda, J. Glowinski and M. Hamon (1974). "Plasma tryptophan and 5-HT metabolism in the CNS of the newborn rat." J Neurochem **23**(2): 319-327.
34. Boyce, W. T. and B. J. Ellis (2005). "Biological sensitivity to context: I. An evolutionary-developmental theory of the origins and functions of stress reactivity." Dev Psychopathol **17**(2): 271-301.
35. Bremner, J. D., J. Licinio, A. Darnell, J. H. Krystal, M. J. Owens, S. M. Southwick, C. B. Nemeroff and D. S. Charney (1997). "Elevated CSF corticotropin-releasing factor concentrations in posttraumatic stress disorder." Am J Psychiatry **154**(5): 624-629.
36. Brenner, B., J. T. Harney, B. A. Ahmed, B. C. Jeffus, R. Unal, J. L. Mehta and F. Kilic (2007). "Plasma serotonin levels and the platelet serotonin transporter." J Neurochem **102**(1): 206-215.
37. Brust, P., A. Friedrich, I. A. Krizbai, R. Bergmann, F. Roux, V. Ganapathy and B. Johannsen (2000). "Functional expression of the serotonin transporter in immortalized rat brain microvessel endothelial cells." J Neurochem **74**(3): 1241-1248.
38. Bulbring, E. and A. Crema (1958). "Observations concerning the action of 5-hydroxytryptamine on the peristaltic reflex." Br J Pharmacol Chemother **13**(4): 444-457.
39. Bulbring, E. and A. Crema (1959). "The release of 5-hydroxytryptamine in relation to pressure exerted on the intestinal mucosa." J Physiol **146**(1): 18-28.
40. Callen, D. J., S. E. Black, F. Gao, C. B. Caldwell and J. P. Szalai (2001). "Beyond the hippocampus: MRI volumetry confirms widespread limbic atrophy in AD." Neurology **57**(9): 1669-1674.
41. Carlsson, A. and M. Lindqvist (1972). "The effect of L-tryptophan and some psychotropic drugs on the formation of 5-hydroxytryptophan in the mouse brain in vivo." J Neural Transm **33**(1): 23-43.
42. Carlsson, A., M. Lindqvist, T. Magnusson and C. Atack (1973). "Effect of acute transection on the synthesis and turnover of 5-HT in the rat spinal cord." Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol **277**(1): 1-12.
43. Carrasco, G. A. and L. D. Van de Kar (2003). "Neuroendocrine pharmacology of stress." Eur J Pharmacol **463**(1-3): 235-272.
44. Chalmers, D. T., S. P. Kwak, A. Mansour, H. Akil and S. J. Watson (1993). "Corticosteroids regulate brain hippocampal 5-HT<sub>1A</sub> receptor mRNA expression." J Neurosci **13**(3): 914-923.

45. Chalmers, D. T., J. F. Lopez, D. M. Vazquez, H. Akil and S. J. Watson (1994). "Regulation of hippocampal 5-HT<sub>1A</sub> receptor gene expression by dexamethasone." Neuropsychopharmacology **10**(3): 215-222.
46. Chen, N. H., M. E. Reith and M. W. Quick (2004). "Synaptic uptake and beyond: the sodium- and chloride-dependent neurotransmitter transporter family SLC6." Pflugers Arch **447**(5): 519-531.
47. Choi, S. H., Y. B. Kim, S. H. Paek and Z. H. Cho (2019). "Papez Circuit Observed by in vivo Human Brain With 7.0T MRI Super-Resolution Track Density Imaging and Track Tracing." Front Neuroanat **13**: 17.
48. Christian, K. M., A. D. Miracle, C. L. Wellman and K. Nakazawa (2011). "Chronic stress-induced hippocampal dendritic retraction requires CA3 NMDA receptors." Neuroscience **174**: 26-36.
49. Clark, C. T., H. Weissbach and S. Udenfriend (1954). "5-Hydroxytryptophan decarboxylase: preparation and properties." J Biol Chem **210**(1): 139-148.
50. Cohen, H., N. Kozlovsky, M. A. Matar, J. Zohar and Z. Kaplan (2014). "Distinctive hippocampal and amygdalar cytoarchitectural changes underlie specific patterns of behavioral disruption following stress exposure in an animal model of PTSD." Eur Neuropsychopharmacol **24**(12): 1925-1944.
51. Cole, R. L. and P. E. Sawchenko (2002). "Neurotransmitter regulation of cellular activation and neuropeptide gene expression in the paraventricular nucleus of the hypothalamus." J Neurosci **22**(3): 959-969.
52. Conrad, C. D. (2006). "What is the functional significance of chronic stress-induced CA3 dendritic retraction within the hippocampus?" Behav Cogn Neurosci Rev **5**(1): 41-60.
53. Conrad, C. D., J. E. LeDoux, A. M. Magarinos and B. S. McEwen (1999). "Repeated restraint stress facilitates fear conditioning independently of causing hippocampal CA3 dendritic atrophy." Behav Neurosci **113**(5): 902-913.
54. Copenhaver, B. R., L. A. Rabin, A. J. Saykin, R. M. Roth, H. A. Wishart, L. A. Flashman, R. B. Santulli, T. L. McHugh and A. C. Mamourian (2006). "The fornix and mammillary bodies in older adults with Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, and cognitive complaints: a volumetric MRI study." Psychiatry Res **147**(2-3): 93-103.
55. Cotzias, G. C. and V. P. Dole (1951). "Metabolism of amines. II. Mitochondrial localization of monoamine oxidase." Proc Soc Exp Biol Med **78**(1): 157-160.
56. Crawley, J. and F. K. Goodwin (1980). "Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines." Pharmacol Biochem Behav **13**(2): 167-170.
57. Curzon, G., J. Friedel and P. J. Knott (1973). "The effect of fatty acids on the binding of tryptophan to plasma protein." Nature **242**(5394): 198-200.
58. Curzon, G. and A. R. Green (1971). "Regional and subcellular changes in the concentration of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid in the rat brain caused by hydrocortisone, DL- -methyl-tryptophan l-kynurenine and immobilization." Br J Pharmacol **43**(1): 39-52.
59. Curzon, G., M. H. Joseph and P. J. Knott (1972). "Effects of immobilization and food deprivation on rat brain tryptophan metabolism." J Neurochem **19**(8): 1967-1974.

60. Dakshinamurti, K., C. S. Paulose, M. Viswanathan, Y. L. Siow, S. K. Sharma and B. Bolster (1990). "Neurobiology of pyridoxine." Ann N Y Acad Sci **585**: 128-144.
61. Dakshinamurti, K., S. K. Sharma and D. Bonke (1990). "Influence of B vitamins on binding properties of serotonin receptors in the CNS of rats." Klin Wochenschr **68**(2): 142-145.
62. Daskalakis, N. P., R. C. Bagot, K. J. Parker, C. H. Vinkers and E. R. de Kloet (2013). "The three-hit concept of vulnerability and resilience: toward understanding adaptation to early-life adversity outcome." Psychoneuroendocrinology **38**(9): 1858-1873.
63. Davis, J. N. and A. Carlsson (1973). "The effect of hypoxia on monoamine synthesis, levels and metabolism in rat brain." J Neurochem **21**(4): 783-790.
64. de Kloet, E. R., M. Joels and F. Holsboer (2005). "Stress and the brain: from adaptation to disease." Nat Rev Neurosci **6**(6): 463-475.
65. de Quervain, D., L. Schwabe and B. Roozendaal (2017). "Stress, glucocorticoids and memory: implications for treating fear-related disorders." Nat Rev Neurosci **18**(1): 7-19.
66. Destrieux, C., D. Bourry and S. Velut (2013). "Surgical anatomy of the hippocampus." Neurochirurgie **59**(4-5): 149-158.
67. Diaz, P. M., S. H. Ngai and E. Costa (1968). "Factors modulating brain serotonin turnover." Adv Pharmacol **6**(Pt B): 75-92.
68. Drakew, A., M. Muller, B. H. Gahwiler, S. M. Thompson and M. Frotscher (1996). "Spine loss in experimental epilepsy: quantitative light and electron microscopic analysis of intracellularly stained CA3 pyramidal cells in hippocampal slice cultures." Neuroscience **70**(1): 31-45.
69. Dudai, Y., A. Karni and J. Born (2015). "The Consolidation and Transformation of Memory." Neuron **88**(1): 20-32.
70. Eccleston, D., I. M. Ritchie and M. H. Roberts (1970). "Long term effects of midbrain stimulation on 5-hydroxyindole synthesis in rat brain." Nature **226**(5240): 84-85.
71. Egashira, T. and W. J. Waddell (1984). "Histochemical localization of monoamine oxidase in whole-body, freeze-dried sections of mice." Histochem J **16**(9): 919-929.
72. Eiden, L. E., M. K. Schafer, E. Weihe and B. Schutz (2004). "The vesicular amine transporter family (SLC18): amine/proton antiporters required for vesicular accumulation and regulated exocytotic secretion of monoamines and acetylcholine." Pflugers Arch **447**(5): 636-640.
73. El-Gaby, M., O. A. Shipton and O. Paulsen (2015). "Synaptic Plasticity and Memory: New Insights from Hippocampal Left-Right Asymmetries." Neuroscientist **21**(5): 490-502.
74. Elwood, R. W. and H. F. Kennedy (1991). "Selectivity in paternal and infanticidal responses by male mice: effects of relatedness, location, and previous sexual partners." Behav Neural Biol **56**(2): 129-147.
75. Engelstoft, M. S., M. L. Lund, K. V. Grunddal, K. L. Egerod, S. Osborne-Lawrence, S. S. Poulsen, J. M. Zigman and T. W. Schwartz (2015). "Research Resource: A Chromogranin A Reporter for Serotonin and Histamine Secreting Enteroendocrine Cells." Mol Endocrinol **29**(11): 1658-1671.

76. Engert, F. and T. Bonhoeffer (1999). "Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity." Nature **399**(6731): 66-70.
77. Erspamer, V. (1954). "Pharmacology of indole-alkylamines." Pharmacol Rev **6**(4): 425-487.
78. Erspamer, V. and B. Asero (1952). "Identification of enteramine, the specific hormone of the enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine." Nature **169**(4306): 800-801.
79. Escobar, I., J. Xu, C. W. Jackson and M. A. Perez-Pinzon (2019). "Altered Neural Networks in the Papez Circuit: Implications for Cognitive Dysfunction after Cerebral Ischemia." J Alzheimers Dis **67**(2): 425-446.
80. Esler, M., G. Jennings, P. Korner, I. Willett, F. Dudley, G. Hasking, W. Anderson and G. Lambert (1988). "Assessment of human sympathetic nervous system activity from measurements of norepinephrine turnover." Hypertension **11**(1): 3-20.
81. Fabre, V., C. Beaufour, A. Evrard, A. Rioux, N. Hanoun, K. P. Lesch, D. L. Murphy, L. Lanfumey, M. Hamon and M. P. Martres (2000). "Altered expression and functions of serotonin 5-HT1A and 5-HT1B receptors in knock-out mice lacking the 5-HT transporter." Eur J Neurosci **12**(7): 2299-2310.
82. Falkenberg, V. R. and M. S. Rajeevan (2010). "Identification of a potential molecular link between the glucocorticoid and serotonergic signaling systems." J Mol Neurosci **41**(2): 322-327.
83. Fanselow, M. S. and H. W. Dong (2010). "Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures?" Neuron **65**(1): 7-19.
84. Fernstrom, J. D. and R. J. Wurtman (1971). "Brain serotonin content: physiological dependence on plasma tryptophan levels." Science **173**(3992): 149-152.
85. Fernstrom, J. D. and R. J. Wurtman (1972). "Brain serotonin content: physiological regulation by plasma neutral amino acids." Science **178**(4059): 414-416.
86. Fitch, J. M., J. M. Juraska and L. W. Washington (1989). "The dendritic morphology of pyramidal neurons in the rat hippocampal CA3 area. I. Cell types." Brain Res **479**(1): 105-114.
87. Franklin, K. B. J. and G. Paxinos (2013). Paxinos and Franklin's The mouse brain in stereotaxic coordinates. Amsterdam, Elsevier.
88. Freund, T. F., A. I. Gulyas, L. Acsady, T. Gorcs and K. Toth (1990). "Serotonergic control of the hippocampus via local inhibitory interneurons." Proc Natl Acad Sci U S A **87**(21): 8501-8505.
89. Friedman, P. A., A. H. Kappelman and S. Kaufman (1972). "Partial purification and characterization of tryptophan hydroxylase from rabbit hindbrain." J Biol Chem **247**(13): 4165-4173.
90. Fritschy, J. M., W. E. Lyons, C. A. Mullen, B. E. Kosofsky, M. E. Molliver and R. Grzanna (1987). "Distribution of locus coeruleus axons in the rat spinal cord: a combined anterograde transport and immunohistochemical study." Brain Res **437**(1): 176-180.
91. Fukumoto, S., M. Tatewaki, T. Yamada, M. Fujimiya, C. Mantyh, M. Voss, S. Eubanks, M. Harris, T. N. Pappas and T. Takahashi (2003). "Short-chain fatty acids stimulate

- colonic transit via intraluminal 5-HT release in rats." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **284**(5): R1269-1276.
92. Fuxe, K., H. Corrodi, T. Hokfelt and G. Jonsson (1970). "Central monoamine neurons and pituitary-adrenal activity." Prog Brain Res **32**: 42-56.
  93. Gaddum, J. H. and K. A. Hameed (1954). "Drugs which antagonize 5-hydroxytryptamine." Br J Pharmacol Chemother **9**(2): 240-248.
  94. Gaddum, J. H. and Z. P. Picarelli (1957). "Two kinds of tryptamine receptor." Br J Pharmacol Chemother **12**(3): 323-328.
  95. Galea, L. A., B. S. McEwen, P. Tanapat, T. Deak, R. L. Spencer and F. S. Dhabhar (1997). "Sex differences in dendritic atrophy of CA3 pyramidal neurons in response to chronic restraint stress." Neuroscience **81**(3): 689-697.
  96. Ganrot, P. O. and E. Rosengren (1962). "Isolation of a mitochondrial fraction containing monoamine oxidase." Med Exp Int J Exp Med **6**: 315-319.
  97. Gershon, M. D. (2004). "Review article: serotonin receptors and transporters -- roles in normal and abnormal gastrointestinal motility." Aliment Pharmacol Ther **20 Suppl 7**: 3-14.
  98. Gershon, M. D. and R. F. Altman (1971). "An analysis of the uptake of 5-hydroxytryptamine by the myenteric plexus of the small intestine of the guinea pig." J Pharmacol Exp Ther **179**(1): 29-41.
  99. Gershon, M. D. and J. Tack (2007). "The serotonin signaling system: from basic understanding to drug development for functional GI disorders." Gastroenterology **132**(1): 397-414.
  100. Gilbey, M. P. and K. M. Spyer (1993). "Essential organization of the sympathetic nervous system." Baillieres Clin Endocrinol Metab **7**(2): 259-278.
  101. Gjerstad, J. K., S. L. Lightman and F. Spiga (2018). "Role of glucocorticoid negative feedback in the regulation of HPA axis pulsatility." Stress **21**(5): 403-416.
  102. Glaser, E. M. and H. Van der Loos (1981). "Analysis of thick brain sections by obverse-reverse computer microscopy: application of a new, high clarity Golgi-Nissl stain." J Neurosci Methods **4**(2): 117-125.
  103. Gobbi, G., D. L. Murphy, K. Lesch and P. Blier (2001). "Modifications of the serotonergic system in mice lacking serotonin transporters: an in vivo electrophysiological study." J Pharmacol Exp Ther **296**(3): 987-995.
  104. Green, A. R. and M. B. Youdim (1975). "Effects of monoamine oxidase inhibition by clorgyline, deprenil or tranylcypromine on 5-hydroxytryptamine concentrations in rat brain and hyperactivity following subsequent tryptophan administration." Br J Pharmacol **55**(3): 415-422.
  105. Halaris, A. E., B. E. Jones and R. Y. Moore (1976). "Axonal transport in serotonin neurons of the midbrain raphe." Brain Res **107**(3): 555-574.
  106. Hamon, M., S. Bourgoin and J. Glowinski (1973). "Feedback regulation of 5-HT synthesis in rat striatal slices." J Neurochem **20**(6): 1727-1745.

107. Hamon, M. and J. Glowinski (1974). "Regulation of serotonin synthesis." Life Sci **15**(9): 1533-1548.
108. Hediger, M. A., B. Clemençon, R. E. Burrier and E. A. Bruford (2013). "The ABCs of membrane transporters in health and disease (SLC series): introduction." Mol Aspects Med **34**(2-3): 95-107.
109. Heils, A., A. Teufel, S. Petri, M. Seemann, D. Bengel, U. Balling, P. Riederer and K. P. Lesch (1995). "Functional promoter and polyadenylation site mapping of the human serotonin (5-HT) transporter gene." J Neural Transm Gen Sect **102**(3): 247-254.
110. Heils, A., A. Teufel, S. Petri, G. Stober, P. Riederer, D. Bengel and K. P. Lesch (1996). "Allelic variation of human serotonin transporter gene expression." J Neurochem **66**(6): 2621-2624.
111. Heiming, R. S., C. Bodden, F. Jansen, L. Lewejohann, S. Kaiser, K. P. Lesch, R. Palme and N. Sachser (2011). "Living in a dangerous world decreases maternal care: a study in serotonin transporter knockout mice." Horm Behav **60**(4): 397-407.
112. Heiming, R. S., F. Jansen, L. Lewejohann, S. Kaiser, A. Schmitt, K. P. Lesch and N. Sachser (2009). "Living in a dangerous world: the shaping of behavioral profile by early environment and 5-HTT genotype." Front Behav Neurosci **3**: 26.
113. Herman, J. P., J. M. McKlveen, S. Ghosal, B. Kopp, A. Wulsin, R. Makinson, J. Scheimann and B. Myers (2016). "Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Stress Response." Compr Physiol **6**(2): 603-621.
114. Hery, F., J. F. Pujol, M. Lopez, J. Macon and J. Glowinski (1970). "Increased synthesis and utilization of serotonin in the central nervous system of the rat during paradoxical sleep deprivation." Brain Res **21**(3): 391-403.
115. Hery, F., E. Rouer and J. Glowinski (1972). "Daily variations of serotonin metabolism in the rat brain." Brain Res **43**(2): 445-465.
116. Hilber, B., P. Scholze, M. M. Dorostkar, W. Sandtner, M. Holy, S. Boehm, E. A. Singer and H. H. Sitte (2005). "Serotonin-transporter mediated efflux: a pharmacological analysis of amphetamines and non-amphetamines." Neuropharmacology **49**(6): 811-819.
117. Holtmaat, A. and K. Svoboda (2009). "Experience-dependent structural synaptic plasticity in the mammalian brain." Nat Rev Neurosci **10**(9): 647-658.
118. Hornung, J. P. (2003). "The human raphe nuclei and the serotonergic system." J Chem Neuroanat **26**(4): 331-343.
119. Hosseini-Sharifabad, M. and H. Hadinedoushan (2007). "Prenatal stress induces learning deficits and is associated with a decrease in granules and CA3 cell dendritic tree size in rat hippocampus." Anat Sci Int **82**(4): 211-217.
120. Hoyer, D., D. E. Clarke, J. R. Fozard, P. R. Hartig, G. R. Martin, E. J. Mylecharane, P. R. Saxena and P. P. Humphrey (1994). "International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin)." Pharmacol Rev **46**(2): 157-203.
121. Hruska, M., N. Henderson, S. J. Le Marchand, H. Jafri and M. B. Dalva (2018). "Synaptic nanomodules underlie the organization and plasticity of spine synapses." Nat Neurosci **21**(5): 671-682.

122. Humphrey, J. H. and C. C. Toh (1954). "Absorption of serotonin (5-hydroxytryptamine) and histamine by dog platelets." J Physiol **124**(2): 300-304.
123. Ichiyama, A., S. Nakamura, Y. Nishizuka and O. Hayaishi (1970). "Enzymic studies on the biosynthesis of serotonin in mammalian brain." J Biol Chem **245**(7): 1699-1709.
124. Ishiwata, H., T. Shiga and N. Okado (2005). "Selective serotonin reuptake inhibitor treatment of early postnatal mice reverses their prenatal stress-induced brain dysfunction." Neuroscience **133**(4): 893-901.
125. Ishizuka, N., J. Weber and D. G. Amaral (1990). "Organization of intrahippocampal projections originating from CA3 pyramidal cells in the rat." J Comp Neurol **295**(4): 580-623.
126. Jakobsen, A. M., P. Andersson, G. Saglik, E. Andersson, L. Kolby, J. D. Erickson, E. Forssell-Aronsson, B. Wangberg, H. Ahlman and O. Nilsson (2001). "Differential expression of vesicular monoamine transporter (VMAT) 1 and 2 in gastrointestinal endocrine tumours." J Pathol **195**(4): 463-472.
127. Jansen, F., R. S. Heiming, L. Lewejohann, C. Touma, R. Palme, A. Schmitt, K. P. Lesch and N. Sachser (2010). "Modulation of behavioural profile and stress response by 5-HTT genotype and social experience in adulthood." Behav Brain Res **207**(1): 21-29.
128. Jequier, E., D. S. Robinson, W. Lovenberg and A. Sjoerdsma (1969). "Further studies on tryptophan hydroxylase in rat brainstem and beef pineal." Biochem Pharmacol **18**(5): 1071-1081.
129. Johnston, J. P. (1968). "Some observations upon a new inhibitor of monoamine oxidase in brain tissue." Biochem Pharmacol **17**(7): 1285-1297.
130. Jonakait, G. M., H. Tamir, A. R. Gintzler and M. D. Gershon (1979). "Release of [3H]serotonin and its binding protein from enteric neurons." Brain Res **174**(1): 55-69.
131. Jonakait, G. M., H. Tamir, M. M. Rapport and M. D. Gershon (1977). "Detection of a soluble serotonin-binding protein in the mammalian myenteric plexus and other peripheral sites of serotonin storage." J Neurochem **28**(2): 277-284.
132. Joseph, M. H. and G. A. Kennett (1983). "Stress-induced release of 5-HT in the hippocampus and its dependence on increased tryptophan availability: an in vivo electrochemical study." Brain Res **270**(2): 251-257.
133. Juraska, J. M., J. M. Fitch and D. L. Washburne (1989). "The dendritic morphology of pyramidal neurons in the rat hippocampal CA3 area. II. Effects of gender and the environment." Brain Res **479**(1): 115-119.
134. Kanai, Y., H. Segawa, K. Miyamoto, H. Uchino, E. Takeda and H. Endou (1998). "Expression cloning and characterization of a transporter for large neutral amino acids activated by the heavy chain of 4F2 antigen (CD98)." J Biol Chem **273**(37): 23629-23632.
135. Karabeg, M. M., S. Grauthoff, S. Y. Kollert, M. Weidner, R. S. Heiming, F. Jansen, S. Popp, S. Kaiser, K. P. Lesch, N. Sachser, A. G. Schmitt and L. Lewejohann (2013). "5-HTT deficiency affects neuroplasticity and increases stress sensitivity resulting in altered spatial learning performance in the Morris water maze but not in the Barnes maze." PLoS One **8**(10): e78238.

136. Kempermann, G., H. Song and F. H. Gage (2015). "Neurogenesis in the Adult Hippocampus." Cold Spring Harb Perspect Biol **7**(9): a018812.
137. Kiernan, J. A. (2012). "Anatomy of the temporal lobe." Epilepsy Res Treat **2012**: 176157.
138. Killian, D. M. and P. J. Chikhale (2001). "Predominant functional activity of the large, neutral amino acid transporter (LAT1) isoform at the cerebrovasculature." Neurosci Lett **306**(1-2): 1-4.
139. Kim, D. K., T. J. Tolliver, S. J. Huang, B. J. Martin, A. M. Andrews, C. Wichems, A. Holmes, K. P. Lesch and D. L. Murphy (2005). "Altered serotonin synthesis, turnover and dynamic regulation in multiple brain regions of mice lacking the serotonin transporter." Neuropharmacology **49**(6): 798-810.
140. Kim, J. H., Y. D. Son, J. H. Kim, E. J. Choi, S. Y. Lee, J. E. Lee, Z. H. Cho and Y. B. Kim (2015). "Serotonin transporter availability in thalamic subregions in schizophrenia: a study using 7.0-T MRI with [(11)C]DASB high-resolution PET." Psychiatry Res **231**(1): 50-57.
141. Kim, J. J. and J. Haller (2007). "Glucocorticoid hyper- and hypofunction: stress effects on cognition and aggression." Ann N Y Acad Sci **1113**: 291-303.
142. Klinzing, J. G., N. Niethard and J. Born (2019). "Mechanisms of systems memory consolidation during sleep." Nat Neurosci **22**(10): 1598-1610.
143. Knapp, S. and A. J. Mandell (1972). "Parachlorophenylalanine--its three phase sequence of interactions with the two forms of brain tryptophan hydroxylase." Life Sci I **11**(16): 761-771.
144. Knapp, S. and A. J. Mandell (1973). "Short- and long-term lithium administration: effects on the brain's serotonergic biosynthetic systems." Science **180**(4086): 645-647.
145. Knierim, J. J. (2015). "The hippocampus." Curr Biol **25**(23): R1116-1121.
146. Knott, P. J. and G. Curzon (1972). "Free tryptophan in plasma and brain tryptophan metabolism." Nature **239**(5373): 452-453.
147. Kohle, C., O. A. Badary, K. Nill, B. S. Bock-Hennig and K. W. Bock (2005). "Serotonin glucuronidation by Ah receptor- and oxidative stress-inducibile human UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A6 in Caco-2 cells." Biochem Pharmacol **69**(9): 1397-1402.
148. Kole, M. H., T. Costoli, J. M. Koolhaas and E. Fuchs (2004). "Bidirectional shift in the cornu ammonis 3 pyramidal dendritic organization following brief stress." Neuroscience **125**(2): 337-347.
149. Kondo, H., P. Lavenex and D. G. Amaral (2009). "Intrinsic connections of the macaque monkey hippocampal formation: II. CA3 connections." J Comp Neurol **515**(3): 349-377.
150. Konradi, C., J. Kornhuber, L. Froelich, J. Fritze, H. Heinsen, H. Beckmann, E. Schulz and P. Riederer (1989). "Demonstration of monoamine oxidase-A and -B in the human brainstem by a histochemical technique." Neuroscience **33**(2): 383-400.
151. Konradi, C., E. Svoma, K. Jellinger, P. Riederer, R. Denney and J. Thibault (1988). "Topographic immunocytochemical mapping of monoamine oxidase-A, monoamine



- oxidase-B and tyrosine hydroxylase in human post mortem brain stem." Neuroscience **26**(3): 791-802.
152. Krishnaswamy, S., S. X. Duan, L. L. Von Moltke, D. J. Greenblatt and M. H. Court (2003). "Validation of serotonin (5-hydroxytryptamine) as an in vitro substrate probe for human UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A6." Drug Metab Dispos **31**(1): 133-139.
  153. Kuhar, M. J., G. K. Aghajanian and R. H. Roth (1972). "Tryptophan hydroxylase activity and synaptosomal uptake of serotonin in discrete brain regions after midbrain raphe lesions: correlations with serotonin levels and histochemical fluorescence." Brain Res **44**(1): 165-176.
  154. Kumar, J. S. and J. J. Mann (2014). "PET tracers for serotonin receptors and their applications." Cent Nerv Syst Agents Med Chem **14**(2): 96-112.
  155. Kvetnansky, R., G. P. Gewirtz, V. K. Weise and I. J. Kopin (1970). "Effect of hypophysectomy on immobilization-induced elevation of tyrosine hydroxylase and phenylethanolamine-N-methyl transferase in the rat adrenal." Endocrinology **87**(6): 1323-1329.
  156. Lacaille, J. C. and P. A. Schwartzkroin (1988). "Stratum lacunosum-moleculare interneurons of hippocampal CA1 region. II. Intracellular and intradendritic recordings of local circuit synaptic interactions." J Neurosci **8**(4): 1411-1424.
  157. Lambert, K. G., S. K. Buckelew, G. Staffiso-Sandoz, S. Gaffga, W. Carpenter, J. Fisher and C. H. Kinsley (1998). "Activity-stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal pyramidal neurons in male rats." Physiol Behav **65**(1): 43-49.
  158. Laplante, P., J. Diorio and M. J. Meaney (2002). "Serotonin regulates hippocampal glucocorticoid receptor expression via a 5-HT7 receptor." Brain Res Dev Brain Res **139**(2): 199-203.
  159. Le Floc'h, N., W. Otten and E. Merlot (2011). "Tryptophan metabolism, from nutrition to potential therapeutic applications." Amino Acids **41**(5): 1195-1205.
  160. Lepschy, M., C. Touma and R. Palme (2010). "Faecal glucocorticoid metabolites: how to express yourself - comparison of absolute amounts versus concentrations in samples from a study in laboratory rats." Lab Anim **44**(3): 192-198.
  161. Lesch, K. P., D. Bengel, A. Heils, S. Z. Sabol, B. D. Greenberg, S. Petri, J. Benjamin, C. R. Muller, D. H. Hamer and D. L. Murphy (1996). "Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region." Science **274**(5292): 1527-1531.
  162. Lesurtel, M., R. Graf, B. Aleil, D. J. Walther, Y. Tian, W. Jochum, C. Gachet, M. Bader and P. A. Clavien (2006). "Platelet-derived serotonin mediates liver regeneration." Science **312**(5770): 104-107.
  163. Lewejohann, L., V. Kloke, R. S. Heiming, F. Jansen, S. Kaiser, A. Schmitt, K. P. Lesch and N. Sachser (2010). "Social status and day-to-day behaviour of male serotonin transporter knockout mice." Behav Brain Res **211**(2): 220-228.
  164. Li, Q., C. Wichems, A. Heils, K. P. Lesch and D. L. Murphy (2000). "Reduction in the density and expression, but not G-protein coupling, of serotonin receptors (5-HT1A) in 5-HT transporter knock-out mice: gender and brain region differences." J Neurosci **20**(21): 7888-7895.

165. Li, X., Y. Fan, S. Xiao, S. Peng, X. Dong, X. Zheng, C. C. Liu, H. Li and Z. Xiao (2015). "Decreased platelet 5-hydroxytryptamin (5-HT) levels: a response to antidepressants." J Affect Disord **187**: 84-90.
166. Li, X. G., P. Somogyi, A. Ylinen and G. Buzsaki (1994). "The hippocampal CA3 network: an in vivo intracellular labeling study." J Comp Neurol **339**(2): 181-208.
167. Lin, S. H., I. H. Lee, K. C. Chen, P. S. Chen, N. T. Chiu, W. J. Yao and Y. K. Yang (2015). "Serotonin transporter availability may moderate the association between perceiving stress and depressive tendencies - A SPECT with 5-HTTLPR genotyping study." Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry **61**: 24-29.
168. Lister, R. G. (1987). "The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse." Psychopharmacology (Berl) **92**(2): 180-185.
169. Lister, R. G. (1990). "Ethologically-based animal models of anxiety disorders." Pharmacol Ther **46**(3): 321-340.
170. López, J. F., D. T. Chalmers, K. Y. Little and S. J. Watson (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.
171. Lorente de Nó, R. (1934). "Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the ammonic system." Journal für Psychologie und Neurologie **46**: 113-175.
172. Lovenberg, W., H. Weissbach and S. Udenfriend (1962). "Aromatic L-amino acid decarboxylase." J Biol Chem **237**: 89-93.
173. Lowy, M. T., L. Gault and B. K. Yamamoto (1993). "Adrenalectomy attenuates stress-induced elevations in extracellular glutamate concentrations in the hippocampus." J Neurochem **61**(5): 1957-1960.
174. Lund-Andersen, H. (1979). "Transport of glucose from blood to brain." Physiol Rev **59**(2): 305-352.
175. Lund, M. L., K. L. Egerod, M. S. Engelstoft, O. Dmytriyeva, E. Theodorsson, B. A. Patel and T. W. Schwartz (2018). "Enterochromaffin 5-HT cells - A major target for GLP-1 and gut microbial metabolites." Mol Metab **11**: 70-83.
176. Macon, J. B., L. Sokoloff and J. Glowinski (1971). "Feedback control of rat brain 5-hydroxytryptamine synthesis." J Neurochem **18**(3): 323-331.
177. Madden, J. t., H. Akil, R. L. Patrick and J. D. Barchas (1977). "Stress-induced parallel changes in central opioid levels and pain responsiveness in the rat." Nature **265**(5592): 358-360.
178. Madras, B. K., E. L. Cohen, J. D. Fernstrom, F. Larin, H. N. Munro and R. J. Wurtman (1973). "Letter: Dietary carbohydrate increases brain tryptophan and decreases free plasma tryptophan." Nature **244**(5410): 34-35.
179. Magarinos, A. M., A. Deslandes and B. S. McEwen (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.

180. Magarinos, A. M., C. J. Li, J. Gal Toth, K. G. Bath, D. Jing, F. S. Lee and B. S. McEwen (2011). "Effect of brain-derived neurotrophic factor haploinsufficiency on stress-induced remodeling of hippocampal neurons." Hippocampus **21**(3): 253-264.
181. Magarinos, A. M. and B. S. McEwen (1995). "Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons: comparison of stressors." Neuroscience **69**(1): 83-88.
182. Magarinos, A. M. and B. S. McEwen (1995a). "Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons: involvement of glucocorticoid secretion and excitatory amino acid receptors." Neuroscience **69**(1): 89-98.
183. Malouf, A. T., C. A. Robbins and P. A. Schwartzkroin (1990). "Phaclofen inhibition of the slow inhibitory postsynaptic potential in hippocampal slice cultures: a possible role for the GABAB-mediated inhibitory postsynaptic potential." Neuroscience **35**(1): 53-61.
184. Martin, A. M., R. L. Young, L. Leong, G. B. Rogers, N. J. Spencer, C. F. Jessup and D. J. Keating (2017). "The Diverse Metabolic Roles of Peripheral Serotonin." Endocrinology **158**(5): 1049-1063.
185. Martinez-Tellez, R. I., E. Hernandez-Torres, C. Gamboa and G. Flores (2009). "Prenatal stress alters spine density and dendritic length of nucleus accumbens and hippocampus neurons in rat offspring." Synapse **63**(9): 794-804.
186. Masini-Repiso, A. M., A. M. Cabanillas, M. C. Andrada and A. H. Coleoni (1986). "Monoamine oxidase in bovine thyroid tissue." Horm Metab Res **18**(11): 750-753.
187. Mathews, T. A., D. E. Fedele, F. M. Coppelli, A. M. Avila, D. L. Murphy and A. M. Andrews (2004). "Gene dose-dependent alterations in extraneuronal serotonin but not dopamine in mice with reduced serotonin transporter expression." J Neurosci Methods **140**(1-2): 169-181.
188. Maurer-Spurej, E., C. Pittendreigh and K. Solomons (2004). "The influence of selective serotonin reuptake inhibitors on human platelet serotonin." Thromb Haemost **91**(1): 119-128.
189. McEwen, B. S. (1998). "Stress, adaptation, and disease. Allostasis and allostatic load." Ann N Y Acad Sci **840**: 33-44.
190. McEwen, B. S. (2003). "Mood disorders and allostatic load." Biol Psychiatry **54**(3): 200-207.
191. McEwen, B. S., C. D. Conrad, Y. Kuroda, M. Frankfurt, A. M. Magarinos and C. McKittrick (1997). "Prevention of stress-induced morphological and cognitive consequences." Eur Neuropsychopharmacol **7 Suppl 3**: S323-328.
192. McIlwain, K. L., M. Y. Merriweather, L. A. Yuva-Paylor and R. Paylor (2001). "The use of behavioral test batteries: effects of training history." Physiol Behav **73**(5): 705-717.
193. McKercher, D. G. (1942). "The Endocrine System and Hormones." Can J Comp Med Vet Sci **6**(3): 63-77.
194. McKittrick, C. R., D. C. Blanchard, R. J. Blanchard, B. S. McEwen and R. R. Sakai (1995). "Serotonin receptor binding in a colony model of chronic social stress." Biol Psychiatry **37**(6): 383-393.
195. McKittrick, C. R., A. M. Magarinos, D. C. Blanchard, R. J. Blanchard, B. S. McEwen and R. R. Sakai (2000). "Chronic social stress reduces dendritic arbors in CA3 of

- hippocampus and decreases binding to serotonin transporter sites." *Synapse* **36**(2): 85-94.
196. McLaughlin, K. J., J. L. Gomez, S. E. Baran and C. D. Conrad (2007). "The effects of chronic stress on hippocampal morphology and function: an evaluation of chronic restraint paradigms." *Brain Res* **1161**: 56-64.
  197. McMenamy, R. H. and J. L. Oncley (1958). "The specific binding of L-tryptophan to serum albumin." *J Biol Chem* **233**(6): 1436-1447.
  198. McMullen, P. A., J. A. Saint-Cyr and P. L. Carlen (1984). "Morphological alterations in rat CA1 hippocampal pyramidal cell dendrites resulting from chronic ethanol consumption and withdrawal." *J Comp Neurol* **225**(1): 111-118.
  199. McNaughton, N. (1997). "Cognitive dysfunction resulting from hippocampal hyperactivity--a possible cause of anxiety disorder?" *Pharmacol Biochem Behav* **56**(4): 603-611.
  200. Mendelson, S. D. and B. S. McEwen (1992). "Autoradiographic analyses of the effects of adrenalectomy and corticosterone on 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptors in the dorsal hippocampus and cortex of the rat." *Neuroendocrinology* **55**(4): 444-450.
  201. Mennini, T. and A. Miari (1991). "Modulation of [3H]-glutamate binding by serotonin in the rat hippocampus: an autoradiographic study." *Life Sci* **49**(4): 283-292.
  202. Meyer, D., T. Bonhoeffer and V. Scheuss (2014). "Balance and stability of synaptic structures during synaptic plasticity." *Neuron* **82**(2): 430-443.
  203. Miller, J. M., B. A. Everett, M. A. Oquendo, R. T. Ogden, J. J. Mann and R. V. Parsey (2016). "Positron emission tomography quantification of serotonin transporter binding in medication-free bipolar disorder." *Synapse* **70**(1): 24-32.
  204. Montanez, S., W. A. Owens, G. G. Gould, D. L. Murphy and L. C. Daws (2003). "Exaggerated effect of fluvoxamine in heterozygote serotonin transporter knockout mice." *J Neurochem* **86**(1): 210-219.
  205. Morot-Gaudry, Y., M. Hamon, S. Bourgoin, J. P. Ley and J. Glowinski (1974). "Estimation of the rate of 5-HT synthesis in the mouse brain by various methods." *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **282**(3): 223-238.
  206. Murphy, D. L., M. A. Fox, K. R. Timpano, P. R. Moya, R. Ren-Patterson, A. M. Andrews, A. Holmes, K. P. Lesch and J. R. Wendland (2008). "How the serotonin story is being rewritten by new gene-based discoveries principally related to SLC6A4, the serotonin transporter gene, which functions to influence all cellular serotonin systems." *Neuropharmacology* **55**(6): 932-960.
  207. Murrough, J. W., Y. Huang, J. Hu, S. Henry, W. Williams, J. D. Gallezot, C. R. Bailey, J. H. Krystal, R. E. Carson and A. Neumeister (2011). "Reduced amygdala serotonin transporter binding in posttraumatic stress disorder." *Biol Psychiatry* **70**(11): 1033-1038.
  208. Nakatani, Y., I. Sato-Suzuki, N. Tsujino, A. Nakasato, Y. Seki, M. Fumoto and H. Arita (2008). "Augmented brain 5-HT crosses the blood-brain barrier through the 5-HT transporter in rat." *Eur J Neurosci* **27**(9): 2466-2472.
  209. Navarro, J. F. (1997). "An ethoexperimental analysis of the agonistic interactions in isolated male mice: comparison of OF-1 and NMRI strains." *Psicothema* **9**(2): 333-336.

210. Nemeroff, C. B., E. Widerlov, G. Bissette, H. Walleus, I. Karlsson, K. Eklund, C. D. Kilts, P. T. Loosen and W. Vale (1984). "Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients." Science **226**(4680): 1342-1344.
211. Neumeister, A., W. Pirker, M. Willeit, N. Praschak-Rieder, S. Asenbaum, T. Brucke and S. Kasper (2000). "Seasonal variation of availability of serotonin transporter binding sites in healthy female subjects as measured by [123I]-2 beta-carbomethoxy-3 beta-(4-iodophenyl)tropane and single photon emission computed tomography." Biol Psychiatry **47**(2): 158-160.
212. Niessen, J., G. Jedlitschky, A. Greinacher and H. K. Kroemer (2010). "Isolation of platelet granules." Curr Protoc Cell Biol **Chapter 3**: Unit 3.35.
213. Nietzer, S. L., M. Bonn, F. Jansen, R. S. Heiming, L. Lewejohann, N. Sachser, E. S. Asan, K. P. Lesch and A. G. Schmitt (2011). "Serotonin transporter knockout and repeated social defeat stress: impact on neuronal morphology and plasticity in limbic brain areas." Behav Brain Res **220**(1): 42-54.
214. Nikishin, D. A., N. M. Alyoshina, M. L. Semenova and Y. B. Shmukler (2019). "Analysis of Expression and Functional Activity of Aromatic L-Amino Acid Decarboxylase (DDC) and Serotonin Transporter (SERT) as Potential Sources of Serotonin in Mouse Ovary." Int J Mol Sci **20**(12).
215. Nusser, Z., R. Lujan, G. Laube, J. D. Roberts, E. Molnar and P. Somogyi (1998). "Cell type and pathway dependence of synaptic AMPA receptor number and variability in the hippocampus." Neuron **21**(3): 545-559.
216. O'Connor, J. M. (1912). "Über den Adrenalingehalt des Blutes." Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie **67**(3): 195-232.
217. O'Kane, R. L. and R. A. Hawkins (2003). "Na<sup>+</sup>-dependent transport of large neutral amino acids occurs at the abluminal membrane of the blood-brain barrier." Am J Physiol Endocrinol Metab **285**(6): E1167-1173.
218. O'Leary, O. F. and J. F. Cryan (2014). "A ventral view on antidepressant action: roles for adult hippocampal neurogenesis along the dorsoventral axis." Trends Pharmacol Sci **35**(12): 675-687.
219. O'Mahony, S. M., G. Clarke, Y. E. Borre, T. G. Dinan and J. F. Cryan (2015). "Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis." Behav Brain Res **277**: 32-48.
220. O'Neill, D. (1958). "Stress and disease: a review of principles." Br Med J **2**(5091): 285-287.
221. Okamoto, K., T. Nagai, A. Miyawaki and Y. Hayashi (2004). "Rapid and persistent modulation of actin dynamics regulates postsynaptic reorganization underlying bidirectional plasticity." Nat Neurosci **7**(10): 1104-1112.
222. Oldendorf, W. H. (1973). "Stereospecificity of blood-brain barrier permeability to amino acids." Am J Physiol **224**(4): 967-969.
223. Oldendorf, W. H. and J. Szabo (1976). "Amino acid assignment to one of three blood-brain barrier amino acid carriers." Am J Physiol **230**(1): 94-98.

224. Oliveira, N. S., R. Gazola and G. Singi (2002). "Effects of vasoconstrictors used in local anesthesia upon isolated rat heart." Pharmacol Res **46**(1): 15-18.
225. Orchinik, M., S. S. Carroll, Y. H. Li, B. S. McEwen and N. G. Weiland (2001). "Heterogeneity of hippocampal GABA(A) receptors: regulation by corticosterone." J Neurosci **21**(1): 330-339.
226. Orr, G., G. Rao, F. P. Houston, B. L. McNaughton and C. A. Barnes (2001). "Hippocampal synaptic plasticity is modulated by theta rhythm in the fascia dentata of adult and aged freely behaving rats." Hippocampus **11**(6): 647-654.
227. Ortiz, J. B., K. J. McLaughlin, G. F. Hamilton, S. E. Baran, A. N. Campbell and C. D. Conrad (2013). "Cholesterol and perhaps estradiol protect against corticosterone-induced hippocampal CA3 dendritic retraction in gonadectomized female and male rats." Neuroscience **246**: 409-421.
228. Ou, X. M., K. Chen and J. C. Shih (2006). "Glucocorticoid and androgen activation of monoamine oxidase A is regulated differently by R1 and Sp1." J Biol Chem **281**(30): 21512-21525.
229. Palomero-Gallagher, N., O. Kedo, H. Mohlberg, K. Zilles and K. Amunts (2020). "Multimodal mapping and analysis of the cyto- and receptorarchitecture of the human hippocampus." Brain Struct Funct.
230. Pan, H. and M. D. Gershon (2000). "Activation of intrinsic afferent pathways in submucosal ganglia of the guinea pig small intestine." J Neurosci **20**(9): 3295-3309.
231. Papez, J. W. (1995). "A proposed mechanism of emotion. 1937." J Neuropsychiatry Clin Neurosci **7**(1): 103-112.
232. Pawluski, J. L., A. Valenca, A. I. Santos, J. P. Costa-Nunes, H. W. Steinbusch and T. Strekalova (2012). "Pregnancy or stress decrease complexity of CA3 pyramidal neurons in the hippocampus of adult female rats." Neuroscience **227**: 201-210.
233. Pellow, S., P. Chopin, S. E. File and M. Briley (1985). "Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat." J Neurosci Methods **14**(3): 149-167.
234. Penalva, R. G., C. Flachskamm, S. Zimmermann, W. Wurst, F. Holsboer, J. M. Reul and A. C. Linthorst (2002). "Corticotropin-releasing hormone receptor type 1-deficiency enhances hippocampal serotonergic neurotransmission: an in vivo microdialysis study in mutant mice." Neuroscience **109**(2): 253-266.
235. Peters, D. A., P. L. McGeer and E. G. McGeer (1968). "The distribution of tryptophan hydroxylase in cat brain." J Neurochem **15**(12): 1431-1435.
236. Pignatti, E., S. Leng, D. L. Carlone and D. T. Breault (2017). "Regulation of zonation and homeostasis in the adrenal cortex." Mol Cell Endocrinol **441**: 146-155.
237. Praschak-Rieder, N., M. Willeit, A. A. Wilson, S. Houle and J. H. Meyer (2008). "Seasonal variation in human brain serotonin transporter binding." Arch Gen Psychiatry **65**(9): 1072-1078.
238. Prince, L. Y., T. J. Bacon, C. M. Tigaret and J. R. Mellor (2016). "Neuromodulation of the Feedforward Dentate Gyrus-CA3 Microcircuit." Front Synaptic Neurosci **8**: 32.

239. Pyapali, G. K. and D. A. Turner (1994). "Denervation-induced dendritic alterations in CA1 pyramidal cells following kainic acid hippocampal lesions in rats." Brain Res **652**(2): 279-290.
240. Qiao, H., M. X. Li, C. Xu, H. B. Chen, S. C. An and X. M. Ma (2016). "Dendritic Spines in Depression: What We Learned from Animal Models." Neural Plast **2016**: 8056370.
241. Qu, Y., C. Yang, Q. Ren, M. Ma, C. Dong and K. Hashimoto (2018). "Regional differences in dendritic spine density confer resilience to chronic social defeat stress." Acta Neuropsychiatr **30**(2): 117-122.
242. Rahman, M. K., T. Nagatsu and T. Kato (1981). "Aromatic L-amino acid decarboxylase activity in central and peripheral tissues and serum of rats with L-DOPA and L-5-hydroxytryptophan as substrates." Biochem Pharmacol **30**(6): 645-649.
243. Rahman, S. and R. S. Neuman (1993). "Activation of 5-HT<sub>2</sub> receptors facilitates depolarization of neocortical neurons by N-methyl-D-aspartate." Eur J Pharmacol **231**(3): 347-354.
244. Ramamoorthy, S., A. L. Bauman, K. R. Moore, H. Han, T. Yang-Feng, A. S. Chang, V. Ganapathy and R. D. Blakely (1993). "Antidepressant- and cocaine-sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization." Proc Natl Acad Sci U S A **90**(6): 2542-2546.
245. Rapport, M. M. (1949). "Serum vasoconstrictor (serotonin) the presence of creatinine in the complex; a proposed structure of the vasoconstrictor principle." J Biol Chem **180**(3): 961-969.
246. Rapport, M. M., A. A. Green and I. H. Page (1948). "Crystalline Serotonin." Science **108**(2804): 329-330.
247. Reinebrant, H. E., J. A. Wixey and K. M. Buller (2020). "Hypoxia-ischemia in the immature rodent brain impairs serotonergic neuronal function in certain dorsal raphe nuclei." Neural Regen Res **15**(3): 457-463.
248. Riad, M., M. B. Emerit and M. Hamon (1994). "Neurotrophic effects of ipsapirone and other 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonists on septal cholinergic neurons in culture." Brain Res Dev Brain Res **82**(1-2): 245-258.
249. Richards, D. A., B. N. Prichard and R. Hernandez (1979). "Circulatory effects of noradrenaline and adrenaline before and after labetalol." Br J Clin Pharmacol **7**(4): 371-378.
250. Rodriguez De Lores Arnaiz, G. and E. D. De Robertis (1962). "Cholinergic and non-cholinergic nerve endings in the rat brain. II. Subcellular localization of monoamine oxidase and succinate dehydrogenase." J Neurochem **9**: 503-508.
251. Ropireddy, D., S. E. Bachus and G. A. Ascoli (2012). "Non-homogeneous stereological properties of the rat hippocampus from high-resolution 3D serial reconstruction of thin histological sections." Neuroscience **205**: 91-111.
252. Ropireddy, D., R. Scorcioni, B. Lasher, G. Buzsaki and G. A. Ascoli (2011). "Axonal morphometry of hippocampal pyramidal neurons semi-automatically reconstructed after in vivo labeling in different CA3 locations." Brain Struct Funct **216**(1): 1-15.

253. Roweth, H. G., R. Yan, N. H. Bedwani, A. Chauhan, N. Fowler, A. H. Watson, J. D. Malcor, S. O. Sage and G. E. Jarvis (2018). "Citalopram inhibits platelet function independently of SERT-mediated 5-HT transport." Sci Rep **8**(1): 3494.
254. Rubinstein, M., J. S. Mogil, M. Japon, E. C. Chan, R. G. Allen and M. J. Low (1996). "Absence of opioid stress-induced analgesia in mice lacking beta-endorphin by site-directed mutagenesis." Proc Natl Acad Sci U S A **93**(9): 3995-4000.
255. Rudnick, G. and J. Clark (1993). "From synapse to vesicle: the reuptake and storage of biogenic amine neurotransmitters." Biochim Biophys Acta **1144**(3): 249-263.
256. Sabir, M. S., M. R. Haussler, S. Mallick, I. Kaneko, D. A. Lucas, C. A. Haussler, G. K. Whitfield and P. W. Jurutka (2018). "Optimal vitamin D spurs serotonin: 1,25-dihydroxyvitamin D represses serotonin reuptake transport (SERT) and degradation (MAO-A) gene expression in cultured rat serotonergic neuronal cell lines." Genes Nutr **13**: 19.
257. Santarelli, S., S. L. Lesuis, X. D. Wang, K. V. Wagner, J. Hartmann, C. Labermaier, S. H. Scharf, M. B. Muller, F. Holsboer and M. V. Schmidt (2014). "Evidence supporting the match/mismatch hypothesis of psychiatric disorders." Eur Neuropsychopharmacol **24**(6): 907-918.
258. Saura, J., R. Kettler, M. Da Prada and J. G. Richards (1992). "Quantitative enzyme radioautography with 3H-Ro 41-1049 and 3H-Ro 19-6327 in vitro: localization and abundance of MAO-A and MAO-B in rat CNS, peripheral organs, and human brain." J Neurosci **12**(5): 1977-1999.
259. Sawangjit, A., C. N. Oyanedel, N. Niethard, C. Salazar, J. Born and M. Inostroza (2018). "The hippocampus is crucial for forming non-hippocampal long-term memory during sleep." Nature **564**(7734): 109-113.
260. Scharfman, H. E. (2007). "The CA3 "backprojection" to the dentate gyrus." Prog Brain Res **163**: 627-637.
261. Schmitt, A., R. Mossner, A. Gossman, I. G. Fischer, V. Gorboulev, D. L. Murphy, H. Koepsell and K. P. Lesch (2003). "Organic cation transporter capable of transporting serotonin is up-regulated in serotonin transporter-deficient mice." J Neurosci Res **71**(5): 701-709.
262. Schnaitman, C., V. G. Erwin and J. W. Greenawalt (1967). "The submitochondrial localization of monoamine oxidase. An enzymatic marker for the outer membrane of rat liver mitochondria." J Cell Biol **32**(3): 719-735.
263. Schneider, J., M. Patterson and X. F. Jimenez (2019). "Beyond depression: Other uses for tricyclic antidepressants." Cleve Clin J Med **86**(12): 807-814.
264. Seeburg, P. H. (1993). "The TINS/TiPS Lecture. The molecular biology of mammalian glutamate receptor channels." Trends Neurosci **16**(9): 359-365.
265. Seifer, D. B. and R. L. Collins (1990). "Current concepts of beta-endorphin physiology in female reproductive dysfunction." Fertil Steril **54**(5): 757-771.
266. Selye, H. (1976). "Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions." Can Med Assoc J **115**(1): 53-56.



267. Semont, A., M. Fache, L. Ouafik, M. Hery, M. Faudon and F. Hery (1999). "Effect of serotonin inhibition on glucocorticoid and mineralocorticoid expression in various brain structures." Neuroendocrinology **69**(2): 121-128.
268. Shankaranarayana Rao, B. S., T. R. Raju and B. L. Meti (1999). "Self-stimulation rewarding experience induced alterations in dendritic spine density in CA3 hippocampal and layer V motor cortical pyramidal neurons." Neuroscience **89**(4): 1067-1077.
269. Shelton, R. C. (2019). "Serotonin and Norepinephrine Reuptake Inhibitors." Handb Exp Pharmacol **250**: 145-180.
270. Shields, P. J. and D. Eccleston (1972). "Effects of electrical stimulation of rat midbrain on 5-hydroxytryptamine synthesis as determined by a sensitive radioisotope method." J Neurochem **19**(2): 265-272.
271. Sholl, D. A. (1953). "Dendritic organization in the neurons of the visual and motor cortices of the cat." J Anat **87**(4): 387-406.
272. Siebens, A. A., B. F. Hoffman, Y. Enson, J. E. Farrell and C. M. Brooks (1953). "Effects of l-epinephrine and l-nor-epinephrine on cardiac excitability." Am J Physiol **175**(1): 1-7.
273. Singh, N. and G. F. Ecker (2018). "Insights into the Structure, Function, and Ligand Discovery of the Large Neutral Amino Acid Transporter 1, LAT1." Int J Mol Sci **19**(5).
274. Sjolund, K., G. Sanden, R. Hakanson and F. Sundler (1983). "Endocrine cells in human intestine: an immunocytochemical study." Gastroenterology **85**(5): 1120-1130.
275. Small, D. H. and R. J. Wurtman (1984). "Serotonin binds specifically and saturably to an actin-like protein isolated from rat brain synaptosomes." Proc Natl Acad Sci U S A **81**(3): 959-963.
276. Sousa, N., N. V. Lukoyanov, M. D. Madeira, O. F. Almeida and M. M. Paula-Barbosa (2000). "Reorganization of the morphology of hippocampal neurites and synapses after stress-induced damage correlates with behavioral improvement." Neuroscience **97**(2): 253-266.
277. Stahl, S. M. and H. Y. Meltzer (1978). "A kinetic and pharmacologic analysis of 5-hydroxytryptamine transport by human platelets and platelet storage granules: comparison with central serotonergic neurons." J Pharmacol Exp Ther **205**(1): 118-132.
278. Stratakis, C. A. and G. P. Chrousos (1995). "Neuroendocrinology and pathophysiology of the stress system." Ann N Y Acad Sci **771**: 1-18.
279. Sugden, D. (2003). "Comparison of circadian expression of tryptophan hydroxylase isoform mRNAs in the rat pineal gland using real-time PCR." J Neurochem **86**(5): 1308-1311.
280. Sunanda, B. L. Meti and T. R. Raju (1997). "Entorhinal cortex lesioning protects hippocampal CA3 neurons from stress-induced damage." Brain Res **770**(1-2): 302-306.
281. Szeitz, A. and S. M. Bandiera (2018). "Analysis and measurement of serotonin." Biomed Chromatogr **32**(1).
282. Tagliamonte, A., G. Biggio, L. Vargiu and G. L. Gessa (1973). "Free tryptophan in serum controls brain tryptophan level and serotonin synthesis." Life Sci II **12**(6): 277-287.

283. Tagliamonte, A., G. Biggio, L. Vargiu and G. L. Gessa (1973a). "Increase of brain tryptophan and stimulation of serotonin synthesis by salicylate." J Neurochem **20**(3): 909-912.
284. Takumi, Y., V. Ramirez-Leon, P. Laake, E. Rinvik and O. P. Ottersen (1999). "Different modes of expression of AMPA and NMDA receptors in hippocampal synapses." Nat Neurosci **2**(7): 618-624.
285. Tamir, H. and Y. L. Huang (1974). "Binding of serotonin to soluble protein from synaptosomes." Life Sci **14**(1): 83-93.
286. Tamir, H., A. Klein and M. M. Rapport (1976). "Serotonin binding protein: enhancement of binding by Fe<sup>2+</sup> and inhibition of binding by drugs." J Neurochem **26**(5): 871-878.
287. Tamir, H., K. P. Liu, S. Hsiung, M. Adlersberg and M. D. Gershon (1994). "Serotonin binding protein: synthesis, secretion, and recycling." J Neurochem **63**(1): 97-107.
288. Tennant, C., P. Langeluddecke and D. Byrne (1985). "The concept of stress." Aust N Z J Psychiatry **19**(2): 113-118.
289. Thorpe, L. W., K. N. Westlund, L. M. Kochersperger, C. W. Abell and R. M. Denney (1987). "Immunocytochemical localization of monoamine oxidases A and B in human peripheral tissues and brain." J Histochem Cytochem **35**(1): 23-32.
290. Timpl, P., R. Spanagel, I. Sillaber, A. Kresse, J. M. Reul, G. K. Stalla, V. Blanquet, T. Steckler, F. Holsboer and W. Wurst (1998). "Impaired stress response and reduced anxiety in mice lacking a functional corticotropin-releasing hormone receptor 1." Nat Genet **19**(2): 162-166.
291. Tipton, K. F., G. P. Davey and A. G. McDonald (2011). "Kinetic behavior and reversible inhibition of monoamine oxidases--enzymes that many want dead." Int Rev Neurobiol **100**: 43-64.
292. Toh, C. C. (1960). "Effects of temperature on the 5-hydroxytryptamine (serotonin) content of tissues." J Physiol **151**: 410-415.
293. Torigoe, Y., R. D. Cernucan, J. A. Nishimoto and R. H. Blanks (1985). "Sympathetic preganglionic efferent and afferent neurons mediated by the greater splanchnic nerve in rabbit." Exp Neurol **87**(2): 334-348.
294. Touma, C., R. Palme and N. Sachser (2004). "Analyzing corticosterone metabolites in fecal samples of mice: a noninvasive technique to monitor stress hormones." Horm Behav **45**(1): 10-22.
295. Touma, C., N. Sachser, E. Mostl and R. Palme (2003). "Effects of sex and time of day on metabolism and excretion of corticosterone in urine and feces of mice." Gen Comp Endocrinol **130**(3): 267-278.
296. Treit, D. and M. Fundytus (1988). "Thigmotaxis as a test for anxiolytic activity in rats." Pharmacol Biochem Behav **31**(4): 959-962.
297. Tseng, P. Y., I. H. Lee, K. C. Chen, P. S. Chen, N. T. Chiu, W. J. Yao, C. L. Chu, T. L. Yeh and Y. K. Yang (2015). "The correlation between mid-brain serotonin transporter availability and intelligence quotient in healthy volunteers." Eur Psychiatry **30**(2): 193-197.

298. Turner, D. A., X. G. Li, G. K. Pyapali, A. Ylinen and G. Buzsaki (1995). "Morphometric and electrical properties of reconstructed hippocampal CA3 neurons recorded in vivo." J Comp Neurol **356**(4): 580-594.
299. Twarog, B. M. and I. H. Page (1953). "Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination." Am J Physiol **175**(1): 157-161.
300. Udenfriend, S., E. Titus, H. Weissbach and R. E. Peterson (1956). "Biogenesis and metabolism of 5-hydroxyindole compounds." J Biol Chem **219**(1): 335-344.
301. Ulrich-Lai, Y. M. and J. P. Herman (2009). "Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses." Nat Rev Neurosci **10**(6): 397-409.
302. van Bodegom, M., J. R. Homberg and M. Henckens (2017). "Modulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis by Early Life Stress Exposure." Front Cell Neurosci **11**: 87.
303. van Gaalen, M. M. and T. Steckler (2000). "Behavioural analysis of four mouse strains in an anxiety test battery." Behav Brain Res **115**(1): 95-106.
304. Verrey, F., E. I. Closs, C. A. Wagner, M. Palacin, H. Endou and Y. Kanai (2004). "CATs and HATs: the SLC7 family of amino acid transporters." Pflugers Arch **447**(5): 532-542.
305. Vialli, M. and V. Erspamer (1937). "Ricerche sul secreto delle cellule enterocromaffini." Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie **27**(1): 81-99.
306. Vialli, M. and V. Erspamer (1937a). "Ricerche sul secreto delle cellule enterocromaffini. Nota IX. Intorno alla natura chimica della sostanza specifica." Boll soc med chir Pavia **51**: 1111-1116.
307. Viana da Silva, S., P. Zhang, M. G. Haberl, V. Labrousse, N. Grosjean, C. Blanchet, A. Frick and C. Mülle (2019). "Hippocampal Mossy Fibers Synapses in CA3 Pyramidal Cells Are Altered at an Early Stage in a Mouse Model of Alzheimer's Disease." J Neurosci **39**(21): 4193-4205.
308. Vincent, M. Y., N. C. Donner, D. G. Smith, C. A. Lowry and L. Jacobson (2018). "Dorsal raphe nucleus glucocorticoid receptors inhibit tph2 gene expression in male C57BL/6J mice." Neurosci Lett **665**: 48-53.
309. vom Saal, F. S. and L. S. Howard (1982). "The regulation of infanticide and parental behavior: implications for reproductive success in male mice." Science **215**(4537): 1270-1272.
310. Vyas, A., R. Mitra, B. S. Shankaranarayana Rao and S. Chattarji (2002). "Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons." J Neurosci **22**(15): 6810-6818.
311. Waddell, D. S., L. M. Baehr, J. van den Brandt, S. A. Johnsen, H. M. Reichardt, J. D. Furlow and S. C. Bodine (2008). "The glucocorticoid receptor and FOXO1 synergistically activate the skeletal muscle atrophy-associated MuRF1 gene." Am J Physiol Endocrinol Metab **295**(4): E785-797.
312. Wade, P. R., J. Chen, B. Jaffe, I. S. Kassem, R. D. Blakely and M. D. Gershon (1996). "Localization and function of a 5-HT transporter in crypt epithelia of the gastrointestinal tract." J Neurosci **16**(7): 2352-2364.

313. Walther, D. J., J. U. Peter, S. Bashammakh, H. Hortnagl, M. Voits, H. Fink and M. Bader (2003). "Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform." Science **299**(5603): 76.
314. Watanabe, Y., E. Gould, H. A. Cameron, D. C. Daniels and B. S. McEwen (1992). "Phenytoin prevents stress- and corticosterone-induced atrophy of CA3 pyramidal neurons." Hippocampus **2**(4): 431-435.
315. Watanabe, Y., E. Gould, D. C. Daniels, H. Cameron and B. S. McEwen (1992a). "Tianeptine attenuates stress-induced morphological changes in the hippocampus." Eur J Pharmacol **222**(1): 157-162.
316. Watanabe, Y., E. Gould and B. S. McEwen (1992b). "Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 pyramidal neurons." Brain Res **588**(2): 341-345.
317. Way, E. L., H. H. Loh and F. Shen (1968). "Morphine tolerance, physical dependence, and synthesis of brain 5-hydroxytryptamine." Science **162**(3859): 1290-1292.
318. Weiland, N. G., M. Orchinik and P. Tanapat (1997). "Chronic corticosterone treatment induces parallel changes in N-methyl-D-aspartate receptor subunit messenger RNA levels and antagonist binding sites in the hippocampus." Neuroscience **78**(3): 653-662.
319. Weinstein, S. P., C. M. Wilson, A. Pritsker and S. W. Cushman (1998). "Dexamethasone inhibits insulin-stimulated recruitment of GLUT4 to the cell surface in rat skeletal muscle." Metabolism **47**(1): 3-6.
320. Weissbach, H., W. Lovenberg, B. G. Redfield and S. Udenfriend (1961). "In vivo metabolism of serotonin and tryptamine: effect of monoamine oxidase inhibition." J Pharmacol Exp Ther **131**: 26-30.
321. Wendland, J. R., P. R. Moya, M. R. Kruse, R. F. Ren-Patterson, C. L. Jensen, K. R. Timpano and D. L. Murphy (2008). "A novel, putative gain-of-function haplotype at SLC6A4 associates with obsessive-compulsive disorder." Hum Mol Genet **17**(5): 717-723.
322. Weng, F. J., R. I. Garcia, S. Lutz, K. Alvina, Y. Zhang, M. Dushko, T. Ku, K. Zemoura, D. Rich, D. Garcia-Dominguez, M. Hung, T. D. Yelhekar, A. T. Sorensen, W. Xu, K. Chung, P. E. Castillo and Y. Lin (2018). "Npas4 Is a Critical Regulator of Learning-Induced Plasticity at Mossy Fiber-CA3 Synapses during Contextual Memory Formation." Neuron **97**(5): 1137-1152.e1135.
323. Westlund, K. N., R. M. Denney, R. M. Rose and C. W. Abell (1988). "Localization of distinct monoamine oxidase A and monoamine oxidase B cell populations in human brainstem." Neuroscience **25**(2): 439-456.
324. Weyler, W. and J. I. Salach (1985). "Purification and properties of mitochondrial monoamine oxidase type A from human placenta." J Biol Chem **260**(24): 13199-13207.
325. Wiegert, J. S. and T. G. Oertner (2013). "Long-term depression triggers the selective elimination of weakly integrated synapses." Proc Natl Acad Sci U S A **110**(47): E4510-4519.
326. Willeit, M., N. Praschak-Rieder, A. Neumeister, W. Pirker, S. Asenbaum, O. Vitouch, J. Tauscher, E. Hilger, J. Stastny, T. Brucke and S. Kasper (2000). "[123I]-beta-CIT SPECT imaging shows reduced brain serotonin transporter availability in drug-free depressed patients with seasonal affective disorder." Biol Psychiatry **47**(6): 482-489.

327. Willemen, S., L. Che, M. De Vos, V. Huygelen, B. Tambuyzer, C. Casteleyn, S. Van Cruchten, K. Zhang and C. Van Ginneken (2012). "Perinatal growth restriction is not related to higher intestinal distribution and increased serum levels of 5-hydroxytryptamin in piglets." J Anim Sci **90 Suppl 4**: 305-307.
328. Willoughby, J., V. Glover and M. Sandler (1988). "Histochemical localisation of monoamine oxidase A and B in rat brain." J Neural Transm **74**(1): 29-42.
329. Woolley, C. S., E. Gould and B. S. McEwen (1990). "Exposure to excess glucocorticoids alters dendritic morphology of adult hippocampal pyramidal neurons." Brain Res **531**(1-2): 225-231.
330. Xiong, G., H. Metheny, B. N. Johnson and A. S. Cohen (2017). "A Comparison of Different Slicing Planes in Preservation of Major Hippocampal Pathway Fibers in the Mouse." Front Neuroanat **11**: 107.
331. Yoo, B. B. and S. K. Mazmanian (2017). "The Enteric Network: Interactions between the Immune and Nervous Systems of the Gut." Immunity **46**(6): 910-926.
332. Young, E. A. and H. Akil (1985). "Corticotropin-releasing factor stimulation of adrenocorticotropin and beta-endorphin release: effects of acute and chronic stress." Endocrinology **117**(1): 23-30.
333. Young, L. W., E. S. Darios and S. W. Watts (2015). "An immunohistochemical analysis of SERT in the blood-brain barrier of the male rat brain." Histochem Cell Biol **144**(4): 321-329.
334. Yu, G. J., Z. Feng and T. W. Berger (2019). "Network Activity Due to Topographic Organization of Schaffer Collaterals in a Large-Scale Model of Rat CA1." Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc **2019**: 2977-2980.
335. Zetler, G. and L. Schlosser (1954). "[Occurrence of the 5-hydroxy-tryptamine (enteramin, serotonin) in the brain of mammals]." Naunyn Schmiedebergs Arch Exp Pathol Pharmacol **222**(4): 345-351.
336. Zhang, J., Y. Fan, M. U. Raza, Y. Zhan, X. D. Du, P. D. Patel and M. Y. Zhu (2017). "The regulation of corticosteroid receptors in response to chronic social defeat." Neurochem Int **108**: 397-409.
337. Zhou, F. C., K. P. Lesch and D. L. Murphy (2002). "Serotonin uptake into dopamine neurons via dopamine transporters: a compensatory alternative." Brain Res **942**(1-2): 109-119.
338. Zivkovic, B., A. Guidotti and E. Costa (1973). "Increase of tryptophan hydroxylase activity elicited by reserpine." Brain Res **57**(2): 522-526.
339. Zucker, R. S. and W. G. Regehr (2002). "Short-term synaptic plasticity." Annu Rev Physiol **64**: 355-405.

## I Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erläuterung
5-HIAA	5-Hydroxyindol-Essigsäure
5-HTR	Serotonin-Rezeptor (mit Subtypen)
A	Lebensphase mit widrigen Lebensumständen
AA	frühe und späte Lebensphase mit widrigen Umständen
AB	frühe Lebensphase mit widrigen, späte Lebensphase mit wohltuenden Umständen
ACTH	Adrenokortikotropes-Hormon
A <sub>L</sub>	Lösung A
AMPA	<i>Alpha</i> -Amino-3-Hydroxy-5-Methylisoxazol-4-Propionsäure
B	Lebensphase mit wohltuenden Lebensumständen
BA	frühe Lebensphase mit wohltuenden, späte Lebensphase mit widrigen Umständen
BB	frühe und späte Lebensphase mit wohltuenden Umständen
B <sub>L</sub>	Lösung B
CA	<i>Cornu ammonis</i> (mit Subregionen)
CA3pv	<i>posteroventraler</i> Anteil von <i>Cornu ammonis</i> 3
CA3pvd (siehe auch pvd)	<i>dorsaler, posteroventraler</i> Anteil von <i>Cornu ammonis</i> 3
CA3pvm (siehe auch pvm)	mittiger, <i>posteroventraler</i> Anteil von <i>Cornu ammonis</i> 3

CA3pvv (siehe auch pvv)	<i>ventraler, posteroventraler</i> Anteil von <i>Cornu ammonis 3</i>
C <sub>L</sub>	Lösung C
CRF	<i>Corticotropin Releasing Factor</i> ; Kortikotropin-Freisetzender-Faktor
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> ; Desoxyribonukleinsäure
GABA	<i>Gamma</i> -Aminobuttersäure
GLP-1	Glukagon-ähnliches Peptid 1
GLUT4	Glukose-Transporter 4
GR	Glukokortikoid-Rezeptor
GT	Genotyp
GT*Rad	Interaktion aus (variablem) Genotyp und (variablem) Radius
HET	Mäuse heterozygot bezüglich des Serotonin-Transporter- <i>Knockout</i> -Allels
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse
KI	Konfidenzintervall
KO	Mäuse homozygot bezüglich des Serotonin-Transporter- <i>Knockout</i> -Allels
L	langes humanes Serotonin-Transporter-Allel
LAT1 (SLC7A5)	Große-Neutrale-Aminosäure-Transporter 1
LH	<i>Life history</i> ; Lebensgeschichte

LH*GT	Interaktion aus (variabler) <i>Life history</i> und (variablem) Genotyp
LH*Rad	Interaktion aus (variabler) <i>Life history</i> und (variablem) Radius
LTP	Langzeit-Potenzierung
MAO	Monoamino-Oxidase
MAO-A	Monoamino-Oxidase-Subtyp-A
MAO-B	Monoamino-Oxidase-Subtyp-B
MBF	<i>MicroBrightField</i>
MR	Mineralokortikoid-Rezeptor
mRNA	<i>messenger Ribonucleic Acid</i> ; Boten-Ribonuklein-Säure
MSB	<i>Multiple-Synapsen-Bouton</i>
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NMRI	<i>Naval Medical Research Institute</i>
PSD	<i>Postsynaptic Density</i> ; Postsynaptische Verdichtungszone
PSD-95	<i>Postsynaptic Density Protein 95</i> ; Protein 95 der postsynaptischen Verdichtungszone
pvd (siehe auch CA3pvd)	<i>dorsaler, posteroventraler</i> Anteil von <i>Cornu ammonis 3</i>
pvm (siehe auch CA3pvm)	mittiger, <i>posteroventraler</i> Anteil von <i>Cornu ammonis 3</i>
PVN	<i>Nucleus paraventricularis</i>



pvv (siehe auch CA3pvv)	<i>ventraler, posteroventraler</i> Anteil von <i>Cornu ammonis 3</i>
Rad	Radius
Rad 30	Radius 30 µm
Rad 360	Radius 360 µm
S	kurzes humanes Serotonin-Transporter-Allel
SAM	Sympathikus-Nebennierenmark-Achse
SBP	Serotonin-bindendes-Protein
SEM	Standardfehler des Mittelwertes
<i>SERT/ SLC6A4</i>	humanes Gen für den Serotonin-Transporter
<i>Sert/ Slc6a4</i>	murines Gen für den Serotonin-Transporter
SERT	Serotonin-Transporter
SNP	<i>Single Nucleotid Polymorphism</i> ; Einzelnukleotid- <i>Polymorphismus</i>
SNRI	<i>Serotonin Noradrenalin Reuptake Inhibitor</i> ; Serotonin-Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer
SSRI	<i>Selective Serotonin Reuptake Inhibitor</i> ; Selektiver Serotonin-Wiederaufnahmehemmer
TPH	Tryptophan-Hydroxylase
TPH1	Tryptophan-Hydroxylase-Isoform 1
TPH2	Tryptophan-Hydroxylase-Isoform 2
UGT	UDP-Glucuronosyltransferase

UGT-1A6	UDP-Glucuronosyltransferase-Subtyp 1A6
VMAT1 (SLC18A1)	Vesikulärer-Monoamin-Transporter-1
VMAT-2 (SLC18A2)	Vesikulärer-Monoamin-Transporter-2
WT	Mäuse homozygot bezüglich des wildtypischen Serotonin-Transporter-Allels

---

## II Abbildungsverzeichnis

Grafik 2.1	<i>Insgesamt zwölf experimentelle Gruppen zusammengesetzt aus Mäusen verschiedener Lebensgeschichten und Genotypen</i> .....	28
Grafik 2.3	<i>Auswahlbereich innerhalb der Hippocampus-Region Cornu ammonis 3 (CA3)</i> .....	36
Grafik 2.7	<i>Zweidimensionales Schema der virtuellen Sphären für die Sholl-Analyse</i> .....	48
<b>Abbildung 3.1.1</b>	<i>Mittlere Gesamtlänge des Apikaldendriten von Neuronen der Subpopulation der vollständigen, kleinen Neurone gruppiert nach Life history (A), Genotyp (B) oder Life history mit zugeordnetem Genotyp (C)</i> .....	53
<b>Abbildung 3.1.2</b>	<i>Mittlere Länge des Apikaldendriten pro Radienzzone von vollständigen und relativ vollständigen Neuronen der Subregionen pvd und pvm ohne weitere Einordnung (A) oder gruppiert nach Life history (B) oder Genotyp (C) in der Sholl-Analyse</i> .....	54
<b>Abbildung 3.2.1</b>	<i>Mittlere Anzahl der gesamten Nodes am Apikaldendriten von Neuronen verschiedener Subpopulationen gruppiert nach Life history (A, B), Genotyp (C, D) oder Life history mit zugeordnetem Genotyp (E, F)</i> .....	58
<b>Abbildung 3.2.2</b>	<i>Mittlere Anzahl der Nodes pro Radienzzone von Neuronen der Subpopulation der vollständigen, kleinen Neurone ohne weitere Einordnung (A) oder gruppiert nach Life history (B) oder Genotyp (C) in der Sholl-Analyse</i> .....	59
<b>Abbildung 3.3</b>	<i>Mittlere Node-Dichte von Neuronen der gesamten Neuronenpopulation gruppiert nach Life history (A), Genotyp (B) oder Life history mit zugeordnetem Genotyp (C)</i> .....	62
<b>Abbildung 3.4</b>	<i>Mittlere Anzahl der Intersections pro Radienzzone von Neuronen der Subpopulation der vollständigen und relativ vollständigen, kleinen Neurone mit einer Apikaldendritengesamtlänge von unter 2700 µm ohne</i>	

	<i>weitere Einordnung (A) oder gruppiert nach Life history (B) oder Genotyp (C) in der Sholl-Analyse.....</i>	<i>64</i>
<b>Abbildung 3.5.1</b>	<i>Mittlere Endpunktzahl des Apikaldendriten von Neuronen verschiedener Subpopulationen gruppiert nach Life history (A, B), Genotyp (C, D) oder Life history mit zugeordnetem Genotyp (E, F) .....</i>	<i>68</i>
<b>Abbildung 3.5.2</b>	<i>Mittlere Endpunktzahl pro Radienzzone von Neuronen der Subpopulation aller vollständigen Neurone ohne weitere Einordnung (A) oder gruppiert nach Life history (B) oder Genotyp (C) in der Sholl-Analyse.....</i>	<i>69</i>
<b>Abbildung 3.6.1</b>	<i>Mittlere Gesamtzahl der Spines von Neuronen verschiedener Subpopulationen gruppiert nach Life history (A, B), Genotyp (C, D) oder Life history mit zugeordnetem Genotyp (E, F) .....</i>	<i>73</i>
<b>Abbildung 3.6.2</b>	<i>Mittlere Anzahl der Spines pro Radienzzone von vollständigen und relativ vollständigen Neuronen der Subregionen pvd und pvm ohne weitere Einordnung (A) oder gruppiert nach Life history (B) oder Genotyp (C) in der Sholl-Analyse.....</i>	<i>74</i>
<b>Abbildung 3.7.1</b>	<i>Mittlere Spine-Dichte von Neuronen der Subpopulation der vollständigen und relativ vollständigen Neurone gruppiert nach Life history (A), Genotyp (B) oder Life history mit zugeordnetem Genotyp (C).....</i>	<i>77</i>
<b>Abbildung 3.7.2</b>	<i>Mittlere Spine-Dichte pro Radienzzone von vollständigen und relativ vollständigen Neuronen der Subregionen pvd und pvm ohne weitere Einordnung (A) oder gruppiert nach Life history (B) oder Genotyp (C) in der Sholl-Analyse.....</i>	<i>78</i>

### III Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1.1	<i>Anzahl der für die Experimente verwendeten Männchen pro Serotonintransporter-Genotyp.....</i>	<i>27</i>
Tabelle 2.1.2	<i>Anzahl der für die Experimente verwendeten Männchen pro Lebensgeschichte .....</i>	<i>28</i>
Tabelle 2.2.1	<i>Stammlösungen A<sub>L</sub>, B<sub>L</sub>, C<sub>L</sub> für Golgi-Cox-Imprägnation.....</i>	<i>32</i>
Tabelle 2.2.2	<i>Volumenanteile der Stammlösungen A<sub>L</sub>, B<sub>L</sub>, C<sub>L</sub> in der Golgi-Cox-Imprägnationslösung .....</i>	<i>32</i>
Tabelle 2.2.3	<i>Ethanolreihe zur Entwässerung.....</i>	<i>34</i>
Tabelle 2.2.4	<i>Celloidineinbettung.....</i>	<i>34</i>
Tabelle 2.4.1	<i>Qualitätsunterschiede der anterioren gegenüber posterioren Hippocampus-Cornu ammonis 3 (CA3)-Neurone .....</i>	<i>38</i>
Tabelle 2.4.2	<i>Anzahl der ausgewerteten Cornu ammonis 3 (CA3)-Pyramidenzellen pro Versuchstier in verschiedenen Arbeiten ....</i>	<i>40</i>
Tabelle 2.6.1	<i>Größenanalyse von Pyramidenzellen der Qualitätsstufe „vollständig“ anhand der Gesamtlänge des Apikaldendriten in [µm].....</i>	<i>46</i>
Tabelle 2.6.2	<i>Größenanalyse von Pyramidenzellen der Qualitätsstufen „vollständig“ und „relativ vollständig“ anhand der Gesamtlänge des Apikaldendriten in [µm].....</i>	<i>46</i>

#### **IV Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich während der Anfertigung meiner Promotionsarbeit unterstützt haben. Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Frau PD Dr. rer. nat. Angelika Schmitt-Böhrer für die Betreuung dieser Arbeit, während der sie mir immer mit offenem Ohr und großer Hilfsbereitschaft zur Seite stand, wenn Fragen oder Probleme auftauchten. Die regelmäßigen, fachlich sehr wertvollen und konstruktiven Gespräche in stets freundlicher Atmosphäre trugen maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit bei.

Auch möchte ich Herrn Prof. Dr. rer. nat. Erhard Wischmeyer für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens und die mühevolle Arbeit des Korrekturlesens danken, die er auch nach seinem bereits erfolgten Wechsel an die Universität Bielefeld noch wahrnahm.

Ebenfalls großer Dank geht an Frau Marion Winnig für die Ausführung vieler vorbereitender Arbeitsschritte zu den Hirnschnittpräparaten und außerdem an die MitarbeiterInnen der statistischen Beratung des Instituts für Klinische Epidemiologie und Biometrie der Julius-Maximilians-Universität Würzburg, insbesondere an Herrn Prof. Dr. Dr. Götz Gelbrich für die essentiellen und individuellen Ratschläge, mithilfe derer die Durchführung der statistischen Auswertung meiner Daten schließlich gelang.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Herrn M. Sc. Jann Kolter und Frau Elisabeth Rapp für die stets angenehme und hilfreiche Zusammenarbeit in unseren verwandten Forschungsschwerpunkten am Institut für Funktionelle Neuroanatomie der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie des Universitätsklinikums Würzburg.

Meinen Großeltern, Eltern und meinem Bruder möchte ich meinen ganz besonders herzlichen Dank aussprechen für die allgegenwärtige, liebevolle Unterstützung und Motivation während des Schreibens dieser Arbeit und während meines gesamten Studiums, ohne die ich nie so weit gekommen wäre.

Darüber hinaus gilt mein Dank allen Verwandten und Freunden, die mich während dieser aufregenden Zeit unterstützt haben und für Abwechslung nach getaner Arbeit sorgten.