

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

**Einfluss von sozialem Stress und 5-*Htt*-Genotyp: Quantitative Untersuchung
der Morphologie von Neuronen der lateralen Amygdala und der CA3-Region des
Hippocampus von Mäusen der Serotonintransporter-Knockout-Linie**

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
vorgelegt von
Elisabeth Marlene Ruppert (geb. Rapp)
aus Heidelberg
Würzburg, März 2023

Referentin: Prof. Dr. rer. nat. Angelika Schmitt-Böhrer

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

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 06.11.2023

Die Promovendin ist Ärztin.

Inhalt

1	Einleitung	1
1.1	Das serotonerge System	1
1.1.1	Vorkommen und Funktion von Serotonin im menschlichen Körper	1
1.1.2	Synthese, Speicherung und Freisetzung	2
1.1.3	Der Serotonintransporter	3
1.1.4	Bedeutung Serotonins für psychische Erkrankungen	4
1.2	5-HTT-Knockout-Maus: Ein Tiermodell für Angsterkrankungen	5
1.3	Neuronale Plastizität.....	6
1.4	Stress und seine Auswirkungen.....	9
1.5	Das limbische System – Bedeutung, Funktion, neuronale Plastizität	10
1.5.1	Die Amygdala	11
1.5.2	Der Hippocampus	13
1.6	Fragestellung.....	15
2	Material und Methoden	16
2.1	Versuchstiere	16
2.2	Golgi-Cox-Imprägnation und Herstellung der Schnittpräparate:.....	17
2.3	Mikroskopie und Rekonstruktion der Neurone	18
2.4	Kriterien zur Auswahl der Neurone und deren Rekonstruktion.....	18
2.5	Morphometrie und Datenanalyse.....	24
2.6	Statistische Auswertung	26
3	Ergebnisse	27
3.1	Auswirkungen des <i>5-Htt</i> -Genotyps und sozialer Stresserfahrung auf die Morphologie der pyramidenzellähnlichen Neurone der lateralen Amygdala: Vergleich der in Mäusen aller drei Genotypen erhobenen Daten	28
3.1.1	Analyse des Dendritenmaterials in seiner Gesamtheit	28
3.1.2	Branch Order-Analyse	33
3.2	Auswirkungen des <i>5-Htt</i> -Genotyps und sozialer Stresserfahrung auf die Morphologie der pyramidenzellähnlichen Neurone der lateralen Amygdala: Vergleich der in WT- und KO- Mäusen erhobenen Daten	39
3.2.1	Analyse des Dendritenmaterials in seiner Gesamtheit	39
3.2.2	Branch Order-Analyse	44
3.3	Auswirkung des <i>5-Htt</i> -Genotyps und sozialer Stresserfahrung auf die Morphologie der Pyramidenzellen der CA3-Region: Vergleich der in Mäusen aller drei Genotypen erhobenen Daten	45
3.3.1	Analyse des Dendritenmaterials in seiner Gesamtheit	46
3.3.2	Sholl-Analyse.....	50

4	Diskussion	58
4.1	Effekt von sozialer Stresserfahrung und <i>5-Htt</i> -Genotyp auf Neurone der LA ...	60
4.2	Gegenüberstellung der Daten des Zweier-Vergleichs (WT- & KO-Gruppe) mit den Ergebnissen der Arbeit von Nietzer et al. (Nietzer et al., 2011)	63
4.3	Effekt von sozialer Stresserfahrung und <i>5-Htt</i> -Genotyp auf Neurone der CA3-Region des Hippocampus.....	66
4.4	Methodische Überlegungen.....	69
4.5	Klinischer Bezug.....	71
4.6	Schlussfolgerung und Ausblick.....	72
5	Zusammenfassung	74
6	Literaturverzeichnis	75

Appendix

I Abkürzungsverzeichnis

II Statistiktabelle

III Abbildungsverzeichnis

IV Tabellenverzeichnis

1 Einleitung

1.1 Das serotonerge System

1.1.1 Vorkommen und Funktion von Serotonin im menschlichen Körper

Der Großteil der Menge des biogenen Amins Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT), genauer gesagt über 90%, wird beim Menschen in den enterochromaffinen Zellen (EC-Zellen) des Magen-Darm-Trakts synthetisiert und auch ausgeschüttet. Die erhebliche Bedeutung von 5-HT im Darm wird dadurch verdeutlicht, dass 5-HT erstmalig in den 1930er Jahren durch Vittorio Espamer in den glatten Muskelzellen des Darms entdeckt wurde und die Bezeichnung Enteramin (griechisch *enteron* = Darm) erhielt (Erspamer and Vialli, 1937, Mathews et al., 2004). Der Begriff Serotonin wurde erstmals 1948 vergeben, als Rapport et al. einer Substanz, die von Bedeutung bei der Kontraktion von Blutgefäßen war, diesen Namen gaben (Rapport et al., 1948). Der Begriff Enteramin wurde so lange verwendet, bis 1952 herausgefunden wurde, dass die entdeckten Substanzen Enteramin und Serotonin identisch sind (Erspamer and Asero, 1952). Im Magen-Darm-Trakt hat 5-HT sowohl einen Effekt auf intrinsische Faktoren wie die Motilität, Vasodilatation und Sekretion des Epithels im Zusammenhang mit der Verdauung, als auch auf extrinsische Reizweiterleitung zum zentralen Nervensystem (Mawe and Hoffman, 2013). Es besteht außerdem ein Zusammenhang mit entzündlichen Darmerkrankungen, wie zum Beispiel der Colitis ulcerosa, wo der Anteil an 5-HT und den 5-HT-produzierenden EC-Zellen im Vergleich zum gesunden Darm reduziert ist (Coates et al., 2004). 1953 wurde 5-HT erstmals im Gehirn nachgewiesen (Twarog and Page, 1953). Im zentralen Nervensystem ist 5-HT ein wichtiger Neurotransmitter und hat eine Wirkung auf die Stimmung, das Ess- und Sexualverhalten, das Schmerzempfinden, das Gedächtnis und den Tag-Nacht-Rhythmus (Curzon, 1990, Dogrul et al., 2009, Hull et al., 2004, Nakamaru-Ogiso et al., 2012). Der überwiegende Anteil der 5-HT synthetisierenden Neurone im adulten Gehirn befindet sich in den Raphekernen des Hirnstamms (Hornung, 2003). Besonders wichtig ist die Bedeutung von 5-HT für Angststörungen und Depressionen. Schon lange ist bekannt, dass ein verändertes Angebot an 5-HT in serotonergen Neuronen bzw. im postsynaptischem Extrazellularraum oder auch z.B. eine verminderte Funktion von Serotoninrezeptoren eine entscheidende Rolle im Zusammenhang mit Depressionen, Angststörungen und suizidalem Verhalten spielen (Owens and Nemeroff, 1994). Außerdem kommt 5-HT in

der Granula der Thrombozyten vor und ist ein bedeutender Bestandteil im Ablauf der Blutgerinnung (Holmsen and Weiss, 1979). Auch wird in diesem Zusammenhang vermutet, dass 5-HT eine Rolle bei kardiovaskulären Erkrankungen spielen kann (Fraer and Kilic, 2015). Wie bereits bei der Entdeckung von 5-HT erkannt wurde, hat 5-HT auch in der Regulation des Gefäßtonus eine Funktion. Es sind sowohl vasodilatatorische als auch vasokonstriktive Wirkungen nachgewiesen (Ullmer et al., 1995). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass ein erhöhtes Angebot an 5-HT über die Serotoninrezeptoren zu einem Anstieg des intraokularen Drucks im Auge führt (Meyer-Bothling et al., 1993). Dies stellt eine Erklärung für ein vermehrtes Auftreten von beidseitigem Glaukom unter der Therapie mit einem SSRI (englisch *Selective serotonin reuptake inhibitor*) dar (Zelevsky et al., 2006).

Des Weiteren hat 5-HT vor der Geburt eines Menschen während der Embryogenese eine besondere Aufgabe in der Regulation von grundlegenden Entwicklungsprozessen wie Zellproliferation, -migration und -differenzierung (Buznikov et al., 2001).

1.1.2 Synthese, Speicherung und Freisetzung

Für die Biosynthese des Monoamins 5-HT ist die essenzielle Aminosäure Tryptophan der Ausgangspunkt. Diese wird im ersten Reaktionsschritt von der Tryptophan-Hydroxylase (die in den Raphekernen, Pinealozyten und EC-Zellen vorkommt) am Indolring zu 5-Hydroxytryptophan (5-HTTP) hydroxyliert. Dieser Schritt ist geschwindigkeitsbestimmend und wird durch das Tryptophanangebot geregelt. Anschließend erfolgt eine Decarboxylierung durch die L-Aminosäure-Decarboxylase zu 5-Hydroxytryptamin (5-HT). Die Summenformel von 5-HT lautet: $C_{10}H_{12}N_2O$.

Gelangt 5-HT in den synaptischen Spalt, kann es an die in der Prä- und Postsynapse lokalisierten Serotoninrezeptoren binden. Anschließend kann der Neurotransmitter durch Transportproteine, wie z.B. dem Serotonintransporter, wieder in die Präsynapse aufgenommen und recycelt oder abgebaut werden (Pape, 2019). Wird das 5-HT recycelt, so wird es präsynaptisch in Vesikeln gespeichert, um erneut ausgeschüttet werden zu können. Der Abbau erfolgt durch die mitochondriale Monoaminoxidase-Typ A (MAO-A). Das Abbauprodukt nach Dehydrierung ist 5-Hydroxyindolacetat, das mit dem Urin ausgeschieden wird (Löffler/Petrides (2007), Biochemie und Pathobiochemie (9. Auflage), Springer-Verlag).

1.1.3 Der Serotonintransporter

Der Serotonintransporter (SERT oder 5-HTT) ist ein Neurotransmitter-Natrium-Symporter (Zhao et al., 2010). Er nimmt das in den synaptischen Spalt ausgeschüttete 5-HT wieder über die Plasmamembran in das präsynaptische Neuron auf, wodurch die Wirkung des Neurotransmitters an den prä- und postsynaptischen 5-HTT terminiert wird und die 5-HT-Speicher der Präsynapse wieder aufgefüllt werden können.

Dadurch ist er Angriffspunkt für Antidepressiva aber auch für andere psychostimulierende Substanzen wie Drogen (3,4-Methylendioxy-N-methylamphetamin (MDMA/Ecstasy), Kokain). Es ist ein einzelnes Gen, das für den 5-HTT des Menschen kodiert. Für den 5-HTT der menschlichen Thrombozyten und den 5-HTT in Nervenzellen im menschlichen Gehirn konnte eine identische Struktur nachgewiesen werden, was annehmen lässt, dass beide Proteine von dem gleichen Single-Copy-Gen „*SLC6A4*“ kodiert werden (Lesch et al., 1993). Dieses Gen besteht aus 14 Exons, umfasst ca. 31 kB und befindet sich auf dem Chromosom 17q12. Dabei wird zwischen Gensequenzvariation und Mutation unterschieden.

Eine Gensequenzvariation wird als Polymorphismus bezeichnet, sobald diese Variation innerhalb einer Population häufiger als zu einem Prozent vorkommt. Wird diese Grenze unterschritten, spricht man von einer Mutation. Befinden sich die Genvarianten am gleichen Genlocus (= Genort), werden diese als Allele bezeichnet. Diese Variationen können zu unterschiedlichen Genprodukten führen, aber auch die Stärke der Expression eines Gens beeinflussen. Mitte der 1990er Jahre beschrieben Heils et al. erstmals einen Polymorphismus in der sogenannten „Transkriptionalen Kontrollregion“ des humanen 5-HTT (Heils et al., 1995, Heils et al., 1996). 5-HTT wird durch das *SLC6A4*-Gen (*SLC6A4*) kodiert, in dem ein Längenpolymorphismus (= serotonin transporter-linked polymorphic region, *5-HTTLPR*) zu finden ist. Er befindet sich in der 5'-Promotorregion innerhalb einer repetitiven Sequenz, der eine Bindungsstelle für einen Transkriptionsfaktor (AP-2) folgt (Lesch et al., 1994). Dieser Polymorphismus besteht aus einer langen Variante (L-Allel) und einer kurzen Variante (S-Allel). Das S-Allel ist assoziiert mit einer geringeren basalen Aktivität des *5-HTT*-Gens, verknüpft mit einer geringeren Expression, resultierend in einer geringeren 5-HT-Wiederaufnahme (*5-HT-reuptake*) im Vergleich mit dem L-Allel (Heils et al., 1996). Träger einer Genvariante mit geringerer Expression des

5-HTT-Gens zeigen ein eher schreckhaftes, ängstlicheres Verhalten im Vergleich zu Genträgern mit höherer Expression (Armbruster et al., 2009), was dann eine Rolle im Zusammenhang mit der Entwicklung von Depressionen, Angststörungen und Neurotizismus spielen kann. Man geht außerdem davon aus, dass die Genvariante einen Einfluss auf das soziale Verhalten eines Individuums hat (Canli and Lesch, 2007). Es zeigt sich bei Testpersonen, die eine oder zwei Kopien des S-Allels besitzen, eine höhere neuronale Aktivität in der Amygdala als Antwort auf furchtsame Stimuli (Canli and Lesch, 2007, Hariri et al., 2002). Caspi et al. zeigten 2003, dass der Einfluss von Stress bei Menschen mit einer oder zwei Kopien des S-Allels des *5-HTT*-Gens anfälliger für depressive Symptome waren, im Vergleich zu homozygoten Trägern zweier L-Allele des *5-HTT*-Gens (Caspi et al., 2003). Eine Meta-Analyse von Risch et al. aus dem Jahr 2009 konnte jedoch keinen Zusammenhang des *5-HTTLPR* und der Genese von Depressionen zeigen (Risch et al., 2009). Karg et al. hingegen konnten in ihrer Meta-Analyse, die es sich zur Aufgabe machte, die zu diesem Thema vorliegenden Studien noch einmal umfassender zu betrachten, deutliche Hinweise finden, dass das Vorliegen des S-Allels des *5-HTTLPR* mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer Depression bei erhöhtem Stresserleben einhergeht (Karg et al., 2011).

1.1.4 Bedeutung Serotonins für psychische Erkrankungen

Schon vor etwa 50 Jahren wurden Hypothesen aufgestellt, dass ein Ungleichgewicht von Neurotransmittern bei der Entstehung psychischer Erkrankungen eine Rolle spielt. 1972 wurde von Coppen et al. die „Monoamin-Defizit-Hypothese“ aufgestellt. Coppen et al. fanden heraus, dass bei manischen und depressiven Patienten 5-Hydroxyindolacetat, ein Stoffwechselprodukt von 5-HT, im Liquor erniedrigt ist. Es wird also mit der „Monoamin-Defizit-Hypothese“ postuliert, dass ein reduziertes Angebot an 5-HT oder auch eine verminderte Anzahl an *5-HTT*, eine Rolle bei der Entwicklung von psychischen Erkrankungen wie Depressionen und Angststörungen spielen (Coppen et al., 1972). Jedoch kann ein Ungleichgewicht im serotonergen System eher als Risikofaktor oder Trigger im Zusammenhang mit der Entstehung von Depressionen und Angststörungen bezeichnet werden. Die Ätiologie dieser Erkrankungen wird darüber hinaus auch durch andere Faktoren wie z.B. Geschlecht, Lebensereignisse, Stress und Varianten zahlreicher anderer Gene beeinflusst (Jans et al., 2007). Ein grundsätzlicher Weg in der aktuellen Therapie von Depressionen und Angststörungen sind die SSRIs (Hirschfeld,

2001), die eben diese verminderte Wirkung durch eine verlängerte Verfügbarkeit des Neurotransmitters im synaptischen Spalt verstärken sollen. Eine weitere Gruppe der Antidepressiva sind die 1956 entdeckten tri- und tetrazyklischen Antidepressiva, welche noch bis zum Anfang des 21. Jahrhunderts Leitsubstanzen (z.B. Imipramin) der antidepressiven Therapie waren (Bossong, 2008). Tri- und tetrazyklische Antidepressiva (Trizyklika, Tetrazyklika), deren Name von ihrem chemischen Aufbau aus drei (tri) oder vier (tetra) Ringen stammt, verbessern das bei einer Depression gestörte Gleichgewicht zwischen den Botenstoffen Serotonin und Noradrenalin im Gehirn. („Pharmakologie und Toxikologie“ Graefe, Karl Heinz; Lutz, Werner; Bönisch, Heinz: 2011).

1.2 5-HTT-Knockout-Maus: Ein Tiermodell für Angsterkrankungen

Zur weiteren Untersuchung der Funktion des 5-HTTs wurde 1998 eine 5-HTT-defiziente Maus generiert (Bengel et al., 1998). Bei der 5-HTT-Knockout-Maus ist das *5-HTT*-Gen komplett ausgeschaltet. Zur 5-HTT-KO-Linie gehören Mäuse mit drei verschiedenen Genotypen: 5-HTT+/+ (homozygot für den Wildtyp, WT), 5-HTT+/- (heterozygot für den Knockout, HET) und 5-HTT-/- (homozygot für den Knockout, KO) (Schafer, 2007, Kriegebaum et al., 2010).

5-HTT-KO-Mäuse zeigen ein normales Geburtsgewicht, keine erhöhte Sterblichkeit und sind fruchtbar (Bengel et al., 1998). Die Wiederaufnahme von [3H]5-HT mit hoher Affinität fehlt komplett im Gehirn der homozygoten Knockout-Mäuse, was den physiologischen Effekt des *5-Htt*-Gen-Knockouts bestätigt. Die Konzentration von 5-HT ist bei 5-HTT-KO-Mäusen im Gehirngewebe verschiedener Hirnregionen deutlich reduziert (60-80%). Sie zeigen eine erhöhte extrazelluläre 5-HT-Konzentration gegenüber einer erniedrigten 5-HT-Konzentration im Gewebe (Mathews et al., 2004, Gobbi et al., 2001, Fabre et al., 2000, Shen et al., 2004). Des Weiteren ist bei ihnen die Anzahl der serotonergen Neuronen im dorsalen Raphekern um 50% reduziert und deren neuronale Aktivität vermindert (Lira et al., 2003). Die neuronale 5-HT-Synthese der 5-HTT-KO-Mäuse ist zwar erhöht im Vergleich zu den 5HTT-WT-Mäusen, was die fehlende Wiederaufnahme und dadurch erniedrige 5-HT-Konzentration im Gewebe jedoch nicht kompensieren kann (Kim et al., 2005). Hinzu kommt eine erniedrigte

Sensitivität der 5-HT_{1A}- und 5-HT_{1B}-Rezeptoren bei den 5HTT-KO-Mäusen (Holmes et al., 2002).

Auf Verhaltensebene zeigt sich eine verminderte Aktivität im offenen Arm des „*Elevated-Plus-Maze*“-Angsttests und im „*Open-Field*“-Test, wo das Erkundungsverhalten der Tiere getestet wird, sowie ein verzögerter Beginn der Nahrungsaufnahme im „*Novelty-Suppressed-Feeding*“-Test (Kalueff et al., 2010). 5-HTT-KO-Mäuse zeigen grundsätzlich eine geringere Aktivität in ihrem Käfig, verglichen mit 5-HTT-WT- und 5-HTT-HET-Mäusen (Holmes et al., 2002). Des Weiteren haben Holmes et al. männliche 5-HTT-KO-Mäuse mit männlichen Kontrollmäusen im *Resident-Intruder*-Test verglichen. 5-HTT-KO-Mäuse attackieren den Eindringling langsamer und seltener, als es die Kontrollmäuse tun. 5-HTT-HET-Mäuse attackieren zwar schnell, aber nicht so häufig wie die Kontrollmäuse. Wird ein Amphetamin (MDMA) gegeben, das 5-HT über einen Transporter abhängigen Mechanismus freisetzt, fehlt die erwartete Steigerung der motorischen Aktivität bei den 5-HTT-KO-Mäusen komplett (Bengel et al., 1998).

Da 5-HTT-KO-Mäuse im Vergleich zu WT- und HET-Mäusen in verschiedenen Verhaltenstests ein verstärkt angstähnliches Verhalten zeigen, weniger lokomotorisch aktiv und auch weniger aggressiv sind, kann davon ausgegangen werden, dass sie ein gutes Tiermodell für die Erforschung eines veränderten serotonergen Systems im Zusammenhang mit Angsterkrankungen sind.

1.3 Neuronale Plastizität

Das Wort Plastizität leitet sich aus dem griechischen Wort „*plastikós*“ ab, was im Deutschen für „formend“ oder „bildend“ steht. Im zentralen Nervensystem gibt es auch im ausgereiften Zustand stets solche „formenden“ Anpassungsprozesse an die Umwelt und die neu auftretenden Ansprüche an die Leistung des Nervensystems. Das können neuronale, synaptische oder funktionelle Veränderungen sein. Somit spielt die neuronale Plastizität auch eine zentrale Rolle bei Lernprozessen und Gedächtnisleistungen. Der Begriff „Plastizität bezeichnet die Veränderbarkeit sowohl der anatomischen als auch der funktionellen Organisation des zentralen Nervensystems, die zu einer Anpassung an die Erfordernisse der äußeren Welt führt, beispielsweise nach Läsionen des Nervensystems“ (Karnath Hans-Otto 2006). Davon sind andere Begriffe abzugrenzen wie die der Adaptation oder der Habituation. Die Adaptation beschreibt eine Anpassung,

die nur kurzfristig besteht, ohne lang andauernden Effekt und begrenzt auf einen umschriebenen Bereich. Habituation, ein Sonderfall der Adaptation, steht für eine zeitlich begrenzte Steigerung der Erregungsschwelle nach wiederholter Reizdarbietung (Karnath Hans-Otto 2006).

Donald Hebb war einer der ersten, der den Vorgang der neuronalen Anpassung beschrieb, wobei die synaptische Plastizität im Fokus stand. 1949 formulierte er folgende Regel:

„Wenn ein Axon einer Zelle A nah genug ist, um eine Zelle B anzuregen und wiederholt oder dauerhaft daran teilnimmt sie anzufeuern, dann finden in einer oder in beiden Zellen Wachstumsprozesse oder Stoffwechseleränderungen statt, so dass A's Effektivität, als eine der Zellen, die B anfeuert, erhöht wird“ (Hebb, D.O. 1949).

Durch wiederholte Stimulation von Synapsen, beispielweise bei Lernvorgängen, kann das Aktivitätsniveau der Synapsen gesteigert werden, was im Verlauf sogar zu morphologischen Veränderungen z.B. Neubildungen von Synapsen oder erhöhter Rezeptordichte führen kann. Die Veränderung der Synapsenaktivität durch wiederholte Stimulation wird auch als Langzeitpotenzierung bezeichnet (Hacke, 2016). Zu den ersten Systemen, die in Bezug auf Lernvorgänge und Gedächtnis mit Langzeitpotenzierung analysiert wurden, gehört der Kiemen-Rückzug-Reflex der Meerschnecke *Aplysia* durch Kandel et al. im Jahr 1965 (Kandel and Tauc, 1965). Die Meerschnecke besitzt nur ca. 20.000 Nervenzellen im zentralen Nervensystem, die groß genug sind, um mit bloßem Auge erkannt zu werden. Auch wenn der Kiemen-Rückzugreflex ein wenig komplexer Vorgang ist, bei dem die Kiemen reflexartig kontrahiert werden, können gleich mehrere einfache Lernformen wie Habituation, Sensibilisierung und klassische Konditionierung dabei beobachtet werden, die den korrespondierenden Lernformen des Menschen sehr ähnlich sind (Kandel, 2001). Und weitere Erkenntnisse wurden bei diesem Experiment gewonnen: Für das Kurzzeitgedächtnis bedarf es im Gegensatz zum Langzeitgedächtnis nicht der Synthese neuer Proteine. Die Prozesse des Langzeitgedächtnisses betreffen jedoch die Transkription im Zellkern und somit die ganze Zelle auch im Inneren und nicht nur Anpassungen, die spezifisch die Synapsen betreffen. Es konnte bestätigt werden, dass Lernprozesse grundsätzlich mit Veränderungen der Stärke und molekularen Struktur synaptischer Verbindungen zwischen präzise verschalteten Zellen zusammenhängen. Eine wichtige Rolle bei dauerhaften Effekten des Langzeitgedächtnisses spielt die Aktivierung des Transkriptionsfaktors CREB (cAMP

response element-binding protein) an Synapsen des beanspruchten Neurons. Wird CREB durch äußere Signale der Zelle aktiviert, hat dies einen Einfluss auf die Aktivität verschiedener Gene, was wiederum einen Effekt auf das Wachstum von Synapsen haben kann und für eine anhaltende Veränderung der synaptischen Wirkung verantwortlich ist (Kandel, 2001). Der Effekt der synaptischen Plastizität und die Entdeckung der Langzeitpotenzierung wurde für die Hirnregion des Hippocampus im Zusammenhang mit Lernprozessen später durch Bliss et al. unterstützt. Durch gehäufte Aktivierung des postsynaptischen N-methyl-D-Aspartat Rezeptorkomplexes wird die synaptische Aktivität der Neuronen im Hippocampus dauerhaft verstärkt (Bliss and Collingridge, 1993). Toni et al. zeigten 1999 die anatomischen Auswirkungen von Langzeitpotenzierung auf die Umstrukturierung von Synapsen. In der späten Phase der Langzeitpotenzierung entstehen vermehrt synaptische Kontakte zu dendritischen Spines (= Dornfortsätze) über neu ausgebildete axonale Endigungen (Toni et al., 1999).

Durch intensives Lernen und Training können neuronale Strukturen nachhaltig verändert werden. Hyde et al. zeigten, dass bei Kindern, die über 15 Monate Musikunterricht erhielten, im Vergleich zu Kindern, die dieses Training nicht erfuhren, anatomische Veränderungen im Motorcortex, Corpus callosum und dem akustischen System nachzuweisen waren (Hyde et al., 2009). Ein weiteres Beispiel dafür, dass repetitiver Gebrauch bestimmter Areale des Gehirns langfristige neuronale Veränderungen hervorrufen können, um die Funktionalität zu steigern. Zwar nimmt die Regenerationsfähigkeit des Gehirns mit steigendem Lebensalter ab, ist jedoch weiterhin gegeben. Man nimmt beispielsweise an, dass sich nach einem Schlaganfall, wodurch Hirngewebe nachhaltig zu Schaden kommt, neben Blutgefäßen auch Axone und sogar neue Nervenzellen ausbilden, um die Aufgaben des geschädigten Gewebes zu übernehmen (Dąbrowski et al., 2019, Yaniv et al., 2012). Dieses Potenzial steht im Fokus der Rehabilitationsmaßnahmen in der Patientenversorgung. Neuronale Plastizität bedeutet also funktionale Anpassungsprozesse, die mit der Fähigkeit struktureller Veränderungen der Anatomie der Neurone einhergehen und sich gegenseitig beeinflussen. Diese Veränderungen können sich z.B. in Form angepasster Rezeptoraktivitäten, veränderter Axon- und Dendritenlänge, Verzweigungsmuster der Dendritenbäume, Anzahl von Spines oder auch der Spinedichte und Neurotransmitterkonzentrationen darstellen.

Stress ist ein besonders relevanter Einflussfaktor, der zu funktionalen wie auch strukturellen Anpassungen im Rahmen der neuronalen Plastizität führen kann. Die neuronalen Veränderungen werden zusätzlich durch die Homöostase verschiedener Neurotransmitter und auch individuelle genetische Dispositionen beeinflusst. Das Phänomen der neuronalen Plastizität kann wiederum unterschiedlich in verschiedenen Hirnregionen ausgeprägt sein und betrifft nie die gesamte Struktur des Nervensystems.

1.4 Stress und seine Auswirkungen

Jeder Mensch kennt das Gefühl gestresst zu sein und ist im Alltag unterschiedlichsten Stressoren ausgesetzt. Als Begründer der Stressforschung gilt seit den 1930er-Jahren Hans Selye. Er definierte 1956 Stress als „unspezifische Reaktion des Körpers auf jegliche Anforderung“ (Selye 1956). Was als Auslöser für Stress wahrgenommen wird und welche Folgen das für den jeweiligen Menschen hat, ist individuell sehr unterschiedlich. Stress bezeichnet vielmehr einen Prozess, bei dem ein möglicher Stressor wahrgenommen, subjektiv bewertet und verarbeitet wird. Diese Erfahrung kann dann unterschiedliche Reaktionen auslösen (Myers, 2014). Fällt die Bewertung positiv aus, kann das stressende Ereignis motivierend und leistungssteigernd sein. Sobald der Stressor als Belastung wahrgenommen wird oder einen chronischen Verlauf annimmt, kann es zu negativen Auswirkungen kommen. Die körperliche Reaktion unterliegt u.a. einem hormonellen Regelkreis, der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HHNA). In Stresssituationen wird das im Hypothalamus gebildete Kortikotropin-*Releasing*-Hormon (CRH, englisch Corticotropin-releasing-hormone) vermehrt über ein Pfortadersystem an die Hypophyse abgegeben. Dort stimuliert es die Freisetzung des adrenokortikotropen Hormons (ACTH, englisch *Adrenocorticotropic hormone*), was in der Nebennierenrinde unter anderem die Ausschüttung von Glukokortikoiden bewirkt (Rensing, 2013).

Die Glukokortikoide haben zum einen metabolische Effekte, wie die Erhöhung des Blutzuckers und die Bereitstellung von Aminosäuren, um den erhöhten Energiebedarf zu decken, was langfristig zu einer diabetischen Stoffwechsellage und Übergewicht führen kann (Ulrike, 2016). Außerdem kann die Funktion des Immunsystems durch Stress reduziert werden, was zu einer erhöhten Krankheits- und Infektanfälligkeit führt. Auch das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen steigt, vor allem bei dauerhafter

Stressexposition (Myers, 2014). Wie die Studie von Slopen et al. aus dem Jahr 2012 zeigt, haben Frauen mit sehr starker beruflicher Belastung ein zu 38% höheres Risiko gegenüber ihrer Kontrollgruppe, eine kardiovaskuläre Erkrankung zu erleiden (Slopen et al., 2012). Zum anderen wirken die Hormone der HHNA auch auf das Gehirn und können das Verhalten, die Stimmung sowie die Entstehung psychischer Erkrankungen beeinflussen (Ulrike, 2016). Eine erhöhte Aktivität der HHNA steht eindeutig im Zusammenhang mit der Entstehung einer Depression (Stetler and Miller, 2011, Holsboer et al., 1986). Bei Patienten mit einer Depression kann im Vergleich zu Gesunden eine deutlich höhere Ausschüttung von Cortisol nach Erhöhung der CRH-Sekretion gemessen werden (Holsboer et al., 1986). Bei der Entstehung psychischer Erkrankungen sind außerdem verschiedene Neurotransmittersysteme relevant, die besonders durch die Einwirkung von chronischem Stress beeinflusst werden können. Zu den relevanten Neurotransmittersystemen gehören dabei unter anderem das serotonerge, das noradrenerge sowie das dopaminerge System (Jans et al., 2007, Lowry et al., 2005, Goddard et al., 2010, Rasheed et al., 2010, Majcher-Maslanka et al., 2017). Chronischer Stress führt zu einer dauerhaft erhöhten Ausschüttung von CRH und Glukokortikoiden, was kurzzeitig zu einer erhöhten Verfügbarkeit von 5-HT im Gehirn führt. Bei langanhaltendem Stress kommt es im Verlauf dann zu einem 5-HT-Defizit sowie einer verminderten Empfindlichkeit der 5-HT_{1A}-Rezeptoren. Dadurch kann sich das Risiko für die Entstehung einer Depression oder auch von anderen mentalen Erkrankungen erhöhen (Jans et al., 2007).

Effekte, die der akuten oder auch primären Stressreaktion folgen, werden als sekundäre Auswirkungen bezeichnet. Dabei sind Wechselwirkungen zwischen dem noradrenergen System und Glukokortikoiden in der Hirnregionen Amygdala und dem Hippocampus, die zum limbischen System gehören, von besonderer Bedeutung. Dort findet die Entwicklung des Stressgedächtnisses statt, was langfristige Anpassungen an wiederholten Stress ermöglichen (Rensing, 2013). Diese Anpassung können sowohl auf funktionaler als auch auf struktureller Ebene im Zuge neuronaler Plastizität stattfinden.

1.5 Das limbische System – Bedeutung, Funktion, neuronale Plastizität

Das limbische System beschreibt eine Gruppierung verschiedener Hirnstrukturen, die miteinander kommunizieren und eine entscheidende Rolle bei Gedächtnisleistungen,

Lernprozessen, vegetativen Vorgängen und der Steuerung von Emotionen einnehmen. Vor allem die Strukturen der Amygdala und des Hippocampus sind relevant bei dem Erleben und der Verarbeitung von Emotionen. Sie nehmen aufgrund ihrer anatomischen Verbindungen eine Vermittlerfunktion zwischen Großhirnrinde und Hirnstamm und somit zwischen höheren kognitiven Funktionen und Emotionen ein (Bogerts aus Möller et al. 2011). Liegen dort Abweichungen oder Läsionen vor, kann es zu Störungen eben dieser Funktionen kommen (Karnath Hans-Otto 2006).

1.5.1 Die Amygdala

Das humane Corpus amygdaloideum (griechisch *Amygdala* = Mandelkern) ist ein Kerngebiet, das im medialen Temporallappen rostral des Hippocampus liegt. Die Amygdala hat Einfluss auf die vegetative Funktion des Hypothalamus, auf emotional begründete motorische Verhaltensweisen und ist verantwortlich für die Bewertung und Speicherung implizierter „emotional betonter Gedächtnisinhalte“ (Trepel, 2015) wie beispielweise das Angst-/Furcht-Gedächtnis (Ehrlich et al., 2009). Sie besteht aus mehreren Einzelkernen und kann daher als Kernkomplex bezeichnet werden. Die einzelnen Kerngebiete sind miteinander verschaltet, ihnen kommen zum Teil unterschiedliche Funktionen zu. Der basale Kern steht beispielsweise in Verbindung mit dem zentralen Kern sowie dem Striatum (LeDoux, 2007) und spielt eine wichtige Rolle in der Organisation motorischer Impulse (Trepel, 2015). Die laterale Amygdala (LA) gilt als Haupteingangskern oder als sogenannter „Gatekeeper“ (Pfortner) des Corpus amygdaloideum. Sie erreichen Afferenzen von verschiedensten Sinneswahrnehmungen wie zum Beispiel olfaktorischen, akustischen, visuellen, gustatorischen sowie somatosensorischen Wahrnehmungen aus dem Cortex und dem Thalamus. Diese Afferenzen werden innerhalb der Amygdalakerne verschaltet und können das Verhalten und Gedächtnisinhalte beeinflussen (LeDoux, 2007). Der zentrale Kern der Amygdala gilt als wichtiger Ausgangskern mit Verknüpfungen u.a. zum Hypothalamus und Hirnstamm, mit Bedeutung für die Modulation emotionaler Verhaltensweisen und physiologischer Reaktionen. Es gibt einen langsamen und sorgfältigeren Verarbeitungsweg von eingehenden Stimuli über kortikale Strukturen zur LA, sowie einen schnelleren Verarbeitungsweg über den Thalamus zur LA, welcher den Stimulus weniger genau repräsentiert. Beide Wege sind nach wiederholter Präsentation eines Stimulus entscheidend für Veränderungen im Rahmen der neuronalen Plastizität dieser

Hirnregion (Li et al., 1996). Wird ein akustisch konditionierter Stimulus präsentiert, kommt es in der LA präsynaptisch zu einer Ausschüttung von Glutamat und einer Erhöhung der Kalziumkonzentration der postsynaptischen Zelle über verschiedene Rezeptoren (z.B. AMPAR, NMDAR). Wird derselben Zelle gleichzeitig ein starker unconditionierter Stimulus präsentiert, wird die postsynaptische Kalziumkonzentration verstärkt erhöht (z.B. über L-VGCC (englisch L-Typ *voltage gated calcium channels*). Diese kombinierten Kalziumsignale resultieren u.a. in der Phosphorylierung der MAP Kinase (englisch *Mitogen-activated protein kinase*), wodurch Transkriptionsfaktoren wie z.B. CREB-1 aktiviert und die RNA- und Proteinsynthese beeinflusst werden, was die Basis des Effekts der Langzeitpotenzierung und Gedächtnisbildung darstellt (LeDoux, 2007).

Die Amygdala ist entscheidend daran beteiligt, akute oder chronische Ängste wie auch Stresserfahrungen zu verarbeiten und durch Konditionierung Lerneffekte zu erzielen. Die neuronale Struktur der Amygdala und die Auswirkungen der emotionalen Stressverarbeitung beeinflussen sich dabei gegenseitig. Die Arbeit von Morey et al. ergab, dass ein Zusammenhang zwischen einem verminderten Volumen der Amygdala und dem Auftreten einer posttraumatischen Belastungsstörung besteht. Dieses Störungsbild entsteht als Reaktion auf einmalige oder wiederholte Ereignisse extremer psychischer Belastung, also außergewöhnlich starkem emotionalem Stress (Morey et al., 2012). Sublette et al. zeigten in ihrer Studie ebenso Auswirkungen von Stress auf die Morphologie der Amygdala. In ihrer Studie wiesen Menschen mit starken Stresserfahrungen in ihrer nahen Vergangenheit eine Verringerung des Volumens der Amygdala auf (Sublette et al., 2016). Ausgeprägter oder wiederholter Stress kann sich außerdem auf die Morphologie der Neurone der Amygdala auswirken, wie zum Beispiel auf die Komplexität der Verzweigung der Dendritenbäume oder die Dornfortsätze der Dendriten. Nietzer et al. fanden beispielsweise Hinweise auf eine Zunahme der Dichte der Dornfortsätze der Dendriten der lateralen Amygdala durch soziale Stresserfahrung in Mäusegehirnen (Vyas et al., 2006, McLaughlin et al., 2005, Roozendaal et al., 2009, Nietzer et al., 2011).

1.5.2 Der Hippocampus

Der Hippocampus hat seinen Namen aufgrund seiner morphologischen Ähnlichkeit zur Form eines Seepferdchens (griechisch *Hippocampus* = Seepferdchen). Er trägt nicht nur entscheidend zur Gedächtnisbildung bei. Es wird angenommen, dass der Hippocampus, im Zusammenspiel mit der Amygdala, physiologische Reaktionen des Körpers auf kognitive Stimuli beeinflusst (Lathe, 2001), was auch die Verarbeitung von Emotionen mit einbezieht (Bertoglio et al., 2006, Pentkowski et al., 2006). Der Hippocampus ist dem Archicortex zuzuordnen. Der Archicortex ist eine entwicklungsgeschichtlich alte Struktur des Großhirns, die im Gegensatz zum sechsschichtigen Isocortex, dreischichtig aufgebaut ist. Zum Archicortex gehören Hippocampus, Gyrus cinguli und die Regio enthorinalis. Der Hauptteil des Hippocampus liegt im Temporallappen. Sein Endstück, der Pes hippocampi, bildet beim Menschen eine typische Tatzen-ähnliche Struktur, weiter erstreckt er sich nach oben und kaudal bis zum kaudalen Teil des Corpus callosum (Balken) und geht dort über in die Fasern des Fornix, der schließlich in die Corpora mammillaria mündet. Im Frontalschnitt der Hippocampusregion lassen sich drei Abschnitte histologisch voneinander abgrenzen, welche die Hippocampus-Formation bilden: Gyrus dentatus, Cornu ammonis (CA) und Subiculum. Diese Strukturen sind vom Subiculum ausgehend bis zum Gyrus dentatus eingerollt, wie ein Seepferdchen von Kopf bis Schwanzende, was den Namen des Hippocampus erklärt (Seress, 1980). Das CA lässt sich in die Regionen CA1-4 unterteilen, wobei die CA4-Region vom Gyrus dentatus umgeben wird (Trepel, 2015).

Der Hippocampus erhält Afferenzen aus verschiedenen Hirnregionen: Thalamus, Gyrus cinguli, Amygdala, Septum, Area entorhinalis des Gyrus parahippocampalis mit sensorischen Informationen aus Neokortex und dem Rhinencephalon. Die Efferenzen verlassen den Hippocampus zum Großteil über die Struktur des Fornix. Dieser gibt Abzweigungen an verschiedene Regionen wie Septum, Amygdala und Hypothalamus ab und endet in den Corpora mammillaria des Hippocampus. Von dort ausgehend bildet sich der Papez-Neuronenkreis über den anterioren Thalamus, den Gyrus cinguli, die Area entorhinalis und von dort wieder zum Hippocampus. Diese Verschaltung ist entscheidend für den Übergang von Informationen ins Langzeitgedächtnis und somit wesentlicher Bestandteil der Gedächtnisleistung (Trepel, 2015). Eine weitere bekannte Verbindung innerhalb des Schaltkreises des Hippocampus ist der trisynaptische Weg. Die erste Synapse besteht zwischen der Area enthorinalis und dem Gyrus dentatus, von

da ausgehend die zweite Synapse zu den Pyramidenzellen der CA3-Region und über die dritte Synapse, auch „Schaffer-Kollaterale“ genannt, zu den Pyramidenzellen der CA1-Region des Hippocampus (Andersen Per, 2006).

Funktionell werden dem Hippocampus und seinem komplexen Schaltkreis verschiedene Aufgaben zugeordnet. Einerseits in der kognitiven Gedächtnisleistung und Erinnerungsintegrität, u.a. durch das Prinzip der Langzeitpotenzierung, andererseits in der Emotionsverarbeitung und der Stressregulation. Bei Nagetieren werden dem ventralen und dem dorsalen Teil des Hippocampus unterschiedliche funktionelle Schwerpunkte zugeschrieben. Der ventrale Anteil soll stärker beteiligt sein an der Verarbeitung von Emotionen und Stress, wohingegen der dorsale Teil in Zusammenhang mit kognitiven Leistungen wie der Informationsverarbeitung gebracht wird (Fanselow and Dong, 2010).

Die erste konkrete Entdeckung bezüglich der Funktion des Hippocampus machten Scoville und Milner 1957. Sie wollten therapeutische Effekte bei Epilepsiepatienten erzielen, indem ein Teil des medialen Temporallappens operativ entfernt wurde. Anschließend waren die Intensität und Häufigkeit der Anfälle reduziert. Jedoch hatten die Patienten, denen im Rahmen der Operation große Teile des Hippocampus entfernt wurden, im Fall des berühmten Patienten H.M. bilateral bis zu zwei Drittel, erhebliche Defizite der Gedächtnisleistung und zeigten eine anterograde Amnesie (Scoville and Milner, 1957). Es ist nicht eindeutig geklärt, für welche Formen des Gedächtnisses der Hippocampus eine Rolle spielt. Jedoch hat er scheinbar eine Funktion beim Übergang von Gedächtnisinhalten aus dem Kurzzeit- ins Langzeitgedächtnis und Prozessen des episodischen bzw. kontextspezifischen Gedächtnisses (Kim and Fanselow, 1992), nicht jedoch für das implizite Gedächtnis (Squire, 1992).

Für das Verständnis und die Therapie depressiver Erkrankungen wird der Hippocampus ebenfalls genauer betrachtet. Chronische Einwirkungen von Stress und depressiven Episoden, welche eng miteinander in Verbindung stehen, können zur Atrophie des Hippocampus führen und die Neubildung von Neuronen im Gehirn von Erwachsenen, die adulte Neurogenese, in dieser Hirnregion hemmen (Han et al., 2016). In einer Studie, in der MRT-Aufnahmen von Patienten mit einer unipolaren Depression mit denen gesunder Patienten verglichen wurden, konnte eine Verminderung des Volumens des Hippocampus um acht Prozent bei den erkrankten Patienten festgestellt werden. Es wird vermutet, dass dies nach wiederholten schweren depressiven Episoden auftritt

(Videbech and Ravnkilde, 2004). Dieser beschriebenen Reduktion an neuronaler Substanz scheinen Antidepressiva verschiedener Wirkstoffklassen entgegenwirken zu können und sogar die Neurogenese des Hippocampus anzuregen, was anhand von bildgebenden Verfahren beim Menschen aber auch mithilfe von Tiermodellen (Mäuse, Ratten) bereits nachgewiesen werden konnte (Malberg et al., 2000, Manev et al., 2001, Warner-Schmidt and Duman, 2006).

Bereits 1990 haben Woolley et al. zeigen können, dass Ratten unter dauerhaft erhöhter Stresshormonkonzentration im Blut Atrophien apikaler Dendriten der Pyramidenzellen der CA3-Region aufweisen (Woolley et al., 1990), was Watanabe et al. 1992 auf zellulärer Ebene mit chronisch gestressten Ratten und somit physiologischer Stressreaktion bestätigten (Watanabe et al., 1992). Magariños et al. fanden 1996 heraus, dass wiederholter psychosozialer Stress bei Mäusen eine Atrophie der Apikaldendriten der Pyramidenzellen sowie eine reduzierte Anzahl an Verzweigungen der Dendritenbäume der CA3-Region des Hippocampus zur Folge haben kann (Magariños et al., 1996). Auch in Studien mit Ratten konnten Effekte, wie Dendritenatrophie nach sozialer Stresserfahrung, in der CA3-Region des Hippocampus gezeigt werden (McKittrick et al., 2000, Kole et al., 2004).

1.6 Fragestellung

Neben einer genetischen Suszeptibilität (u.a. durch das S-Allel des 5-*HTTLPR*) tragen auch Stresserfahrungen zur Entstehung von psychischen Erkrankungen bei. Stress aber auch veränderte Neurotransmittersysteme können die Morphologie von Neuronen beeinflussen. Mäuse der 5-*HTT*-KO-Linie sind ein Tiermodell zur Untersuchung von Angsterkrankungen. Im Rahmen einer Studie, die in Münster durchgeführt wurde, sind Gehirne von Mäusen aller drei 5-*Htt*-Genotypen (WT, HET, und KO) nach einer dreimaligen Sozialstresserfahrung mit dem Golgi-Cox-Verfahren imprägniert worden. Mäuse ohne diese Stresserfahrung dienten als Kontrollen.

In der hier vorliegenden Arbeit wurden in den mit Golgi-Cox gefärbten Gehirnen pyramidenzellähnliche Zellen der lateralen Amygdala sowie Pyramidenzellen der CA3-Region des Hippocampus dreidimensional mikroskopisch rekonstruiert. Eine anschließende statistische Auswertung der erzielten Parameter dieser Neurone sollte Aufklärung darüber bringen, inwieweit der 5-*Htt*-Genotyp und/oder die soziale

Stresserfahrung die Morphologie dieser Neurone moduliert. Diese möglichen morphologischen Veränderungen als Ausdruck einer veränderten neuronalen Plastizität geben Hinweise auf eine veränderte Funktion dieser Neurone in Mäusen mit unterschiedlichem *5-Htt*-Genotyp und/oder Stresserfahrung. Darüber hinaus wurden in dieser Arbeit die Neurone der Amygdala aller drei *5-Htt*-Genotypen mit den bereits publizierten Daten von Nietzer et al 2011 (mit einem Vergleich von WT mit KO) verglichen. Die CA3-Pyramidenzellen wurden im Rahmen der Studie von Nietzer et al. noch nicht untersucht.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

Die morphologische Analyse dieser Arbeit erfolgte mit Golgi-Cox-imprägnierten Gehirnschnitten, welche bereits für eine morphologische Studie von Sarah Nietzer und Maria Bonn (Nietzer et al., 2011) hergestellt worden waren. Die dafür erforderlichen Mäuse waren erwachsene, männliche Mäuse der 5-HTT-Knockout (-/-, KO) - Zuchtlinie. Die 5-HTT-KO- Mauslinie wurde bereits 1998 von Bengel und Mitarbeitern generiert und mehrfach auf den C57BL/6J-Stamm zurückgekreuzt (Bengel et al., 1998). Adulte männliche Mäuse dieser transgenen Linie wurden von Friederike Jansen mehrfach einem sozialen Stress ausgesetzt (Jansen et al., 2010), ein Experiment, welches im Folgenden genauer beschrieben wird:

Die in der Abteilung für Verhaltensbiologie der Universität Münster verpaarten heterozygoten Mäuse (*5-Htt*^{+/-}) resultierten in Nachkommen mit drei unterschiedlichen Genotypen bzgl. des murinen *5-Htt*s: Die Wildtyp-Mäuse (+/+, WT, n = 12), die homozygoten Knockout-Mäuse (-/-, KO, n = 12) und die heterozygoten Knockout-Mäuse (+/-, HET, n = 12). Friederike Jansen hat dann männliche Nachkommen dieser Zucht im Alter von 95± 14 Tagen dreimal einem sozialen Stress entsprechend einem *Social-Defeat*-Paradigma (Soziale-Niederlage-Paradigma) ausgesetzt. Dabei bekamen die Mäuse der 5-HTT-KO-Linie die Rolle des Eindringlings zugeschrieben und wurden für die Dauer von 10 Minuten in den Käfig einer aggressiven, männlichen NMRI-Maus (Naval Medical Research Institute-Maus) gesetzt. Die NMRI-Mäuse zeigten in der Folge ein aggressives und feindseliges Verhalten gegenüber dem Eindringling. Diese Situation wurde insgesamt drei Mal an aufeinander folgenden Tagen für maximal 10 Minuten

erzeugt und bei Eskalation mit akuter Gefährdung der angegriffenen Maus vorzeitig abgebrochen. Eine Maus wurde dann als Verlierer bezeichnet, wenn sie fünf Verlierer-Verhaltensweisen (vgl. Definition von Jansen et al. (2010)) in drei aufeinander folgenden Konfrontationen gezeigt hatte. Dies konnten beispielsweise eine defensive Körperhaltung oder Fluchtverhalten sein. Diese Verhaltensweisen mussten zusätzlich doppelt so häufig vorkommen, wie Gewinner-Verhaltensweisen, die sich unter anderem in Form von Beißen, Jagen oder Attackieren zeigen konnten (vgl. Definition von Jansen et al. (2010)). Die Mäuse, die der sozialen Stresserfahrung ausgesetzt wurden, gehörten anschließend der Verlierergruppe an. Die restlichen Mäuse der verschiedenen Genotypen wurden dieser Konfrontationen nicht ausgesetzt und zählen zur Kontrollgruppe. Sieben Tage nach der letzten Konfrontation wurden die Mäuse unter Anästhesie dekapiert.

Es ergaben sich daraus sechs sich unterscheidende Gruppen der Mäuse mit jeweils sechs Vertretern einer Gruppe.

Tabelle 1: Übersicht der Größe und Zusammensetzung der experimentellen Gruppen, untergliedert nach 5-Htt-Genotyp und der von den Mäusen gemachten Erfahrung (Kontrolle oder Verlierer). WT, Wildtyp; HET, Heterozygote; KO, Knockout

Genotyp	Erfahrung	Anzahl der Mäuse
WT	Kontrolle	6
WT	Verlierer	6
HET	Kontrolle	6
HET	Verlierer	6
KO	Kontrolle	6
KO	Verlierer	6

2.2 Golgi-Cox-Imprägnation und Herstellung der Schnittpräparate:

Die präparierten Gehirne wurden von Marion Winnig (Labor der Klinik für Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie der Universität Würzburg) nach der Golgi-Cox-Methode imprägniert. Im Anschluss wurden 150 µm dicke Schnitte hergestellt, welche auf Glasobjektträgern fixiert wurden (Nietzer et al., 2011).

2.3 Mikroskopie und Rekonstruktion der Neurone

Die Rekonstruktion der Neurone erfolgte mithilfe des Neurolucidasystems (Microbrightfield Biosciences, MBF, Williston, VT 05495 USA). Diese beinhaltete das Olympus BX-51 Mikroskop (Olympus, Hamburg, Germany), den Motortisch BioPrecision2 mit Joystick-Steuerung (Ludl Electronic, Hawthorne, USA), die CX9000 Kamera (MBF, Williston, VT 05495 USA) sowie die Neurolucida-Software inkl. Neurolucida-Explorer (11.01.2 32-bit Version, Williston, VT 05495 USA).

2.4 Kriterien zur Auswahl der Neurone und deren Rekonstruktion

Zur Identifizierung der Hirnregionen der LA und CA3-Region (siehe Abb. 1) wurde der Atlas von Paxinos und Franklin verwendet (Franklin, KBJ; Paxinos, G: The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates. Academic Press, 1997 (ISBN 0-12-266070-6)). Für die Auswahl und maximale Vergrößerung zur Rekonstruktion der Neurone wurde das Olympus BX 51 Mikroskop bei 100-facher Vergrößerung mit Immersionsöl verwendet. Während der genauen computergestützten Rekonstruktion war ich für die verschiedenen *5-Htt*-Genotypen und für die gemachte Erfahrung der Mäuse (Kontrolle, Verlierer) verblindet. Mithilfe des Neurolucidasystems konnten die Somata, Dendritenbäume mit ihren Verzweigungen und Spines der ausgewählten Neuronen dreidimensional rekonstruiert werden.

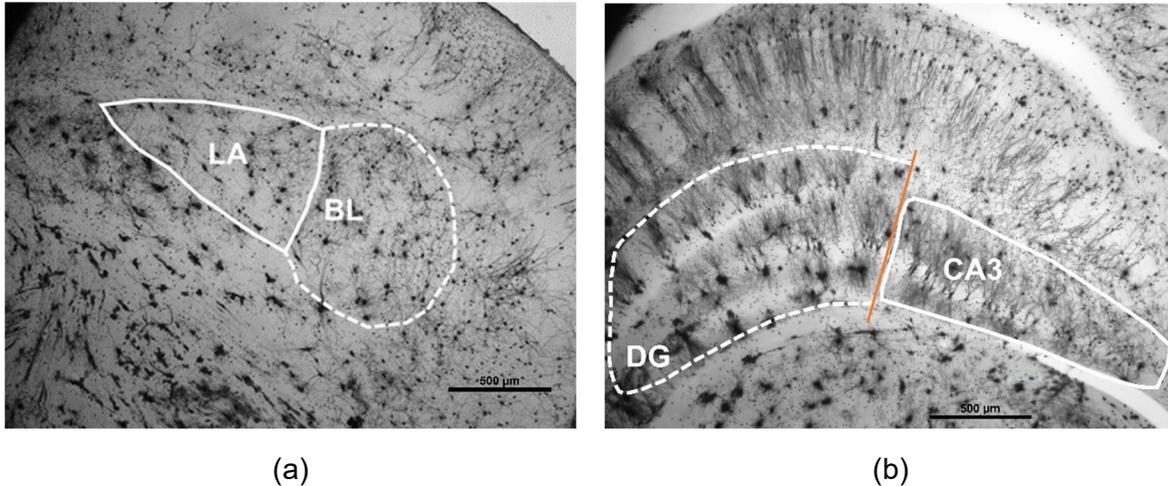
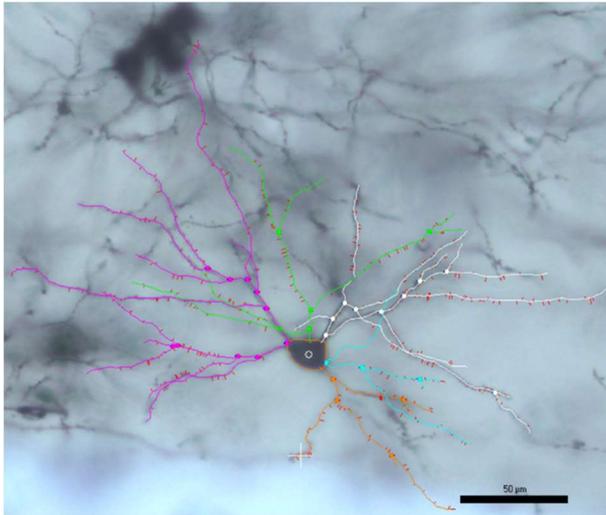


Abbildung 1: Repräsentative Abbildung der lateralen Amygdala und des Hippocampus in einem Schnittpräparat nach Golgi-Cox-Färbung

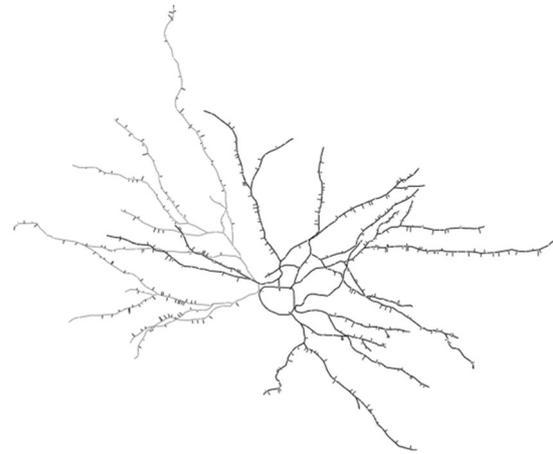
(a) Repräsentative Aufnahme der lateralen Amygdala (LA) aus Schnittpräparaten in coronarer Ebene durch das Mikroskop bei vierfacher Vergrößerung mit entsprechender Markierung. Zur besseren Orientierung wurde zusätzlich der basolaterale Kern (BL) der Amygdala mit einer unterbrochenen Linie umrandet. Der Balken in der rechten Ecke des Bildes zeigt den Maßstab (Balkenlänge entspricht 500 µm im Präparat).

(b) Repräsentative Aufnahme der CA3-Region des Hippocampus durch das Mikroskop bei vierfacher Vergrößerung mit entsprechender Markierung. Zur besseren Orientierung wurde zusätzlich der Gyrus dentatus (DG) mit einer unterbrochenen Linie markiert. Die orangene Linie markiert die Abgrenzung zwischen DG und CA3-Region. Der Balken in der rechten Ecke des Bildes zeigt den Maßstab (Balkenlänge entspricht 500 µm im Präparat).

Die Auswahl geeigneter Neurone erfolgte anhand verschiedener Kriterien. In der LA wurden pyramidenzellähnliche Neurone rekonstruiert und dann ihre Morphologie quantitativ analysiert. Wie in Abb. 2 zu erkennen ist, wurden die in der LA lokalisierten Neurone mit einem für sie typischen pyramidenzellähnlichem Erscheinungsbild für die Rekonstruktion ausgewählt: Die Somata erscheinen dabei pyramidenzellähnlich mit ca. drei bis 7 Dendriten, selten auch mehr. Einer der Dendriten zeigt sich normalerweise prominenter als die anderen und wird als Apikaldendrit bezeichnet (Sah et al., 2003). Er tritt eigenständig in Erscheinung, mit starkem, dickem erstem Ast, baldiger erster Aufzweigung nach Abgang vom Zellkörper und insgesamt vielfacher Verzweigung. Zusätzlich wurde die genaue Abgrenzung zu umliegenden Strukturen definiert.



(a)



(b)

Abbildung 2: *Repräsentative Aufnahme eines pyramidenzellähnlichen Neurons der lateralen Amygdala*
 (a) Foto einer pyramidenzellähnlichen Zelle durch das Mikroskop aus der lateralen Amygdala mit überliegender, in der Realität dreidimensionaler, Rekonstruktion, die mithilfe des NeuroLucida-Systems erstellt wurde. Bedeutung der Farben: Pink = Apikaldendrit. Grün, weiß, blau und orange = die vier einzelnen Basaldendriten. Rote Striche am Dendritenbaum = Spines. Der Balken in der rechten Ecke des Bildes zeigt den Maßstab (Balkenlänge entspricht 50 µm im Präparat).
 (b) Abbildung der Rekonstruktion der pyramidenzellähnlichen Zelle ohne Fotoaufnahme im Hintergrund (vgl. (a)).

Zur CA3-Region wurde der Anteil des Hippocampus gezählt, der lateral der geraden Verbindung zwischen den Enden der Schere des Gyrus dentatus beginnt, bis einschließlich der Windung der CA3-Region nach lateral Richtung CA2/CA1-Region. Außerdem wurden nur Schnitte gewählt, die dem ventralen Hippocampus zugehörig waren. Dazu zählten die Schnitte, die nach dem ersten Schnitt kamen, der das Corpus callosum in koronarer Ebene als nicht kontinuierliche Struktur der beiden Hemisphären des Gehirns zeigte (Karabeg et al., 2013). Diese Auswahl wurde zum einen getroffen, um die Gruppe der rekonstruierten Neuronen einheitlicher zu gestalten. Zum anderen, da die Anzahl und Dichte der Golgi Cox-gefärbten Zellen im ventralen Bereich des Hippocampus niedriger erschien und somit die einzelnen Zellen mit ihren zugehörigen Ausläufern wesentlich eindeutiger zu identifizieren und von Nachbarzellen abzugrenzen waren. Die Apikaldendriten der Pyramidenzellen der CA3-Region waren im Gegensatz zu den Apikaldendriten der LA-Region immer eindeutig identifizierbar (siehe Abb. 3). Der Apikaldendrit von Pyramidenzellen der CA3-Region ist sehr prominent, stark verzweigt, länger als die Basaldendriten und deutlich an der gegenüberliegenden Seite der restlichen, basalen Dendriten des Zellkörpers angesiedelt. Es wurden nur die Zellkörper und die jeweiligen Apikaldendriten rekonstruiert. Von der zusätzlichen Rekonstruktion

der Basaldendriten wurde im Vorhinein kein Gewinn an Ergebnissen erwartet, da in mehreren vorangegangenen Forschungsarbeiten anderer Arbeitsgruppen kein Effekt von Stress auf die Morphologie der Basaldendriten der Pyramidenzellen der CA3-Region bei Ratten gezeigt werden konnte, sondern lediglich Veränderungen der Morphologie der Apikaldendriten detektiert wurden (Watanabe et al., 1992, Woolley et al., 1990, Pawluski et al., 2012). Die Pyramidenzellen der CA3-Region können in Kurzschaff-Pyramidenzellen und Langschaff-Pyramidenzellen unterteilt werden. Die Unterscheidung erfolgte orientierend an den Merkmalen beschreiben von Fitch et al. 1989: Kurzschaff-Pyramidenzellen zeigen sich mit kürzerem Schaff des Apikaldendriten, einer großen Anzahl von Spines und dichter verzweigtem Apikaldendrit. Langschaff-Pyramidenzellen besitzen im Gegensatz dazu einen längeren Schaff des Apikaldendriten, weniger Spines und weniger Verzweigungen. Um eine objektive Grenze festzulegen, die unabhängig von der Person ist, die die Auswahl der Neuronen trifft, wurde eine Obergrenze der Schafflänge des Apikaldendriten von Kurzschaff-Pyramidenzellen von 30 μm festgelegt. Das bedeutet, dass der Abstand zwischen Abgang des Apikaldendriten vom Soma bis zum ersten Verzweigungspunkt 30 μm nicht überschreiten durfte (Fitch et al., 1989). Die Auswahl der Pyramidenzellen beschränkt sich in dieser Arbeit auf die Kurzschaff-Pyramidenzellen, da in bereits publizierten Studien mit Ratten und Mäusen, die Stress ausgesetzt worden waren, nur bei Kurzschaff-Pyramidenzellen der CA3-Region statistisch signifikante morphologische Veränderungen gezeigt werden konnten und nicht bei den Langschaff-Pyramidenzellen (Christian et al., 2011, Lambert et al., 1998). Außerdem sollten so die Daten einer möglichst homogenen Gruppe von rekonstruierten Neuronen für die abschließende statistische Analyse generiert werden.



(a)



(b)

Abbildung 3: *Repräsentative Aufnahme einer Pyramidenzelle der CA3-Region.*

(a) Fotoaufnahme einer Pyramidenzelle aus der CA3-Region des Hippocampus mit daüberliegender dreidimensionaler Rekonstruktion des Apikaldendriten, die mithilfe des NeuroLucida-Systems erstellt wurde. Gelb = Apikaldendrit. Rote Striche am Dendritenbaum = Spines (in Abb. nur schwer zu erkennen). Der Balken in der rechten Ecke des Bildes zeigt den Maßstab (Balkenlänge entspricht 50 µm im Präparat).
 (b) Rekonstruktion einer Pyramidenzelle ohne Fotoaufnahme im Hintergrund (vgl. (a)).

Grundsätzliches wurde sowohl bei der Rekonstruktion der Neurone der LA als auch der CA3-Region eingehalten: Es wurden bei der Rekonstruktion aller Neurone randständige Zellen der jeweils fokussierten Hirnregionen vermieden, um die Sicherheit zu erhöhen, dass das Neuron der ausgewählten Hirnregion zugehörig ist. Außerdem wurde nach Neuronen gesucht, die mittig im Schnitt liegen damit möglichst wenig Anteile der Dendriten außerhalb der Schnittebene liegen und somit die Dendriten in vollständiger Länge und Ausbreitung rekonstruiert werden konnten. Dies konnte nicht immer garantiert werden, sollte aber so gering wie möglich gehalten werden. Neurone wurden außerdem ausgeschlossen, wenn sie zu schwach gefärbt waren oder von Präzipitaten überlagert wurden. Darüber hinaus wurde darauf geachtet, dass das ausgewählte Neuron sich gar nicht, oder nur wenig mit benachbarten Neuronen überschneidet, um eine gute Übersicht und klare Zugehörigkeit von Dendriten, ihren Verzweigungen und Spines zu gewährleisten. Schnitte, in denen die fokussierte Hirnregion zerrissen und dadurch nicht klar zuzuordnen war, wurden nicht verwendet. Ziel war es, jeweils

mindestens sechs Neurone einer Maus zu rekonstruieren, sodass sich morphologische Daten von 36 Neuronen je Mausgruppe ergeben. Beispielweise 36 rekonstruierte Neurone für die Gruppe der WT-Mäuse ohne Stresserfahrung und 36 rekonstruierte Mäuse für die Gruppe der WT-Mäuse mit Stresserfahrung. Wie in Tabelle 2 gezeigt ist, konnte aufgrund der angelegten und streng eingehaltenen Kriterien zur Auswahl der geeigneten Präparate und Neurone nicht in allen Gruppen diese Anzahl erreicht werden.

Tabelle 2: Anzahl rekonstruierter Neurone
Anzahl rekonstruierter Neurone aufgeführt für jede Mäusegruppe separat für die beiden analysierten Hirnregionen LA und CA3.

Mäuse-Gruppe	LA	CA3
WT-Kontrolle	36	24
WT-Verlierer	31	24
HET-Kontrolle	36	22
HET-Verlierer	36	24
KO-Kontrolle	36	35
KO-Verlierer	24	34

Rekonstruiert wurden bei allen Neuronen zunächst der Zellkörper und dann die Dendriten mit all ihren Verzweigungen. In die Mitte des Zellkörpers wurde der Referenzpunkt gesetzt. Apikaldendriten wurden speziell als solche gekennzeichnet. Als Spines wurden alle Dornfortsätze gezählt, unabhängig von ihrer Spineklasse. Folgende Spineklassen wurden bei der Rekonstruktion berücksichtigt: *Filopodium* (dünner, relativ langer Fortsatz), *Thin Spine* (dünner, relativ kurzer Fortsatz), *Mushroom Spine* (pilzförmig) und *Stubby Spine* (dünner, platter, kurzer Fortsatz). Davon abzugrenzen sind stellenweise Verdickungen, möglicherweise Varikositäten der Dendritenäste, welche nicht als Spines gerechnet wurden.

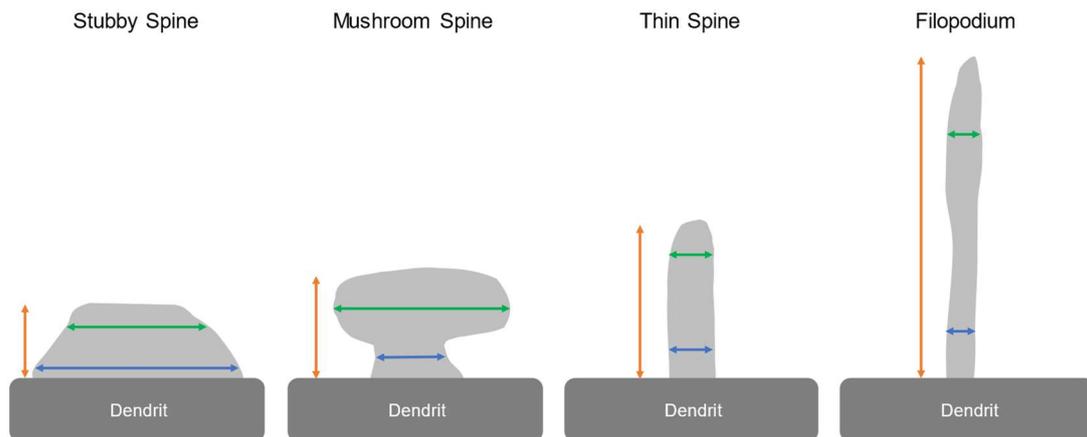


Abbildung 4: Darstellung der unterschiedlichen Spine-Typen.

Darstellung der unterschiedlichen Spine-Typen, die in dieser Arbeit in der Rekonstruktion der unterschiedlichen Spine-Typen Neurone berücksichtigt wurden. Orangener Pfeil = Länge, blauer Pfeil: Durchmesser Hals, grüner Pfeil = Durchmesser Kopf. Grafik modifiziert nach <https://www.mfbioscience.com/help/neurolucida360/Content/3Denvironment/3DDetectSpines.htm> (aufgerufen am 21.03.2022).

2.5 Morphometrie und Datenanalyse

Für die Zellen der LA wurde neben der Analyse verschiedener, die Gesamtdendriten betreffenden, morphologischen Parameter der untersuchten Mäusegehirne, wie z.B. der Dendritenlänge in μm , Anzahl der Verzweigungspunkte (englisch *Nodes*), Verzweigungsdichte (englisch *Branch Packing*) (Anzahl der Verzweigungen, geteilt durch die Länge des Dendriten in $\mu\text{m} \times 100$), Anzahl der Spines, Dichte der Spines (Anzahl der Spines durch die Länge in μm) auch eine Branch Order-Analyse für dieselben Parameter durchgeführt (siehe Abb. 5). Die Branch Order-Analyse eignet sich für die nicht streng pyramidenzellförmigen Neurone der LA, da deren Dendriten nach ihrem Abgang vom Soma in verschiedene Richtungen in die Breite auslaufen und sich im Verlauf dichotom verzweigen. Äste der gleichen Verzweigungsordnung weisen meist eine ähnliche Dicke und Spinedichte auf (Nietzer et al., 2011). So ist ein Vergleich einzelner morphologischer Parameter in verschiedenen Verzweigungsordnungen (englisch *Branch Orders*) möglich. Die verzweigte Struktur eines Dendriten, der jeweils seinen Ursprung am Zellkörper hat, wird als ein Baum betrachtet. Einzelne Segmente, die durch Verzweigungspunkte miteinander verbunden sind oder in einem Endpunkt münden, werden als Ast (englisch *Branch*) bezeichnet. Den Ästen werden Nummern zugewiesen, die die Hierarchie des Verzweigungsgrades beschreiben.

Für die Analyse der Morphologie der Zellen der CA3-Region wurde neben der Analyse der Dendriten im Ganzen (Gesamtdendriten) eine Sholl-Analyse durchgeführt (siehe Abb. 5). Diese Form der Analyse wird nach ihrem Erstanwender und Entdecker, dem Anatom D.A. Sholl benannt (Sholl, 1953). Die Apikaldendriten der Pyramidenzellen streben deutlich in eine Richtung. Sie teilen sich so auf, dass sich Äste der gleichen Verzweigungsordnung sowohl als dickerer, mit weniger Spines besetzter Hauptast in Ausbreitungsrichtung fortsetzen können oder auch als dünnere Seitenäste darstellen, die häufig mehr Spines besitzen. Die Branch Order-Analyse ist dabei ungeeignet, da die Äste der gleichen Verzweigungsordnung große Unterschiede aufweisen können. Es hatte sich bereits in der vorangegangenen Arbeit von Nietzer et al. deutlich gezeigt, dass die Sholl-Analyse für die morphologische Analyse der Pyramidenzellen des Hippocampus geeigneter ist (Nietzer et al., 2011). Für die Sholl-Analyse wurden Schalen um den Zellkörper gelegt, die sich vergrößern, je weiter sie vom Zellkörper entfernt sind. Dies erfolgte durch eine konstante Zunahme des Radius von 30 μm von Schale zu Schale. In den Ergebnissen enthalten sind, für die einzelnen Dendriten im Ganzen sowie für jede Schale der Sholl-Analyse, die Länge in μm , die Anzahl der Spines, die Spinedichte, die Anzahl der Verzweigungen, die Verzweigungsdichte sowie die Anzahl der Schnittstellen der Dendriten mit den einzelnen Schalen (englisch *Intersections*).

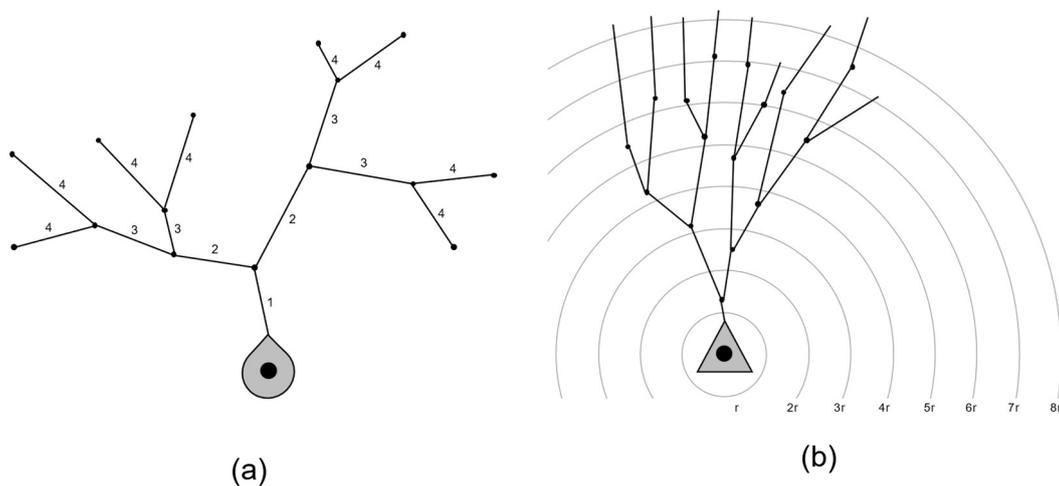


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Branch Order- und der Sholl-Analyse.

(a) zeigt schematisch ein pyramidenzellähnliches Neuron der lateralen Amygdala mit Zellkern und einem Apikaldendriten. Die Verzweigungen des Apikaldendriten wurden entsprechend ihrer Verzweigungsordnung nummeriert. Dieses Vorgehen liegt der Branch Order-Analyse zugrunde. (b) zeigt schematisch eine Pyramidenzelle der CA3-Region mit den im dreidimensionalen angelegten Schalen der Sholl-Analyse. Ausgehend vom Zentrum des Zellkerns vergrößert sich der Radius von Schale zu Schale um 30 μm : $r = 30 \mu\text{m}$, $2r = 60 \mu\text{m}$ (...) $8r = 240 \mu\text{m}$.

Tabelle 3: Die für die Analyse der Gesamtdendriten der Branch Order- und der Sholl-Analyse erhobenen Parameter.

Analyse:	Gesamtdendriten	Branch Order-Analyse	Sholl-Analyse
Parameter:	<ul style="list-style-type: none"> - Länge (μm) - Spines - Spinedichte ($/\mu\text{m}$) - Verzweigungspunkte - Verzweigungsdichte ($/\mu\text{m} \times 100$) 	<ul style="list-style-type: none"> - Länge (μm) - Spines - Spinedichte ($/\mu\text{m}$) 	<ul style="list-style-type: none"> - Länge (μm) - Spines - Spinedichte ($/\mu\text{m}$) - Verzweigungspunkte - Verzweigungsdichte ($/\mu\text{m} \times 100$) - Schnittstellen

2.6 Statistische Auswertung

Die gewonnenen Daten wurde mithilfe von Excel für Windows (Excel 2016 - Version 15.11, Microsoft Corporation) aufgearbeitet. Die statistische Analyse erfolgte unter Verwendung des Programms IBM SPSS Statistics (Version 25, IBM Corporation). Die grafische Darstellung der Daten erfolgte mit dem Programm GraphPad Prism (Version 9.1.1, GraphPad Software, Inc.).

Die statistische Auswertung der einzelnen morphologischen Parameter der Gesamtdendriten sowie der Branch Order-Analyse und der Sholl-Analyse erfolgte, entsprechend der Empfehlung der statistischen Beratung des Instituts für Klinische Epidemiologie und Biometrie der Julius-Maximilians-Universität Würzburg, anhand eines verallgemeinerten linearen Modells, einer verallgemeinerten Schätzungsgleichung mit einem Wald-Konfidenzintervall von 95% (vgl. (Weber, 2022)). Das bedeutet, dass die ausgewerteten Parameter des Modells der Schätzungsgleichung zu 95% in diesem Intervall liegen. Die verallgemeinerte Schätzungsgleichung wurde gewählt, da von den einzelnen Tieren eine unterschiedliche Anzahl an ausgewerteten Neuronen in die Berechnung eingeflossen ist und diese Art der Auswertung diesbezüglich besonders robust ist und Unterschiede der Gruppenstärken ausgeglichen werden. Sie bietet zudem den Vorteil, aus einem Datensatz mit bekannten Gemeinsamkeiten (z.B. gleicher Genotyp, gleiche Stresserfahrung) sowie bekannten Unterschieden (z.B. unterschiedlicher Genotyp, unterschiedliche Stresserfahrung) statistisch signifikante

Korrelationen verschiedener Parameter, die von Interesse sind (z.B. Anzahl von Spines, Verzweigungspunkte...), in denen sich die einzelnen Gruppen signifikant voneinander unterscheiden, herauszufinden. Für die Erstellung des Modells der verallgemeinerten Schätzungsgleichung wird die Gesamtheit der vorliegenden Daten eingeschlossen. Post-hoc-Testungen in Form von paarweisen Vergleichen der einzelnen Gruppen (z.B. WT-Kontrolle und KO-Kontrolle) bezogen auf einen Parameter (z.B. Verzweigungsdichte) erfolgten nur, wenn im Wald-Chi-Quadrat-Test ein p-Wert von $< 0,05$ erreicht wurde und signifikante Interaktionseffekte zwischen den übergeordneten Gruppen (z.B. Genotyp und Stresserfahrung) anzeigte, was der Nullhypothese widersprach. Ergab sich lediglich ein Trend im Wald-Chi-Quadrat-Test, folgte keine Post-hoc-Analyse.

Im Rahmen der multiplen Vergleiche erfolgte eine Korrektur der Signifikanzniveaus der paarweisen Einzeltests nach Bonferroni, um das festgelegte globale Signifikanzniveau von 5% einzuhalten. Die Signifikanzniveaus der Einzeltests wurden jeweils adjustiert, was einer Herabsetzung der Signifikanzniveaus der Einzeltests entspricht. Das gesamte Signifikanzniveau konnte dadurch mit 0,05, entsprechend 5%, eingehalten werden. Unterschiede mit einem $p < 0,1$, aber $> 0,05$ werden im Folgenden mit einer Raute (#) als Trend markiert. Unterschiede mit einem $p > 0,01$, aber $\leq 0,05$ mit einem Sternchen (*) markiert, Unterschiede mit einem $p \leq 0,01$ aber $> 0,000$ mit zwei Sternchen (**), und Unterschiede mit einem p von 0,000 mit drei Sternchen (***) markiert. Die für die grafische Darstellung benötigte deskriptive Statistik, welche die Mittelwerte und den Standardfehler des Mittelwerts beinhaltet, wurde ebenfalls mittels SPSS Statistics ermittelt.

3 Ergebnisse

Zunächst wird der Effekt des *5-Htt*-Genotyps (WT/HET/KO) und der sozialen Stresserfahrung auf das gesamte Dendritenmaterial und in der Branch Order-Analyse der pyramidenzellähnlichen Neurone der LA dargestellt. Getrennt davon werden die Ergebnisse der separat durchgeführten Analyse des gesamten Dendritenmaterials sowie der Branch Order-Analyse der pyramidenzellähnlichen Neurone der LA im Vergleich der Genotypen WT und KO gezeigt, in Gegenüberstellung zu den Ergebnissen der Arbeit von Nietzer et al. (Nietzer et al., 2011). Im letzten Abschnitt

werden die Ergebnisse der untersuchten Pyramidenzellen der CA3-Region des Hippocampus beschrieben: Zunächst das Dendritenmaterial in der Gesamtheit, dann in der zusätzlich durchgeführten Sholl-Analyse.

Die statistische Analyse erfolgte immer anhand einer verallgemeinerten Schätzungsgleichung. Es wurde zunächst mit dem Wald-Chi-Quadrat-Test geprüft, ob es signifikante Haupteffekte sowie signifikante Interaktionen der Haupteffekte gibt, bevor paarweise Vergleiche zwischen einzelnen Gruppen vorgenommen wurden. Wenn sich nur ein Trend als Haupteffekt ergeben hatte, fand keine Post-hoc-Testung statt. Das Signifikanzniveau wurde bei 5 % nach Bonferroni-Korrektur eingehalten (siehe „Material und Methoden – Statistische Auswertung“). Die Ergebnisse wurden einerseits in Abbildungen (Abb. 6 - 11) dargestellt sowie ergänzend in Statistiktabelle zusammengefasst (S1 - S6).

3.1 Auswirkungen des *5-Htt*-Genotyps und sozialer Stresserfahrung auf die Morphologie der pyramidenzellähnlichen Neurone der lateralen Amygdala: Vergleich der in Mäusen aller drei Genotypen erhobenen Daten

Es wurden bei der Datengewinnung, also der Auswahl und Rekonstruktion der Neurone, die gleichen Schnitte verwendet sowie annähernd die gleichen methodischen Kriterien wie in der vorausgegangenen Arbeit von Nietzer et al. angelegt (siehe „Material und Methoden“). In meiner Arbeit habe ich jedoch zusätzlich zu den WT- und KO-Tieren die Schnitte der für den *5-Htt*-Genotyp heterozygoten Tiere untersucht. Es wurden also drei Genotypen der Kontroll- und Verlierergruppe analysiert, woraus sich sechs verschiedene Gruppen ergaben.

3.1.1 Analyse des Dendritenmaterials in seiner Gesamtheit

Verzweigungspunkte

Für die Gesamtheit der Dendriten sowie für Apikal- und Basaldendriten getrennt lässt sich vermuten, wie in Abbildung 6a-c zu sehen ist, dass die Häufigkeit der Verzweigungspunkte der Dendritenbäume so verteilt ist, dass die Kontrollgruppe oft weniger Verzweigungspunkte aufweisen als die Gruppe der Verlierer, die die soziale Stresserfahrung gemacht haben. Dies gilt am ehesten für die WT- und HET-Tiere. Bei

den KOs scheint es eher so, dass KO-Kontrollen etwa gleich viele Verzweigungspunkte wie KO-Verlierer (KO-Kontrolle \approx KO-Verlierer) oder sogar etwas weniger Verzweigungspunkte (KO-Kontrolle $>$ KO-Verlierer) besitzen. Die statistische Auswertung konnte diese Annahmen teilweise bestätigen. So ergab die statistische Analyse der Anzahl der Verzweigungspunkte des gesamten Dendritenmaterials mithilfe des Wald-Chi-Quadrat-Tests einen signifikanten Erfahrungseffekt von Verlierern gegenüber der Kontrollgruppe, unabhängig vom Genotyp ($p = 0,030$). Eine Interaktion zwischen Erfahrung und Genotyp lässt sich als Trend erkennen ($p = 0,097$). In der Gruppe der Apikaldendriten ergab sich eine signifikante Interaktion der Faktoren Erfahrung und Genotyp ($p = 0,019$). Dennoch wies der Post-hoc-Test nicht auf einen signifikanten Unterschied zwischen einzelnen Gruppen hin. Die Analyse der Basaldendriten ergab eine signifikante Interaktion von Erfahrung und Genotyp ($p = 0,013$). Die anschließend durchgeführte Post-hoc-Analyse ergab signifikant mehr Verzweigungspunkte der pyramidenzellähnlichen Neuronen der WT-Verlierer im Vergleich zu den WT-Kontrollen ($p = 0,038$).

Dendritenlänge

Wie in Abbildung 6d-f zu sehen ist, scheinen die Verlierergruppen der WT- und der HET-Mäuse im Vergleich zu ihren jeweiligen Kontrollgruppen eine höhere Dendritenlänge aufzuweisen, was sich bei der Auswertung des gesamten Dendritenmaterials sowie bei den Apikal- und Basaldendriten (Abb. 6e&f) erahnen lässt (WT-Kontrolle $<$ WT-Verlierer, HET-Kontrolle $<$ HET-Verlierer). Wie auch schon bei den Graphen der durchschnittlichen Verzweigungspunkte scheinen die KO-Verlierer allerdings gegenüber den KO-Kontrollen bei Betrachtung aller Dendriten (Abb. 6d), wie auch bei der alleinigen Analyse der Apikaldendriten (Abb. 6e), eine geringere Länge des Dendritenmaterials (KO-Kontrolle $>$ KO-Verlierer) aufzuweisen. Die statistische Auswertung konnte diese Annahmen teilweise bestätigen. So ergab die Post-hoc-Analyse nach einem mithilfe des Wald-Quadrat-Tests festgestellten hoch signifikanten Interaktionseffekt zwischen Erfahrung und Genotyp in der Gruppe der gesamten Dendriten ($p = 0,000$) einen hochsignifikanten Gruppenunterschied zwischen WT-Kontrollen und WT-Verlierern mit einer höheren Dendritenlänge bei den WT-Verlierern im Vergleich zu den WT-Kontrollen ($p = 0,000$) und einen moderat signifikanten Unterschied bei den WT-Kontrollen und den HET-Kontrollen ($p = 0,048$). Bei den Apikaldendriten ergab der nach einem signifikanten Interaktionseffekt zwischen Erfahrung und Genotyp ($p = 0,032$) durchgeführte Post-hoc-

Test auch eine signifikant höhere durchschnittliche Länge bei den Dendriten der WT-Verlierer im Vergleich zu den Dendriten der WT-Kontrollen ($p = 0,004$). Bei der Analyse der Dendritenlänge der Basaldendriten ergab sich nur der Trend einer Interaktion zwischen Genotyp und Erfahrung ($p = 0,067$).

Darüber hinaus konnten signifikante *5-Htt*-Genotyp-Unterschiede bei der Auswertung der gesamten Dendriten ($p = 0,023$) als auch der Basaldendriten ($p = 0,001$) belegt werden. Die Post-hoc-Analyse ließ dabei signifikante Unterschiede, unabhängig von der Stresserfahrung, zwischen den WT-Mäusen und den HET-Mäusen (gesamte Dendriten $p = 0,022$, Basaldendriten $p = 0,007$) sowie zwischen den HET-Mäusen und den KO-Mäusen (gesamte Dendriten $p = 0,019$, Basaldendriten $p = 0,047$) erkennen. Dabei zeigten die HET-Mäuse gegenüber den anderen Genotypgruppen eine insgesamt höhere Dendritenlänge. In der Gruppe der Basaldendriten unterschieden sich zusätzlich die WT-Mäuse von den KO-Mäusen, unabhängig von der Stresserfahrung ($p = 0,036$).

Verzweigungsdichte

Die Verzweigungsdichte erscheint, wie Abbildung 6g-i zeigt, sowohl bei Betrachtung des gesamten Dendritenmaterials (Abb. 6g) als auch bei separater Betrachtung der Apikal- und Basaldendriten (Abb. 6h & 6i) in allen Gruppen ähnlich hoch. Die statistische Analyse wies lediglich auf den Trend eines Genotypeffekts bei der Auswertung der Verzweigungsdichte der Basaldendriten, unabhängig von der Stresserfahrung hin ($p = 0,064$).

Anzahl der Spines

Die durchschnittliche Anzahl der Spines erscheint bei Betrachtung der Graphen 6j bis l bei den HET-Mäusen, unabhängig von der Stresserfahrung, in allen Fällen am höchsten zu sein, höher als bei den WT-Mäusen und auch höher als bei den KO-Mäusen.

Jedoch ergab die statistische Auswertung der Anzahl der Spines mithilfe des Wald-Chi-Quadrat-Tests bei den gesamten Dendriten nur den Trend eines Genotypeffekts, unabhängig von der Stresserfahrung ($p = 0,051$). Die statistische Analyse wies aber auf einen signifikanten Erfahrungseffekt hin ($p = 0,041$). Bei der Analyse der Basaldendriten konnte ein signifikanter Genotypeffekt nachgewiesen werden ($p = 0,023$), wobei der Post-hoc-Test nur auf den Trend einer höheren Spineanzahl der HET-Gruppe im Vergleich zur WT-Gruppe zeigte ($p = 0,076$). Ein Erfahrungseffekt, unabhängig vom

Genotyp, konnte als Trend unter den Apikal- und den Basaldendriten festgestellt werden (Apikaldendriten $p = 0,051$, Basaldendriten $p = 0,063$). Außerdem deutete sich auch in der Gruppe der Apikaldendriten ein Genotypeneffekt an ($p = 0,098$).

Spinedichte

Wie in Abbildung 6m-o zu sehen ist, kann man für die Gesamtheit der Dendriten (Abb. 6m) als auch für Apikal- und Basaldendriten getrennt (Abb. 6n&o) vermuten, dass die HET-Gruppe gegenüber der WT- und der KO-Gruppe eine höhere Spinedichte besitzt.

Die statistische Analyse der untersuchten Spinedichte des gesamten Dendritenmaterials und auch der Apikal- und Basaldendriten getrennt voneinander, konnte tatsächlich signifikante Genotyp-Effekte zeigen, unabhängig von der Erfahrung (gesamte Dendriten $p = 0,001$, Apikaldendriten $p = 0,015$, Basaldendriten $p = 0,003$). In der Post-hoc-Analyse ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen HET und WT (gesamte Dendriten $p = 0,001$, Apikaldendriten $p = 0,014$, Basaldendriten $p = 0,002$) und in der Analyse der Apikal- und Basaldendriten zwischen HET und KO (Apikaldendriten $p = 0,027$, Basaldendriten $p = 0,025$). In allen Fällen präsentierte sich die Gruppe der HET-Mäuse mit einer höheren Spinedichte gegenüber den anderen beiden Genotypgruppen. Eine signifikante Interaktion zwischen Erfahrung und Genotyp zeigte sich bei der Analyse der Apikal- und Basaldendriten zusammengenommen (gesamte Dendriten $p = 0,001$). Der durch diese signifikante Interaktion möglich gewordene Post-hoc-Test konnte eine signifikant geringere Spinedichte von WT-Verlierern ($p = 0,001$) und KO-Verlierern ($p = 0,037$) im Vergleich zu den HET-Verlierern statistisch nachweisen.

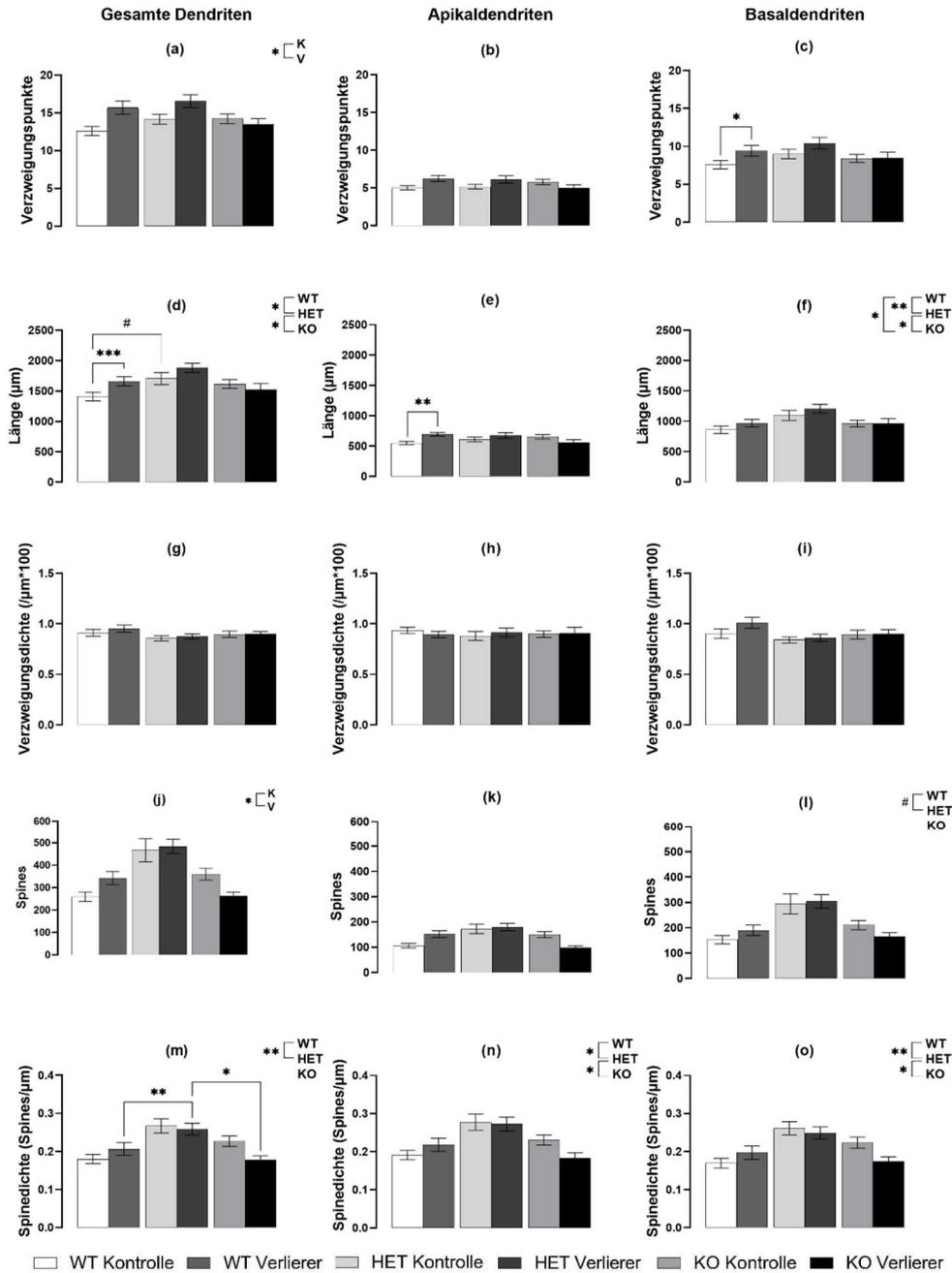


Abbildung 6: Analyse verschiedener morphologischer Parameter von Dendriten der pyramidenzellähnlichen Neurone der lateralen Amygdala im Gehirn von 5-HTT-WT, -HET- und -KO-Mäusen mit und ohne Verlierererfahrung

Nach Rekonstruktion der Dendriten von pyramidenzellähnlichen Neuronen der lateralen Amygdala Neurolucida-Systems von MicroBrightField wurden verschiedene Parameter analysiert, anhand einer verallgemeinerten Schätzungsgleichung statistisch ausgewertet und graphisch dargestellt: Verzweigungspunkte (a-c), Länge (d-f), Verzweigungsdichte (g-i), Anzahl der Spines (j-l) und Spinedichte (m-o). Es wurden die gesamten Dendriten (Apikal- + Basaldendriten: a,d,g,j,m), Apikaldendriten (b,e,h,k,n) und Basaldendriten (c,f,i,l,o) getrennt ausgewertet und dargestellt. Zusätzlich angezeigte Effekte: Genotypeneffekte (WT/HET/KO – unabhängig von Stresserfahrung) und Erfahrungseffekte (K (Kontrolle)/V (Verlierer) – unabhängig vom Genotyp). Signifikanzniveau nach Bonferroni-Korrektur $p = 0,05$. Markierung signifikanter Unterschiede: # entspricht Trend mit $p \leq 0,1$, * entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,05$, ** entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,01$, *** entspricht Signifikanz mit $p = 0,000$. Die erzielten Daten sind als Mittelwerte \pm Standardfehler dargestellt.

3.1.2 Branch Order-Analyse

Wie die Statistiktabelle 2 belegt, ergab sich bei allen analysierten Dendritengruppen ein hochsignifikanter Effekt der Verzweigungsordnung ($p=0,000$). Dies bedeutet, dass bei der statistischen Analyse innerhalb aller untersuchten Parameter sich signifikant unterschiedliche Werte von Verzweigungsordnung zu Verzweigungsordnung zeigten. Außerdem ergab sich in der Analyse aller Parameter mithilfe des Chi-Quadrat-Tests ein teilweise hochsignifikanter Genotyp-Effekt mit einem in der Post-hoc-Analyse detektierten signifikanten Unterschied der HET-Gruppe im Vergleich zu den beiden anderen Genotypgruppen WT und KO (mit Ausnahme des Parameters „Länge“ bei den Apikaldendriten).

Länge

Der Einfluss der Verzweigungsordnung auf die Dendritenlänge ist in Abbildung 7a-c gut zu erkennen. Die Länge des Dendritenmaterials erscheint alle Dendritengruppen betreffend am höchsten in der dritten Verzweigungsordnung, gefolgt von der zweiten und vierten Verzweigungsordnung mit jeweils ähnlicher Länge und der geringsten Länge in der ersten Verzweigungsordnung (3. Verzweigungsordnung > 2. Verzweigungsordnung \approx 4. Verzweigungsordnung > 1. Verzweigungsordnung). Am deutlichsten sind diese Unterschiede in Abb. 7a, mit den dargestellten Längen des gesamten Dendritenmaterials zu erkennen.

Wie die Statistiktabelle 2 zusammenfasst, ergab die statistische Analyse der Dendritenlänge der gesamten Dendriten und der Basaldendriten (mit Ausnahme der Apikaldendriten) im Qui-Quadrat-Test einen signifikanten Effekt des Genotyps (gesamte Dendriten $p = 0,002$, Basaldendriten $p = 0,001$). Die Post-hoc-Analysen ergaben, dass die HET-Mäuse insgesamt eine höhere Dendritenlänge aufweisen im Vergleich zu den Gruppen WT ($p = 0,002$) und KO ($p = 0,011$), jeweils unabhängig von Stresserfahrung und Verzweigungsordnung.

Zwischen Erfahrung und Verzweigungsordnung ließ sich eine signifikante Interaktion unabhängig vom Genotyp erkennen ($p = 0,035$). Die signifikante Interaktion zwischen Erfahrung, Genotyp und Verzweigungsordnung ($p = 0,011$) zeigte in der Post-hoc-Analyse signifikante Gruppenunterschiede in der ersten Verzweigungsordnung zwischen HET-Verlierern und KO-Verlierern ($p = 0,000$) und zwischen WT-Kontrolle und WT-Verlierern ($p = 0,000$). In der zweiten Verzweigungsordnung ließ sich ein

Unterscheid zwischen WT-Verlierern und HET-Verlierern aufgrund eines Trends bei der statistischen Analyse vermuten ($p = 0,074$).

Die statistische Auswertung der gemessenen Längen der Apikaldendriten ergab keine Hinweise auf den Effekt des Genotyps. Sie resultierte jedoch in dem Trend einer Interaktion zwischen Erfahrung und Genotyp, unabhängig von der Verzweigungsordnung ($p = 0,069$) und einer signifikanten Interaktion zwischen Erfahrung, Genotyp und Verzweigungsordnung, allerdings ohne signifikante Gruppenunterschiede im Post-hoc-Test.

In der Gruppe der Basaldendriten war der Haupteffekt des Genotyps statistisch signifikant ($p = 0,001$), unabhängig von Erfahrung und Verzweigungsordnung mit signifikantem Unterschied zwischen HET und WT ($p = 0,001$) sowie HET und KO ($p = 0,014$). Die signifikante Interaktion zwischen Erfahrung und Verzweigungsordnung ($p = 0,049$) lieferte keine signifikanten Ergebnisse im paarweisen Vergleich der Post-hoc-Analyse.

Anzahl der Spines

Wie in Abbildung 7d-f ersichtlich, lässt sich der statistisch hochsignifikante Effekt der Verzweigungsordnung ($p = 0,000$) auch bei Darstellung der absoluten Anzahl an Spines des Dendritenmaterials je Verzweigungsordnung erkennen. Für die Gesamtheit aller Dendriten (Abb. 7d) und die Basaldendriten separat (Abb. 7f) scheint zu gelten: 3. Verzweigungsordnung > 4. Verzweigungsordnung \approx 2. Verzweigungsordnung > 1. Verzweigungsordnung und für die Apikaldendriten: 3. Verzweigungsordnung \approx 4. Verzweigungsordnung > 2. Verzweigungsordnung > 1. Verzweigungsordnung.

Die HET scheinen generell die größte Anzahl an Spines in allen Verzweigungsordnungen zu besitzen, was sich in der Gruppe der Apikaldendriten (Abb. 7e) weniger deutlich als in den anderen Dendritengruppen zeigt (Abb. 7d&f). Dabei konnte bei den WT- und KO-Mäusen eine miteinander vergleichbare absolute Anzahl an Spines in den jeweiligen Verzweigungsordnungen nachgewiesen werden.

Für das gesamte Dendritenmaterial und für Apikal- und Basaldendriten separat lieferte die statistische Auswertung einen Genotypeffekt als Haupteffekt (gesamte Dendriten und Basaldendriten $p = 0,000$, Apikaldendriten $p = 0,005$). Dabei konnten statistisch signifikante Unterschiede, unabhängig von Erfahrung und Verzweigungsordnung,

zwischen WT und HET (gesamte Dendriten und Basaldendriten $p = 0,000$, Apikaldendriten $p = 0,066$) und zwischen HET und KO (gesamte Dendriten und Basaldendriten $p = 0,000$, Apikaldendriten $p = 0,004$) gezeigt werden, wobei die HET-Mäuse durchweg die höchste durchschnittliche Anzahl an Spines besitzen. Diese Ergebnisse sind nicht in den Abbildungen des Ergebnisteils dargestellt, jedoch in der Statistiktabelle S2 im Anhang zu finden. Die Analyse der gesamten Dendriten und der Apikaldendriten lieferte eine signifikante Interaktion von Erfahrung und Genotyp (gesamte Dendriten $p = 0,007$, Apikaldendriten $p = 0,001$). Diese Interaktion, unabhängig von der Verzweigungsordnung, zeigte in den Ergebnissen für das gesamte Dendritenmaterial signifikante Unterschiede der WT-Kontrollen gegenüber den HET-Kontrollen ($p = 0,006$), der WT-Verlierer gegenüber den HET-Verlierern ($p = 0,033$) und der KO-Verlierer gegenüber den HET-Verlierern ($p = 0,000$). Für die Apikaldendriten zeigte sich der Trend eines Unterschieds zwischen WT-Kontrollen und WT-Verlierern ($p = 0,084$). Die Interaktion von Genotyp und Verzweigungsordnung stellte sich in allen Dendritengruppen als signifikant heraus (gesamte Dendriten $p = 0,000$, Apikaldendriten $p = 0,023$, Basaldendriten $p = 0,001$). In der Gruppe der gesamten Dendriten und der Basaldendriten stellten sich statistisch relevante Unterschiede zwischen WT und HET der ersten Verzweigungsordnung (gesamte Dendriten $p = 0,025$, Basaldendriten $p = 0,073$), WT und HET der zweiten Verzweigungsordnung (gesamte Dendriten und Basaldendriten $p = 0,000$) und HET und KO der zweiten Verzweigungsordnung (gesamte Dendriten $p = 0,007$, Basaldendriten $p = 0,014$) dar. Nur für die gesamten Dendriten ergaben sich Unterschiede zwischen HET und KO der dritten und der vierten Verzweigungsordnung (3. Verzweigungsordnung $p = 0,012$, 4. Verzweigungsordnung $p = 0,092$) und für die Basaldendriten zwischen WT und HET der vierten Verzweigungsordnung ($p = 0,092$). Diese Ergebnisse finden sich in Statistiktabelle S2 und sind nicht in der Abbildung 7 angezeigt.

Auch für die Interaktion zwischen Erfahrung, Genotyp und Verzweigungsordnung konnten statistisch relevante Ergebnisse erzielt werden (gesamte Dendriten $p = 0,001$, Apikaldendriten $p = 0,003$, Basaldendriten $p = 0,064$). Wie in Abbildung 7 dargestellt ist, ergab die Post-hoc-Analyse signifikante Gruppenunterschiede für das gesamte Dendritenmaterial mit dem Trend eines Unterschieds zwischen WT-Verlierern und WT-Kontrollen der ersten Verzweigungsordnung ($p = 0,068$), einen hochsignifikanten Unterschied der HET-Verlierer gegenüber den WT-Verlierern ($p = 0,002$) und gegenüber

den KO-Verlierern ($p = 0,014$) der zweiten Verzweigungsordnung. Tendenziell unterschieden sich die HET-Verlierer gegenüber den KO-Verlierern auch in der dritten Verzweigungsordnung ($p = 0,065$) und signifikant in der vierten Verzweigungsordnung ($p = 0,028$).

Spinedichte

Auch Abbildung 7g-i gibt Hinweise auf den statistisch hochsignifikanten Effekt der Verzweigungsordnung ($p = 0,000$) bei der Darstellung der Spinedichte des Dendritenmaterials je Verzweigungsordnung.

Wie in Abbildung 7g-i dargestellt, scheint sich die Spinedichte, bezogen auf die gesamten Dendriten (Abb. 7g) und Apikal- und Basaldendriten (Abb. 7h&i) getrennt, auf die einzelnen Verzweigungsordnungen so zu verteilen, dass in der dritten und vierten Verzweigungsordnung die höchste Spinedichte besteht, gefolgt von der zweiten Verzweigungsordnung und der ersten Verzweigungsordnung mit der niedrigsten Spinedichte (3. Verzweigungsordnung \approx 4. Verzweigungsordnung $>$ 2. Verzweigungsordnung $>$ 1. Verzweigungsordnung).

Die statistische Analyse ergab mithilfe des Wald-Chi-Quadrat-Tests für das gesamte Dendritenmaterial sowie Apikal- und Basaldendriten getrennt einen Genotypeffekt als Haupteffekt (gesamte Dendriten $p = 0,000$, Apikal- und Basaldendriten $p = 0,003$). In der Post-hoc-Analyse zeigten sich statistisch relevante Unterschiede zwischen den HET und WT (gesamte Dendriten $p = 0,000$ Apikaldendriten $p = 0,010$, Basaldendriten $p = 0,003$) sowie zwischen HET und KO (gesamte Dendriten $p = 0,001$, Apikaldendriten $p = 0,004$ Basaldendriten $p = 0,066$), unabhängig von Erfahrung und Verzweigungsordnung. Dabei wiesen die HET-Mäuse durchweg die höchste Spinedichte gegenüber den beiden anderen Genotypgruppen auf. Einen Erfahrungseffekt als Haupteffekt, unabhängig vom Genotyp und Verzweigungsordnung, stellte sich nur in der Gruppe der Basaldendriten heraus ($p = 0,019$).

Eine signifikante Interaktion zwischen Genotyp und Verzweigungsordnung, unabhängig von der Stresserfahrung, konnte bei der Analyse des gesamten Dendritenmaterials ($p = 0,005$) und der Basaldendriten ($p = 0,006$) festgestellt werden. Die Post-hoc-Analyse lieferte signifikante Unterschiede zwischen HET und KO der zweiten Verzweigungsordnung (gesamte Dendriten $p = 0,003$, Basaldendriten $p = 0,016$) und in der dritten und vierten Verzweigungsordnung nur bei Einbeziehung der gesamten

Dendriten (3. Verzweigungsordnung $p = 0,024$, 4. Verzweigungsordnung $p = 0,044$), wie der Statistiktabelle S2 zu entnehmen ist. Außerdem unterschieden sich WT und HET signifikant in der zweiten Verzweigungsordnung der gesamten Dendriten ($p = 0,000$) und der Basaldendriten ($p = 0,000$) sowie in der dritten Verzweigungsordnung der gesamten Dendriten ($p = 0,013$).

Zudem zeigte sich für die Gesamtheit der Dendriten signifikant ($p = 0,015$) und für die Basaldendriten auf Trendebene ($p = 0,065$) eine Interaktion zwischen Erfahrung, Genotyp und Verzweigungsordnung. Die Post-hoc-Testung der gesamten Dendriten lieferte hochsignifikante Unterschiede der HET-Kontrollen mit höherer Spinedichte gegenüber den WT-Kontrollen in der zweiten Verzweigungsordnung ($p = 0,000$). Die HET-Verlierer und KO-Verlierer unterschieden sich unter Einschluss aller Dendriten signifikant in der zweiten Verzweigungsordnung ($p = 0,015$).

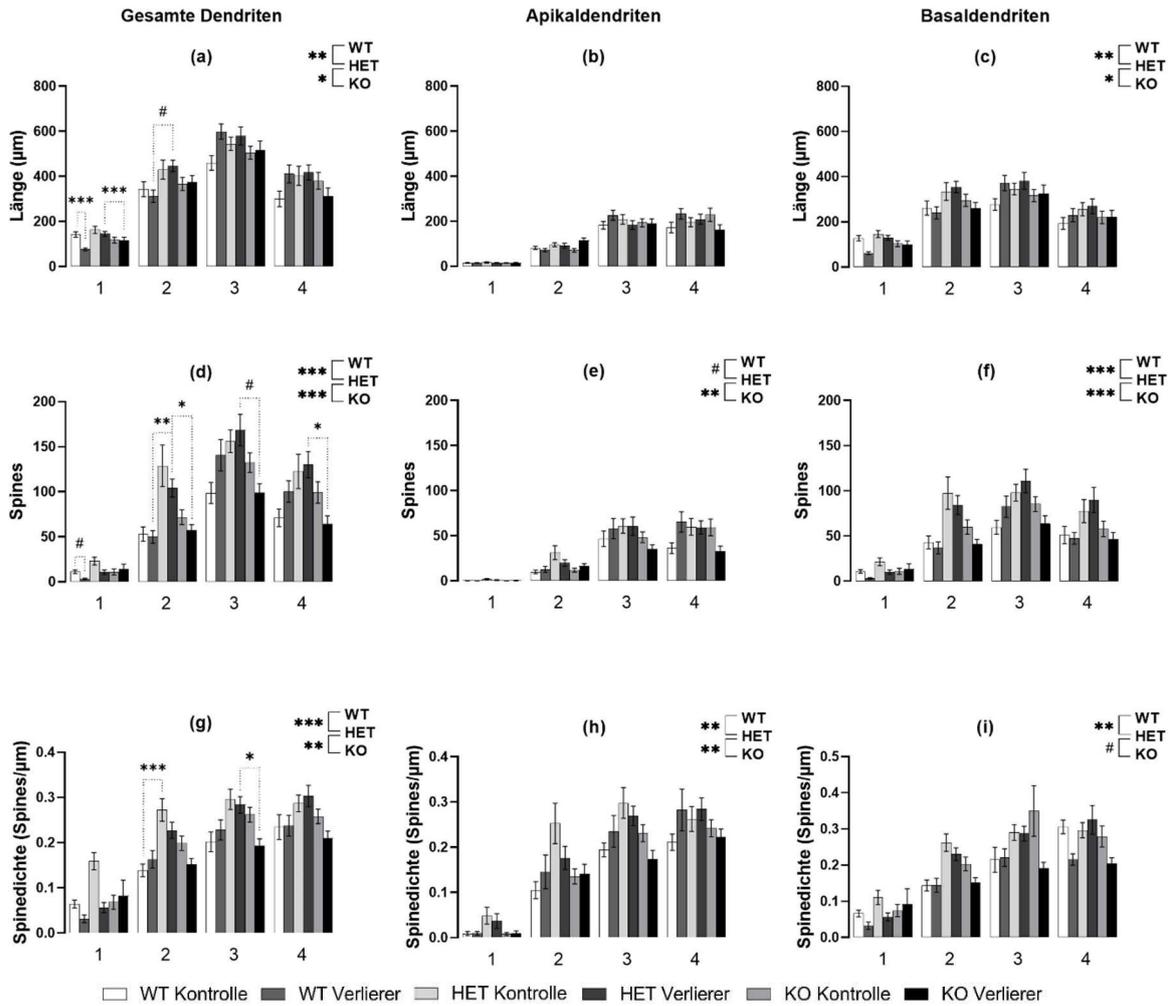


Abbildung 7: Branch Order-Analyse verschiedener morphologischer Parameter von Dendriten der pyramidenzellähnlichen Neurone der lateralen Amygdala im Gehirn von 5-HTT-, -HET- und -KO-Mäusen mit und ohne Verlierererfahrung

Nach Rekonstruktion der Dendriten von pyramidenzellähnlichen Neuronen der lateralen Amygdala mithilfe des Neurolucida-Systems von MicroBrightField wurden verschiedene Parameter separat für die Verzweigungsordnungen 1-4 der Branch Order-Analyse analysiert, anhand einer verallgemeinerten Schätzungsgleichung statistisch ausgewertet und graphisch dargestellt: Länge (a-c), Anzahl der Spines (d-f) und Spinedichte (g-i). Es wurden die gesamten Dendriten (Apikal- + Basaldendriten: a,d,g), Apikaldendriten (b,e,h) und Basaldendriten (c,f,i) getrennt ausgewertet und dargestellt. Zusätzlich angezeigte Effekte: Genotypeneffekte (WT/HET/KO – unabhängig von Stresserfahrung) und Erfahrungseffekte (K (Kontrolle)/V (Verlierer) – unabhängig vom Genotyp). Signifikanzniveau nach Bonferroni-Korrektur $p = 0,05$. Markierung signifikanter Unterschiede: # entspricht Trend mit $p \leq 0,1$, * entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,05$, ** entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,01$, *** entspricht Signifikanz mit $p = 0,000$. Die erzielten Daten sind als Mittelwerte \pm Standardfehler dargestellt.

3.2 Auswirkungen des *5-Htt*-Genotyps und sozialer Stresserfahrung auf die Morphologie der pyramidenzellähnlichen Neurone der lateralen Amygdala: Vergleich der in WT- und KO- Mäusen erhobenen Daten

In der bereits im Jahr 2011 publizierten Arbeit von Nietzer und Ko-Autoren (Nietzer et al., 2011) wurde anhand der identischen Präparate der WT- und KO-Mäuse ebenfalls die Morphologie der Neurone der LA durch Maria Bonn analysiert. Dabei wurden die gleichen morphologischen Parameter erhoben und in dieser Arbeit habe ich mich eng an den damals eingehaltenen Kriterien der Neuronenrekonstruktion orientiert. Ziel war es nun, die Ergebnisse von Nietzer et al. (2011) mit den eigenen Ergebnissen besser vergleichen zu können, als Basis für das Herausarbeiten und die Diskussion von möglichen Übereinstimmungen sowie auch von Unterschieden. Dazu werden die Ergebnisse der Gruppen WT-Kontrolle, WT-Verlierer, KO-Kontrolle und KO-Verlierer beschrieben und mit denen der Arbeit von Nietzer et al. verglichen. Es ist anzumerken, dass in diesem Teil der aktuellen Arbeit eine separate statistische Analyse der vier Gruppen durchgeführt wurde, wobei die HET-Gruppen (HET-Kontrolle, HET-Verlierer) nicht berücksichtigt wurden. Dadurch sollte eine bessere Vergleichbarkeit der beiden Arbeiten erzeugt werden. Dies führt dazu, dass in den im Folgenden beschriebenen statistischen Ergebnissen im Vergleich zur Analyse mit den sechs Gruppen (bei dem die Heterozygoten eingeschlossen sind, siehe „Auswirkungen des *5-Htt*-Genotyps und sozialer Stresserfahrung auf die Morphologie der pyramidenzellähnlichen Neurone der lateralen Amygdala: Vergleich der in Mäusen aller drei Genotypen erhobenen Daten“) sich leicht abweichende Ergebnisse zeigen. Die Ergebnisse der statistischen Analysen dieses Vergleichs der vier Gruppen von WT und KO sind in der Statistiktabelle S3 und S4 als Übersicht zusammengestellt.

3.2.1 Analyse des Dendritenmaterials in seiner Gesamtheit

Die Anzahl der Verzweigungspunkte der Dendritenbäume wird als erhobener Parameter hier nicht eigenständig aufgeführt, da dieser in der Arbeit von Nietzer et al. nicht isoliert untersucht wurde und daher nicht mit in den Vergleich der beiden Arbeiten einbezogen werden kann.

Dendritenlänge

Wie in den Abbildungen 8a-c zu sehen ist, lässt sich bei Betrachtung der gesamten Dendritenlänge in der Gruppe der WT-Verlierer die insgesamt höchste durchschnittliche Dendritenlänge vermuten, gefolgt von KO-Kontrolle, KO-Verlierer und mit der geringsten Gesamtlänge die Gruppe der WT-Kontrolle (WT-Verlierer > KO-Kontrolle > KO-Verlierer > WT-Kontrolle). Nietzer et al. beschreiben ein ähnliches Verteilungsmuster nach Analyse der Dendritenlänge, wobei jedoch die paarweisen Vergleiche keinen Hinweis auf signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen offenlegen konnten (Nietzer et al., 2011, Abb. 5a).

Die mit den in der aktuellen Arbeit erhobenen morphologischen Daten durchgeführte statistische Analyse mithilfe des Wald-Chi-Quadrat-Tests ergab den Trend einer Interaktion von Erfahrung und Genotyp bei der Analyse der gesamten Dendriten ($p = 0,092$), einen hochsignifikanten Interaktionseffekt von Genotyp und Erfahrung bei der alleinigen Analyse der Apikaldendriten ($p = 0,007$) und überhaupt keinen Hinweis auf Unterschiede bei der Analyse der Länge der Basaldendriten.

Die aufgrund der signifikanten Interaktion erlaubte Post-hoc-Analyse der Apikaldendritenwerte ergab im Gegensatz zu den Ergebnissen von Nietzer et al. (ohne Hinweise auf signifikante Unterschiede), einen deutlich signifikanten Längenunterschied zwischen WT-Verlierern mit höherer Dendritenlänge im Vergleich zu den WT-Kontrollen ($p = 0,000$).

Verzweigungsdichte

Die in Abb. 8d und 8f gezeigten Graphen lassen eine leicht höhere Verzweigungsdichte bei den WT-Verlierern im Vergleich zu den WT-Kontrollen vermuten. Zwischen den KO-Verlierern und KO-Kontrollen scheint es hingegen keinen Unterschied zu geben.

Nietzer et al. zeigten tatsächlich einen signifikanten Gruppenunterschied zwischen WT-Verlierern und WT-Kontrollen in der Analyse der Verzweigungsdichte aller Dendriten, wobei die Verlierer-Gruppe sich als stärker verzweigt darstellte (Nietzer et al., 2011, Abb. 5b).

Die statistische Analyse der aktuellen Arbeit weist in den morphologischen Erhebungen unter Einbezug aller Apikal- und Basaldendriten lediglich auf den Trend eines Erfahrungseffekts unabhängig vom Genotyp hin ($p = 0,057$). Darüber hinaus ließ sich

eine signifikante Interaktion zwischen Genotyp und Erfahrung feststellen ($p = 0,033$). Jedoch ergab die Post-hoc-Analyse keine signifikanten Unterschiede zwischen zwei Gruppen.

Die statistische Auswertung der Verzweigungsdichte der einzeln ausgewerteten Apikal- und Basaldendriten konnte keine signifikanten Unterschiede offenlegen (siehe Abb. 8).

Anzahl der Spines

Für die Gesamtheit der Dendriten, aber auch für die Betrachtung der Apikal- und Basaldendriten getrennt, lässt die graphische Darstellung (Abb. 8g-i) des morphologischen Parameters „Anzahl der Spines“ vermuten, dass in der Gruppe der WT-Verlierer eine höhere Anzahl an Spines im Vergleich zu ihrer Kontrollgruppe (WT-Verlierer > WT-Kontrolle) vorliegt. In der Gruppe der KO-Mäuse erscheint es hingegen so, dass die Verlierer gegenüber ihrer Kontrollgruppe sogar insgesamt weniger Spines besitzen (KO-Verlierer > KO-Kontrolle). Ein ähnliches Muster zeigt sich auch in der Publikation von Nietzer und Mitarbeitern (Nietzer et al., 2011, Abb. 4c), wobei sie keine statistisch signifikanten Unterschiede nachweisen konnten.

In dieser Arbeit hier konnte jedoch mithilfe des Wald-Qui-Quadrat-Tests in der Gruppe der Apikaldendriten eine hochsignifikante Interaktion von Erfahrung und Genotyp ($p = 0,000$) und in der Gruppe der Basaldendriten eine signifikante Interaktion ($p = 0,041$) zwischen Erfahrung und Genotyp herausgearbeitet werden. Post-hoc-Analysen mit den Spinezahlen der Basaldendriten ergaben jedoch keine signifikanten paarweisen Gruppenunterschiede (Abb. 8i). Die Post-hoc-Analyse der Apikaldendritenwerte ergab den Trend von Unterschieden zwischen WT-Kontrollen und WT-Verlierern ($p = 0,086$) sowie zwischen WT-Kontrollen und KO-Kontrollen ($p = 0,051$). Signifikante Unterschiede konnten zwischen WT-Verlierern und KO-Verlierern ($p = 0,029$) und zwischen KO-Kontrollen und KO-Verlierern ($p = 0,014$) belegt werden, wobei die KO-Verlierer jeweils eine geringere Anzahl an Spines im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen (KO-Kontrollen und WT-Verlierern) zeigten (Abb. 8h).

Spinedichte

Wie in Abbildung 8j-l zu sehen ist, lassen sich bei der Analyse der Spinedichte des gesamten dendritischen Materials (Abb. 8j) sowie bei der separaten Analyse von Apikal- und Basaldendriten (Abb. 8k&l) ein ähnliches Verteilungsmuster in den einzelnen

Gruppen vermuten (KO-Kontrolle > WT-Verlierer > KO-Verlierer \approx WT-Kontrolle). Dabei scheinen die WT-Verlierer eine höhere Spinedichte zu besitzen als die WT-Kontrollen. Im Gegensatz dazu scheint bei den Mäusen mit einem *5-Htt*-KO-Genotyp die Gruppe der Kontrollen eine höhere Spinedichte im Vergleich zu den Verlierern zu besitzen. Das Verteilungsmuster der Spinedichte ähnelt dem Verteilungsmuster der gemessenen Anzahl an Spines.

Die statistische Analyse von Nietzer et al. ergab eine signifikant geringere Spinedichte der WT-Kontrollen im Vergleich zu den WT-Verlierern, KO-Kontrollen und KO-Verlierern (Nietzer et al., 2011, Abb. 4d). Dieser Effekt konnte in der aktuellen Arbeit nicht repliziert werden.

In dieser Arbeit zeigte die statistische Analyse des gesamten dendritischen Materials und der Basaldendriten mithilfe des Wald-Chi-Quadrat-Tests eine signifikante Interaktion zwischen Erfahrung und Genotyp (gesamte Dendriten $p = 0,041$, Basaldendriten $p = 0,034$). Die statistische Analyse der Spinedichte von den Apikaldendriten ergab nur den Trend einer Interaktion ($p = 0,067$). Durch Post-hoc-Analysen konnten allerdings in keinem Fall signifikante paarweise Gruppenunterschiede nachgewiesen werden.

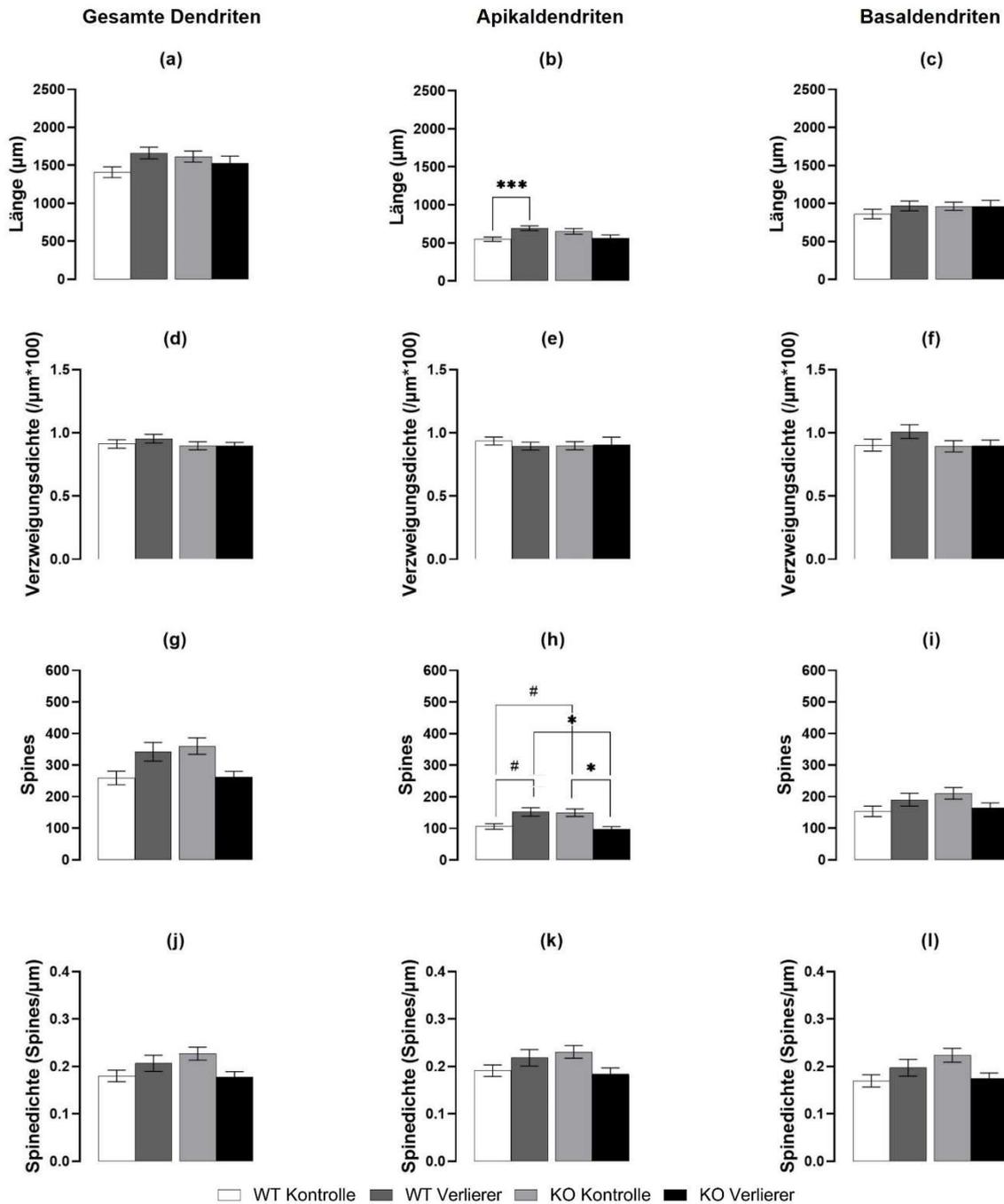


Abbildung 8: Analyse verschiedener morphologischer Parameter von Dendriten der pyramidenzellähnlichen Neurone der lateralen Amygdala im Gehirn von 5-HTT-WT und -KO-Mäusen mit und ohne Verlierererfahrung

Nach Rekonstruktion der Dendriten von pyramidenzellähnlichen Neuronen der lateralen Amygdala mithilfe des NeuroLucida-Systems von MicroBrightField wurden verschiedene Parameter analysiert, anhand einer verallgemeinerten Schätzungsgleichung statistisch ausgewertet, und graphisch dargestellt: Dendritenlänge (a-c), Verzweigungsdichte (d-f), Anzahl der Spines (g-i), und Spinedichte (j-l). Es wurden die gesamten Dendriten (Apikal- + Basaldendriten; a,d,g,j), Apikaldendriten (b,e,h,k) und Basaldendriten (c,f, i, l) getrennt ausgewertet und dargestellt. Signifikanzniveau nach Bonferroni-Korrektur $p = 0,05$. Markierung signifikanter Unterschiede: # entspricht Trend mit $p \leq 0,1$, * entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,05$, *** entspricht Signifikanz mit $p = 0,000$. Die erzielten Daten sind als Mittelwerte \pm Standardfehler dargestellt.

3.2.2 Branch Order-Analyse

Wie in der Statistiktabelle S4 nachzulesen ist, konnte bei allen analysierten Dendritengruppen ein hochsignifikanter Effekt der Verzweigungsordnung bewiesen werden ($p = 0,000$). Die Werte der Spinedichte unterschieden sich also signifikant in den einzelnen Gruppen zwischen den verschiedenen Verzweigungsordnungen.

Die morphologische Analyse von Nietzer et al. (2011) lieferte, bis auf den Parameter „Spinedichte“, keine signifikanten Ergebnisse in der Branch Order-Analyse und wurde nicht weiter in deren Arbeit beschrieben. Daher findet sich im Folgenden nur eine Gegenüberstellung der aktuellen Ergebnisse mit denen von Nietzer et al. bezüglich des Parameters „Spinedichte“.

Bei Betrachtung von Abb. 9a-c mit den Ergebnissen der Branch Order-Analysen des Parameters „Spinedichte“ lässt sich für die gesamten Dendriten und für die separate Betrachtung der Apikal- und Basaldendriten der folgende Zusammenhang vermuten: 3. Verzweigungsordnung \approx 4. Verzweigungsordnung $>$ 2. Verzweigungsordnung $>$ 1. Verzweigungsordnung.

Vergleichbar zeigt sich auch die Verteilung der Spinedichte zwischen den Verzweigungsordnungen bei Nietzer et al. (2011).

Neben dem hochsignifikanten Effekt der Verzweigungsordnung ergab die statistische Analyse der hier vorliegenden Arbeit mithilfe des Wald-Chi-Quadrat-Tests für das gesamte Dendritenmaterial eine signifikante Interaktion zwischen Erfahrung, Genotyp und Verzweigungsordnung ($p = 0,023$), was aber kein statistisch relevantes Ergebnis in der Post-hoc-Analyse zur Folge hatte. In der Gruppe der Apikaldendriten ergab sich der Trend eines Interaktionseffekts von Erfahrung und Genotyp ($p = 0,051$) und von Erfahrung, Genotyp und Verzweigungsordnung ($p = 0,086$). Für die Basaldendriten konnte nur der Trend einer Interaktion zwischen Erfahrung, Genotyp und Verzweigungsordnung ($p = 0,056$) gezeigt werden.

Im Gegensatz dazu sind in der Arbeit von Nietzer et al. für alle untersuchten Dendritenbereiche (gesamtes Dendritenmaterial, Apikaldendriten, Basaldendriten) zumindest auf Trendebene, aber i.d.R. auf Signifikanzebene, geringere Spinedichten der WT-Kontrollen im Vergleich zu allen anderen Gruppen (WT-Verlierer, KO-Kontrollen, und KO-Verlierer) nachgewiesen worden (Nietzer et al., 2011, Abb. 5). Die Ergebnisse

von Nietzer et al. deuteten somit auf einen durch Stresserfahrung und Genotyp hervorgerufenen Einfluss auf die Spinedichte hin, der hier nicht repliziert werden konnte.

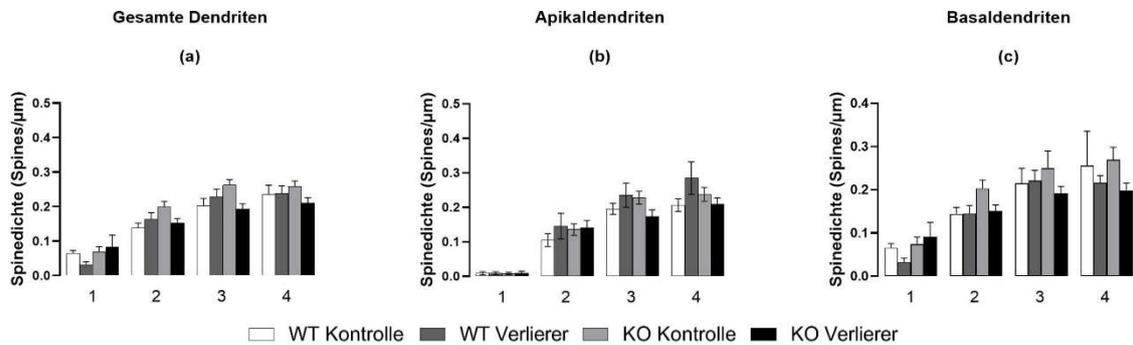


Abbildung 9: Branch Order-Analyse des morphologischen Parameters Spinedichte der Dendriten der pyramidenzellähnlichen Neurone der lateralen Amygdala im Gehirn von 5-HTT-WT und -KO-Mäusen mit und ohne Verlierererfahrung

Nach Rekonstruktion der Dendriten von pyramidenzellähnlichen Neuronen der lateralen Amygdala mithilfe des Neurolucida-Systems von MicroBrightField wurde die Spinedichte (a-c) separat für die Verzweigungsordnungen 1-4 der Branch Order-Analyse analysiert, anhand einer verallgemeinerten Schätzungsgleichung statistisch ausgewertet, und graphisch dargestellt. Es wurden die gesamten Dendriten (Apikal- + Basaldendriten) a), Apikaldendriten (b) und Basaldendriten (c) getrennt ausgewertet und dargestellt. Signifikanzniveau nach Bonferroni-Korrektur $p = 0,05$. Die erzielten Daten sind als Mittelwerte \pm Standardfehler dargestellt.

3.3 Auswirkung des 5-Htt-Genotyps und sozialer Stresserfahrung auf die Morphologie der Pyramidenzellen der CA3-Region: Vergleich der in Mäusen aller drei Genotypen erhobenen Daten

Es wurden für die CA3-Region die Schnittpräparate der Kontroll- und Verlierergruppen aller drei Genotypen (WT/HET/KO) untersucht, indem die Apikaldendriten der dort lokalisierten Pyramidenzellen rekonstruiert wurden. Die gewonnenen Daten wurden dann anhand der verallgemeinerten Schätzungsgleichung statistisch ausgewertet. Aufgrund der morphologischen Eigenschaften der Pyramidenzellen erfolgte, neben der Analyse des Dendritenmaterials in seiner Gesamtheit, eine zusätzliche Analyse des Dendritenmaterials durch eine Sholl-Analyse und nicht durch die Branch Order-Analyse, wie es bei den pyramidenzellähnlichen Neuronen der LA stattgefunden hat (siehe „Material und Methoden – Morphometrie und Datenanalyse“).

3.3.1 Analyse des Dendritenmaterials in seiner Gesamtheit

Verzweigungspunkte

In der Analyse der Verzweigungspunkte lässt sich kein einheitlicher Effekt der Stresserfahrung oder des Genotyps erkennen. Wie in Abbildung 10a dargestellt, lässt sich in der Gruppe der WT-Mäuse vermuten, dass die soziale Stresserfahrung zu einer geringeren Anzahl an Verzweigungspunkten gegenüber der Kontrollgruppe führt (WT-Kontrolle > WT-Verlierer), wohingegen das Verhältnis zwischen Kontrolle und Verlierer der HET-Mäuse gerade andersherum erscheint (HET-Kontrolle < HET-Verlierer). In der KO-Gruppe zeigen sich annähernd gleiche Werte der Verlierer- und Kontrollgruppe.

In der statistischen Auswertung, deren Ergebnisse in der Statistiktabelle S5 zusammengestellt sind, konnte eine signifikante Interaktion zwischen Erfahrung und Genotyp nachgewiesen werden ($p = 0,001$). In der Post-hoc-Analyse bestätigte sich ein signifikanter Gruppenunterschied zwischen WT-Kontrollen und WT-Verlierern ($p = 0,024$) sowie zwischen WT-Kontrollen und HET-Kontrollen ($p = 0,050$), wobei die Gruppe der WT-Kontrollen jeweils die größere Anzahl an Verzweigungspunkten im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen aufweist.

Länge

Bei der Analyse des Faktors Länge (Abb. 10b) zeigen sich lediglich zwischen WT-Kontrollen und WT-Verlierern Unterschiede. Die durchschnittliche Länge der Apikaldendriten der WT-Verlierer scheint gegenüber den WT-Kontrollen deutlich niedriger zu sein (WT-Verlierer < WT-Kontrolle). Vergleichbare Unterschiede sind bei den HET- und KO-Mäusen in Abb. 10b nicht erkennbar.

Die statistische Auswertung ergab im Wald-Chi-Quadrat-Test als Haupteffekte einen signifikanten Erfahrungseffekt unabhängig vom Genotyp ($p = 0,002$) und eine signifikante Interaktion von Erfahrung und Genotyp ($p = 0,001$). Ein Genotypeneffekt unabhängig von der Erfahrung erwies sich als Trend ($p = 0,088$). Im Post-hoc-Test unterscheidet sich die Länge der Apikaldendriten der WT-Verlierer mit hoch signifikant kürzerem Dendritenmaterial im Vergleich zur Länge des Dendritenmaterials von den WT-Kontrollen ($p = 0,000$).

Verzweigungsdichte

Wie Abbildung 10c veranschaulicht, scheint die Verzweigungsdichte in der Kontrollgruppe der WT- und der HET-Mäuse gegenüber den jeweiligen Verlierergruppen leicht niedriger zu sein (WT-Kontrolle < WT-Verlierer, HET-Kontrolle < HET-Verlierer). Diese angedeuteten Unterschiede zwischen den Tieren der Kontroll- und Verlierergruppe sind bei den KO-Mäusen nicht erkennbar.

Die statistische Analyse ergab mithilfe des Wald-Chi-Quadrat-Test jedoch nur den Trend eines Erfahrungseffekts ($p = 0,085$) und den Trend einer Interaktion zwischen Erfahrung und Genotyp ($p = 0,088$).

Anzahl der Spines

Bei Betrachtung der mittleren Anzahl an Spines anhand Abbildung 10d lässt sich für die Genotypen WT und HET eine im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollen erniedrigte Anzahl an Spines von den Verlierern vermuten (WT-Verlierer < WT-Kontrolle, HET-Verlierer < HET-Kontrolle). Diese Unterschiede zwischen Kontrollen und Verlierern sind bei den KO-Mäusen nicht erkennbar. Wenn überhaupt, dann scheinen die Apikaldendriten der CA3-Pyramidenzellen der KO-Verlierer sogar etwas mehr Spines zu besitzen als die Apikaldendriten der Kontrollen.

Mithilfe der statistischen Analyse konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden.

Spinedichte

Die Spinedichte (Abb. 10e) der HET-Kontrollen scheint im Vergleich zu den HET-Verlierern (HET-Verlierer < HET-Kontrolle) deutlich erhöht zu sein, wohingegen bei den KO-Tieren die Kontrollgruppe eine leicht geringere Spinedichte zu besitzen scheint als die Verlierergruppe (KO-Verlierer > KO-Kontrolle). Nahezu gleiche Werte lassen sich in den beiden Gruppen der WT-Tiere ablesen (WT-Kontrolle \approx WT-Verlierer).

Die statistische Analyse legte einen signifikanten Haupteffekt der Erfahrung ($p = 0,015$) und einen hochsignifikanten Haupteffekt des Genotyps (0,000) offen. Die anschließend durchgeführten Post-hoc-Analysen lieferten den Trend eines Spinedichte-Unterschieds zwischen WT- und HET-Mäusen ($p = 0,063$) und zwischen HET- und KO-Mäusen ($p = 0,072$) unabhängig von der Erfahrung. Die Spinedichte der WT-Mäuse war im Vergleich

zu den KO-Mäusen hochsignifikant erhöht ($p = 0,000$). Darüber hinaus zeigte sich im Wald-Chi-Quadrat-Test eine signifikante Interaktion zwischen Erfahrung und Genotyp ($p = 0,009$). In den Post-hoc-Testungen besitzen die HET-Verlierer eine hochsignifikant höhere Spinedichte als die HET-Kontrollen ($p = 0,000$) und die Gruppe der KO-Kontrollen zeichnet sich durch eine signifikant niedrigere Spinedichte im Vergleich zu den HET- ($p = 0,002$) sowie den WT-Kontrollgruppen ($p = 0,007$) aus. Die Spinedichte der WT-Verlierer ist im Vergleich zur Spinedichte der HET-Verlierer nur geringfügig erhöht. Statistisch gesehen liegt hier nur der Trend eines Unterschieds vor ($p = 0,052$).

Enden

Die Betrachtung des dendritischen Materials der WT-Mäuse lässt eine deutlich höhere Anzahl an Dendritenenden in der Kontrollgruppe gegenüber den Verlierern vermuten (WT-Kontrolle > WT-Verlierer). Diese Art der Verteilung deutet sich in der Gruppe der KO-Mäuse nur sehr dezent an. In Gegensatz dazu scheint in der Gruppe der HET-Mäuse die Anzahl der Dendritenenden in der Gruppe der Kontrollen eher niedriger zu sein als in der Verlierergruppe (HET-Verlierer > HET-Kontrolle).

Wie in Statistiktabelle S5 dargestellt, ergab die statistische Analyse eine signifikante Interaktion zwischen Erfahrung und Genotyp ($p = 0,002$). In der anschließend durchgeführten Post-hoc-Analyse konnte ein signifikanter Gruppenunterschied zwischen WT-Kontrollen und WT-Verlierern ($p = 0,028$) bestätigt werden.

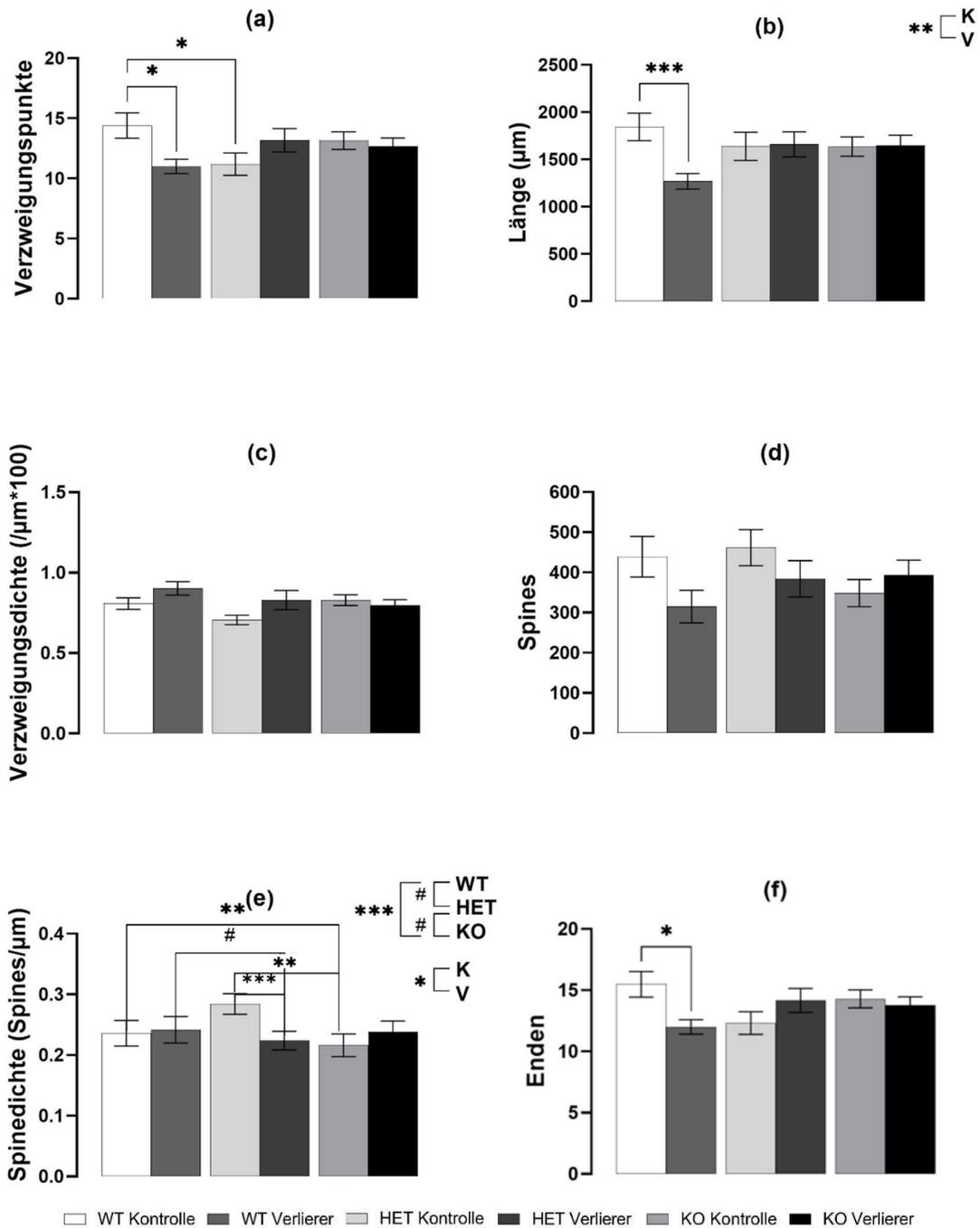


Abbildung 10: Analyse verschiedener morphologischer Parameter von Apikaldendriten der Pyramidenzellen der CA3-Region im Gehirn von 5-HTT-WT, -HET-, und -KO-Mäusen mit und ohne Verlierererfahrung

Nach Rekonstruktion der Apikaldendriten von Pyramidenzellen der CA-3-Region mithilfe des NeuroLucida-Systems von MicroBrightField wurden verschiedene Parameter analysiert, anhand einer verallgemeinerten Schätzungsgleichung statistisch ausgewertet, und graphisch dargestellt: Verzweigungspunkte (a), Länge (b), Verzweigungsdichte (c), Anzahl der Spines (d) Spinedichte (e) und Enden (f). Zusätzlich angezeigte Effekte: Genotypeneffekte (WT/HET/KO – unabhängig von Stresserfahrung) und Erfahrungseffekte (K (Kontrolle)/V (Verlierer) – unabhängig vom Genotyp). Signifikanzniveau nach Bonferroni-Korrektur $p = 0,05$. Markierung signifikanter Unterschiede: # entspricht Trend mit $p \leq 0,1$, * entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,05$, ** entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,01$, *** entspricht Signifikanz mit $p = 0,000$. Die erzielten Daten sind als Mittelwerte \pm Standardfehler dargestellt.

3.3.2 Sholl-Analyse

Im Rahmen der Sholl-Analyse wurde das Dendritenmaterial der Apikaldendriten der Pyramidenzellen der CA3-Region innerhalb kugelförmiger Schalen betrachtet. Die erste Schale wurde mit einem Radius von 30 μm ausgehend vom Mittelpunkt des Somas um die Zelle gelegt. Jede weitere Schale vergrößerte ihren Radius dann um jeweils 30 μm . Die kleinste Schale umfasst also Radius 0 bis 30 μm , die größte untersuchte Schale umfasst Radius 330 – 360 μm .

Wie die Statistiktabelle 6 belegt, ergab sich bei allen analysierten morphologischen Parametern ein hochsignifikanter Effekt des Radius ($p=0,000$). Dies bedeutet, dass bei der statistischen Analyse innerhalb aller untersuchten Parameter sich signifikant unterschiedliche Werte von Schale zu Schale zeigten.

Schnittpunkte

Wie Abbildung 11a darstellt, steigt die Anzahl der Schnittpunkte der Dendriten mit den Schalen der Sholl-Analyse bis zum Radius 150 μm an, um noch weiter distal vom Zellkörper wieder abzufallen. Für die WT-Kontrollen lassen sich über alle Radien hinweg mehr Schnittpunkte vermuten gegenüber den WT-Verlierern (WT-Kontrolle > WT-Verlierer) und auch häufig im Vergleich zu den anderen Gruppen.

Die statistische Auswertung der durch die Sholl-Analyse erhaltenen Werte ergab im Wald-Chi-Quadrat-Test eine signifikante Interaktion zwischen Erfahrung und Genotyp ($p = 0,019$). Die daraufhin durchgeführten Post-hoc-Tests ergaben einen signifikanten, die konzentrischen Schalen übergreifenden Unterschied zwischen WT-Kontrollen und WT-Verlierern, wobei die WT-Kontrollen eine größere Anzahl an Schnittpunkten im Vergleich zu WT-Verlierern aufwiesen ($p = 0,001$). Darüber hinaus gibt es signifikante Unterschiede zwischen Verlierern unterschiedlichen *5-Htt*-Genotyps: WT-Verlierer weisen Schalen-übergreifend weniger Schnittpunkte auf als HET- ($p = 0,017$) und KO-Verlierer ($p = 0,002$). Außerdem lieferte die signifikante Interaktion zwischen Erfahrung und Radius ($p = 0,003$), unabhängig vom Genotyp, signifikante Gruppenunterschiede in den Post-hoc-Analysen der Kontrollen gegenüber den Verlierern in Radius 150-180 μm ($p= 0,025$), 180-210 μm ($p= 0,041$), 210-240 μm ($p = 0,081$) und 244-270 μm ($p = 0,020$). Diese Ergebnisse sind der Statistiktabelle 6 zu entnehmen und nicht in Abbildung 11 dargestellt.

Die statistisch signifikante Interaktion zwischen Erfahrung, Genotyp und Radius ($p = 0,002$) ermöglicht paarweise Post-hoc-Tests. Wie in Abbildung 11a zu erkennen ist, konnte eine signifikant höhere Anzahl an Schnittpunkten bei den WT-Kontrollen im Vergleich zu den WT-Verlierern mit der Schale bei Radius 90 μm ($p = 0,046$), 120 μm ($p = 0,004$), 150 μm ($p = 0,035$), 180 μm ($p = 0,003$), 210 μm ($p = 0,000$), 240 μm ($p = 0,004$) und 270 μm ($p = 0,002$) nachgewiesen werden.

Außerdem ließen sich signifikante Gruppenunterschiede und Unterschiede auf Trendebene zwischen WT-Verlierer mit weniger Schnittpunkten gegenüber den KO-Verlierern mit der kugelförmigen Schale in Radius 180 μm ($p = 0,005$) und 210 μm ($p = 0,007$) und in Radius 240 μm ($p = 0,059$) und 330 μm ($p = 0,053$) berechnen. WT-Verlierer wiesen zudem signifikant weniger Schnittpunkte auf als die HET-Verlierer mit den Schalen in Radius 210 μm ($p = 0,029$) und 270 μm ($p = 0,031$) und als Trend in Radius 180 μm ($p = 0,067$) und 270 μm ($p = 0,068$). Für die Gruppe der HET-Kontrollen im Vergleich zu den HET-Verlierern weist die statistische Post-hoc-Analyse auf einen Trend von weniger Schnittpunkten bei den HET-Kontrollen im Vergleich zu den HET-Verlierern in zwei Schalen mit Radius 30 μm ($p = 0,088$) und 60 μm ($p = 0,076$) hin.

Verzweigungspunkte

Die Anzahl der Verzweigungspunkte der rekonstruierten Apikaldendriten steigt insgesamt über die verschiedenen Schalen an bis Radius 90 μm , um dann wieder mit weiter zunehmendem Radius der Schalen abzunehmen, wie in Abbildung 11b dargestellt. Die Anzahl der Verzweigungspunkte scheint in der Gruppe der WT-Kontrolle gegenüber den WT-Verlierern etwas höher zu sein (WT-Kontrolle > WT-Verlierer). In der Gruppe der HET- aber auch der KO-Mäuse sticht in der grafischen Darstellung der Ergebnisse keine Gruppe über mehrere Schalen hinweg heraus.

Wie in der Statistiktabelle 6 zusammengestellt, zeigte sich im Wald-Chi-Quadrat-Test die Interaktion von Erfahrung und Genotyp als statistisch signifikant ($p = 0,007$), unabhängig vom Radius. In der daraus resultierenden Post-hoc-Analyse unterschieden sich die WT-Kontrollen mit insgesamt mehr Verzweigungspunkten von den WT-Verlierern ($p = 0,003$) und von den HET-Kontrollen ($p = 0,014$), ohne dass dies innerhalb einer bestimmten Schale für diese Gruppen signifikant wurde. Der statistische Trend eines Unterschieds konnte allgemein zwischen den weniger verzweigten WT-Verlierern

und den stärker verzweigten KO- ($p = 0,065$) und HET-Verlierern ($p = 0,057$) gezeigt werden.

Außerdem ergab sich die signifikante Interaktion von Erfahrung und Radius, unabhängig vom Genotyp ($p = 0,046$) mit signifikantem Unterschied der Kontrollen und Verlierer in Radius 241-270 μm ($p = 0,014$) und dem Trend eines Unterschieds zwischen Kontrollen und Verlierern in Radius 0-30 μm ($p = 0,072$).

Länge

Die gesamte Länge des dendritischen Materials nimmt bis Radius 150 μm zu und fällt dann mit zunehmendem Radius der Kugelschalen wieder ab (Abb. 11c). Die WT-Kontrollen scheinen über die meisten Schalen hinweg längere Apikaldendriten zu besitzen als alle anderen untersuchten Gruppen.

In der statistischen Analyse mithilfe des Wald-Chi-Quadrat-Tests stellte sich eine signifikante Interaktion von Erfahrung und Genotyp heraus, unabhängig vom Radius ($p = 0,042$). Die daraus resultierende Post-hoc-Testung legte offen, dass die WT-Kontrollen Radius unabhängig signifikant mehr Dendritenmaterial als die WT-Verlierer ($p = 0,005$), als die HET-Verlierer ($p = 0,041$), und als die KO-Verlierer ($p = 0,014$) besitzen.

Die anhand des Wald-Chi-Quadrat-Tests detektierte Interaktion zwischen Erfahrung, Genotyp und Radius war deutlich signifikant ($p = 0,019$), was einen paarweisen Vergleich (von zwei Gruppen) in der Post-hoc-Analyse ermöglichte. Mithilfe dieser Post-hoc-Analyse konnte gezeigt werden, dass die WT-Kontrollen signifikant längeres Dendritenmaterial im Vergleich zu den WT-Verlierern in den Radiusbereichen 90-120 μm ($p = 0,015$), 120-150 μm ($p = 0,003$), 150-180 μm ($p = 0,014$), 180-210 μm ($p = 0,001$), 210-240 μm ($p = 0,000$), 240-270 μm ($p = 0,005$) besitzen. Im Radiusbereich 60-90 μm konnte der Trend eines Unterschieds festgestellt werden ($p = 0,076$), was in Abb. 11c dargestellt ist.

Die WT-Verlierer unterschieden sich außerdem von den KO-Verlierern durch eine signifikant geringere Dendritenlänge in den Radiusbereichen 120-150 μm ($p = 0,045$), 180-210 μm ($p = 0,017$), 210-240 μm ($p = 0,033$), 240-270 μm ($p = 0,031$), 300-330 μm ($p = 0,022$) und auf Trendebene in Radius 150-180 μm ($p = 0,063$) und 270-300 μm ($p = 0,073$). Weniger deutlich und nur als Trend ergaben sich Unterschiede zwischen den WT-Verlierern und den HET-Verlierern in Radius 120-150 μm ($p = 0,076$), 210-240 μm

($p = 0,065$) und 240-270 μm ($p = 0,080$). KO-Verlierer und KO-Kontrollen ließen in Radius 60-90 μm einen Gruppenunterschied vermuten ($p = 0,088$). HET-Verlierer wiesen in Radius 30-60 μm signifikant längeres Dendritenmaterial als HET-Kontrollen auf ($p = 0,025$).

Verzweigungsdichte

Wie in Abbildung 11d zu sehen ist, nimmt die Verzweigungsdichte, berechnet durch die Anzahl der Verzweigungspunkte pro 100 μm Dendritenlänge, insgesamt betrachtet bis Radius 60 μm leicht zu und danach deutlich ab, mit zunehmender Entfernung der Schalen vom Zellkörper.

Die statistische Testung lieferte einen Genotypeneffekt als Haupteffekt, unabhängig von Erfahrung und Radius ($p = 0,018$), zu sehen in Statistiktabelle 6. In der Post-hoc-Analyse konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Tieren der Gruppen WT und KO ($p = 0,006$) und der Trend eines Unterschieds zwischen HET- und KO-Gruppe ($p = 0,095$) gezeigt werden. Weitere statistisch relevanten Ergebnisse stellten sich nicht heraus.

Anzahl der Spines

Die Anzahl der Spines steigt von Schale zu Schale bis zu der Schale zwischen Radius 120-150 μm an und sinkt danach wieder ab, je größer der Radius der Schalen wird. Wie in Abbildung 11e veranschaulicht, scheint es so, dass die WT-Kontrollen in den meisten Schalenbereichen mehr Spines aufweisen als ihre Verlierergruppe (WT-Kontrolle > WT-Verlierer). Dieses Bild zeigt sich stark abgeschwächt teilweise auch in den Gruppen der HET-Tiere. Bei den KO-Tieren sind in den meisten Schalen keine Unterschiede bei der Anzahl der Spines zwischen Kontrollen und Verlierern erkennbar. Nur in den mehr proximalen Bereichen des Dendritenbaums bzw. proximalen Schalen deutet sich sogar ein gegensätzliches Verteilungsmuster mit weniger Spines in den KO-Kontrollen im Vergleich zu den KO-Verlierern an.

In der statistischen Analyse der Daten zeigte sich nach Durchführung des Wald-Chi-Quadrat-Tests ein Trend für die Interaktion Erfahrung und Genotyp, unabhängig vom Radius ($p = 0,068$) und für die Interaktion zwischen Erfahrung, Genotyp und Radius ($p = 0,076$). Es erfolgten daher keine paarweisen Vergleiche mithilfe der Post-hoc-Testung.

Spinedichte

Wie in Abbildung 11f zu sehen ist, scheint die Spinedichte insgesamt in den einzelnen Schalen bis Radius 120-150 μm anzusteigen und fällt dann ab Schale 180-210 μm bis Radius 270-300 μm ab. Es fällt auf, dass die HET-Kontrollen gegenüber den anderen Gruppen häufig eine deutliche höhere Spinedichte vermuten lassen.

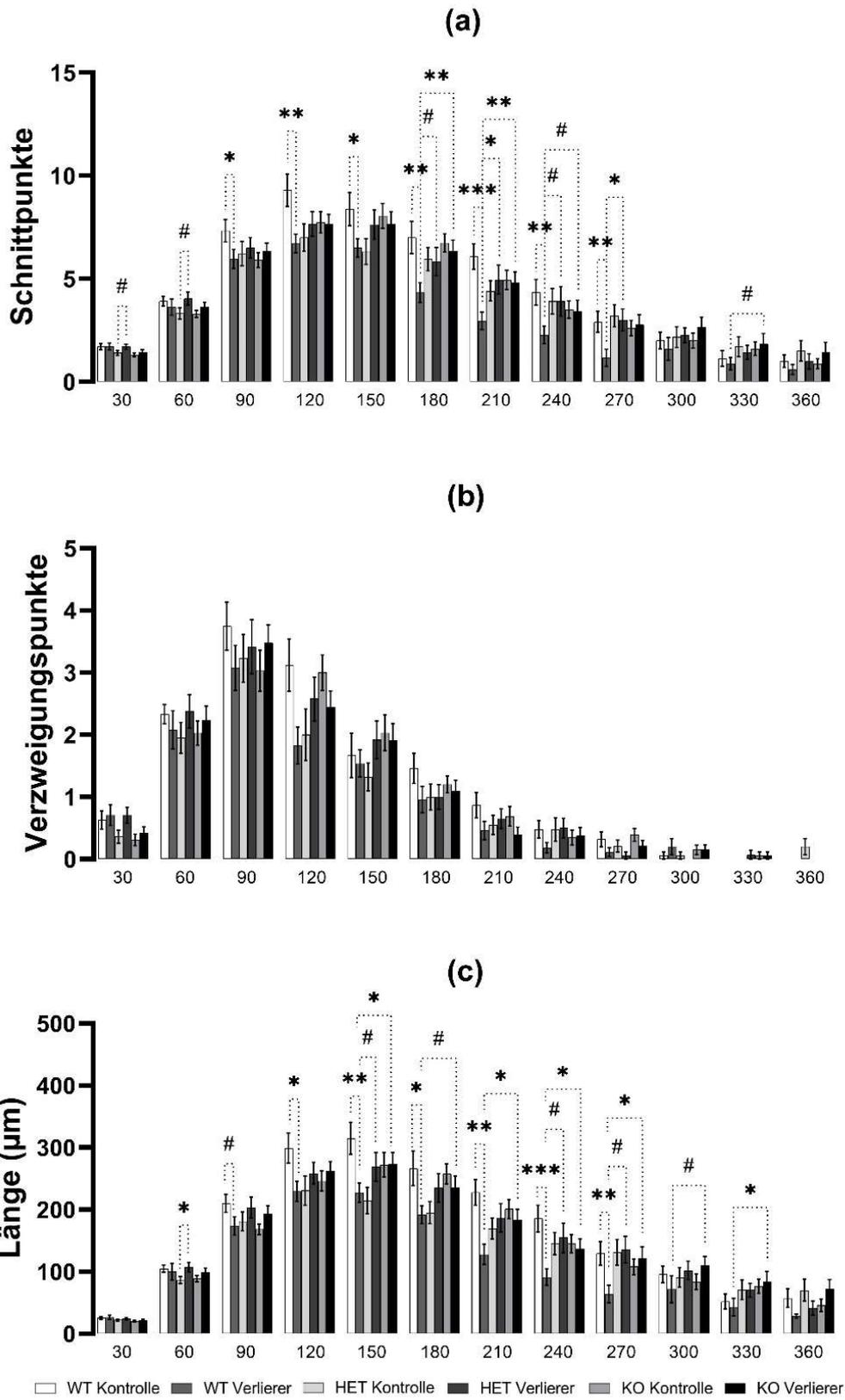
In der statistischen Auswertung, in Statistiktabelle 6 zusammengefasst, stellte sich im Wald-Chi-Quadrat-Test die Interaktion von Erfahrung und Genotyp, unabhängig vom Radius, als signifikant heraus ($p = 0,033$). Die Post-hoc-Analyse ergab signifikante Unterschiede zwischen HET-Kontrollen und HET-Verlierern ($p = 0,016$) und zwischen HET-Kontrollen und KO-Kontrollen ($p = 0,005$). Als Trend stellte sich die Interaktion von Genotyp und Radius, unabhängig von der Stresserfahrung, heraus ($p = 0,067$). Außerdem erwies sich im Wald-Chi-Quadrat-Test die Interaktion zwischen Erfahrung, Genotyp und Radius als signifikant ($p = 0,008$). Wie in Abbildung 11f dargestellt, unterschieden sich in der anschließenden Post-hoc-Analyse die HET-Kontrollen mit deutlich höherer Spinedichte von den HET-Verlierern in Radius 30-60 μm ($p = 0,042$), 60-90 μm ($p = 0,019$), 120-150 μm ($p = 0,042$), 180-210 μm ($p = 0,016$), 210-240 μm ($p = 0,037$), 240-270 μm ($p = 0,003$) und auf Trendebene in Radius 90-120 μm ($p = 0,062$) und 270-300 μm ($p = 0,054$). Für die HET-Verlierer ergab sich ein Unterschied als Trend gegenüber den WT-Verlierern in Radius 30-60 μm ($p = 0,090$), 60-90 μm ($p = 0,066$), 300-330 μm ($p = 0,070$) und 330-360 μm ($p = 0,051$) an. Außerdem unterschieden sich HET-Verlierer und KO-Verlierer in Radius 30-60 μm ($p = 0,027$) signifikant und WT-Verlierer und KO-Verlierer auf Trendebene in Radius 330-360 μm ($p = 0,076$).

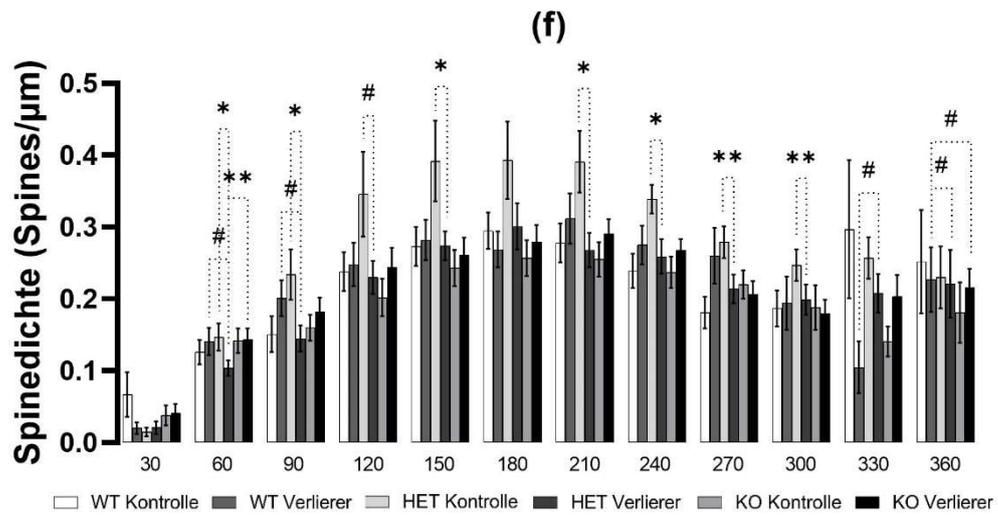
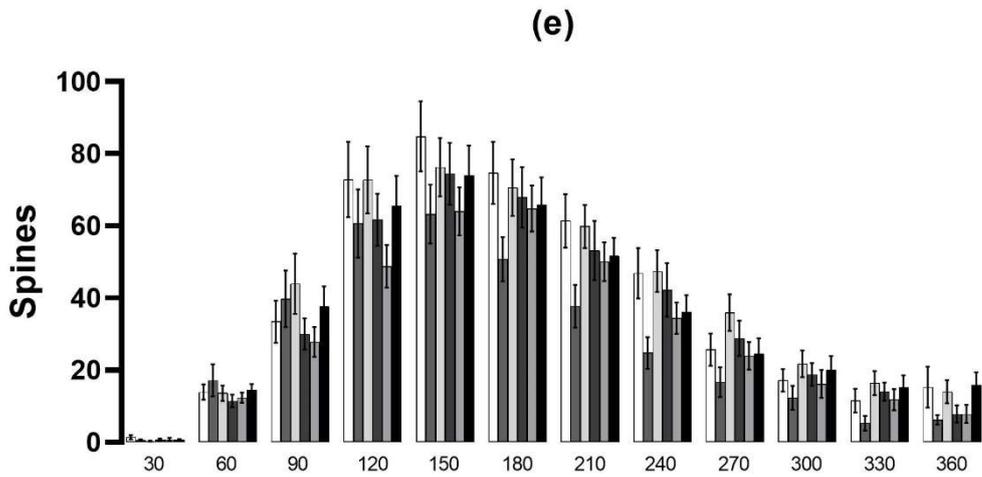
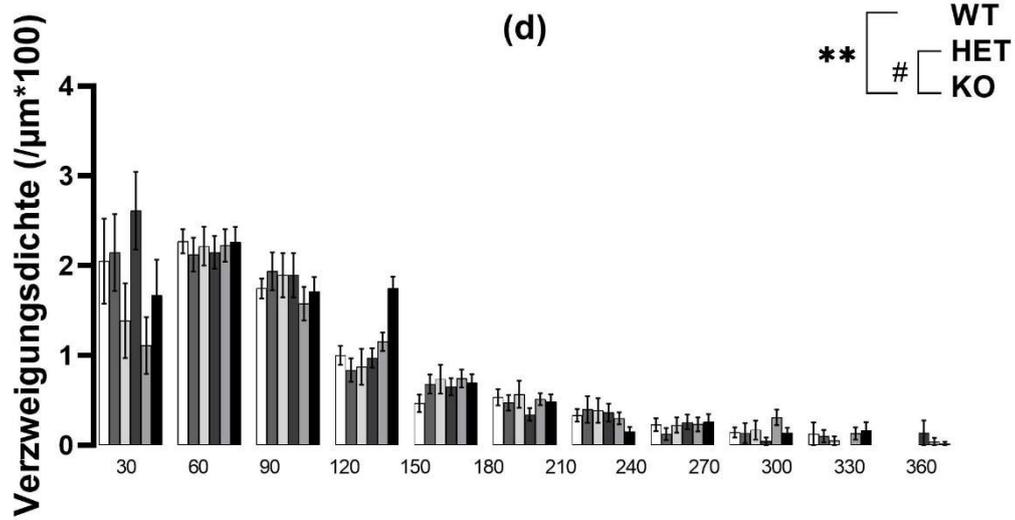
Enden

Insgesamt steigt die Anzahl der Enden in den Schalen von der ersten Schale zwischen Mittelpunkt des Somas und Radius 30 μm bis zu der Schale zwischen Radius 180-210 μm an und wird dann, je weiter sich die Schalen vom Soma entfernen, nach und nach niedriger (Abb. 11g). Es fällt auf, dass die WT-Kontrollen in mehreren Schalenbereichen mehr Endstücke im Vergleich zu den WT-Verlierern zu haben scheinen.

Die statistische Analyse, in Statistiktabelle 6 zusammengefasst, konnte eine signifikante Interaktion, unabhängig vom Radius der Schalen, zwischen Genotyp und Erfahrung offenlegen ($p = 0,015$). Dabei zeigte sich in der Post-hoc-Analyse, dass WT-Kontrollen im Vergleich zu WT-Verlierern ($p = 0,016$) und WT-Kontrollen im Vergleich zu HET-

Kontrollen ($p = 0,000$) signifikant mehr Enden zeigen, aber HET-Kontrollen im Vergleich zu KO-Kontrollen ($p = 0,025$) signifikant weniger Enden besitzen. Der Unterschied zwischen HET-Verlierern und HET-Kontrollen, unabhängig vom Radius, ist nur als Trend zu verzeichnen ($p = 0,086$). Der signifikante Effekt der Interaktion Erfahrung und Radius ($p = 0,007$), unabhängig vom Genotyp, ergab in der Post-hoc-Analyse einen signifikanten Unterschied zwischen Verlierern und Kontrolle in Radius 30-90 μm ($p = 0,003$) und 270-300 μm ($p = 0,021$) sowie einen tendenziellen Unterschied in Radius 150-180 μm ($p = 0,093$).





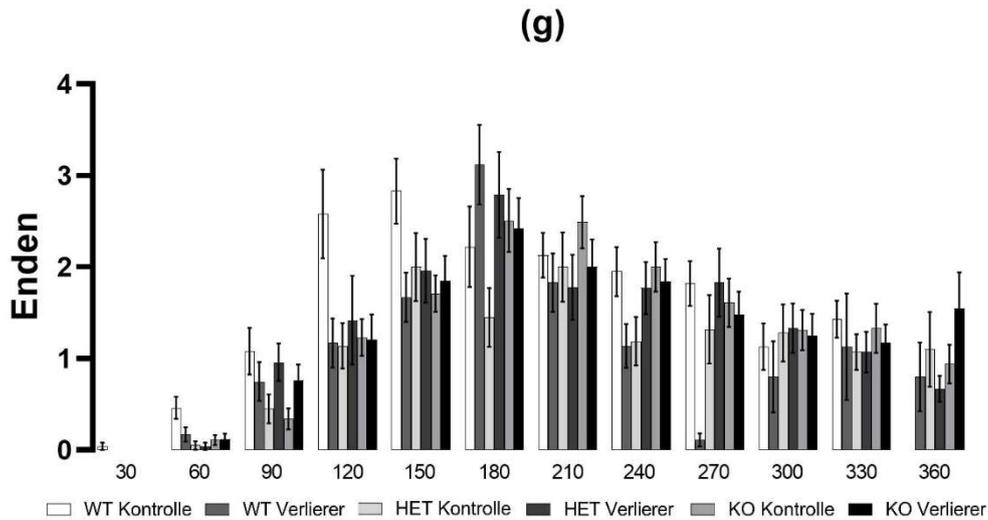


Abbildung 11: Sholl-Analyse verschiedener Parameter von Apikaldendriten der Pyramidenzellen der CA3-Region im Gehirn von 5-HTT-WT, -HET-, und -KO-Mäusen mit und ohne Verlierererfahrung
 Nach Rekonstruktion der Apikaldendriten von Pyramidenzellen der CA3-Region mithilfe des NeuroLucida-Systems von MicroBrightField wurden verschiedene Parameter separat für die einzelnen Schalen in Abständen von 30 μm (X-Achse) analysiert, anhand einer verallgemeinerten Schätzungsgleichung statistisch ausgewertet, und graphisch dargestellt: Schnittpunkte (a), Verzweigungspunkte (b), Länge (c), Verzweigungsdichte (d), Anzahl der Spines (e), Spinedichte (f) und Enden (g). Signifikanzniveau nach Bonferroni-Korrektur $p = 0,05$. Markierung signifikanter Unterschiede: # entspricht Trend mit $p \leq 0,1$, * entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,05$, ** entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,01$, *** entspricht Signifikanz mit $p = 0,000$. Die erzielten Daten sind als Mittelwerte \pm Standardfehler dargestellt.

4 Diskussion

In dieser Arbeit wurden die Apikal- und Basaldendriten von pyramidenzellähnlichen Neuronen der LA in Golgi-imprägnierten Gehirnschnitten von Mäusen der 5-HTT-KO-Line mit und ohne Sozialstresserfahrung rekonstruiert und verschiedene morphologische Parameter analysiert. Um die hier mit allen drei *5-Htt*-Genotypen erzielten Ergebnisse besser mit den von Sarah Nietzer und Maria Bonn unter ausschließlicher Verwendung von 5-HTT-WT- und KO-Mäusen bereits publizierten Ergebnissen vergleichen zu können (Nietzer et al., 2011), wurden die von mir mit Mäusen aller drei *5-Htt*-Genotypen erhobenen morphologischen Daten bei der statistischen Analyse zusätzlich zu einem 3er-Vergleich (5-HTT-WT,-HET, -KO; mit und ohne Sozialstresserfahrung) auch einem 2er-Vergleich (5-HTT-WT versus -KO; mit und ohne Sozialstresserfahrung) unterzogen. Es konnte sowohl ein Einfluss des *5-Htt*-Genotyps als auch der sozialen Stresserfahrung auf die Dendriten der pyramidenzellähnlichen Neurone gezeigt werden. Die soziale Stresserfahrung führte besonders deutlich unter den WT-Tieren zu einer Zunahme der Komplexität der

Dendritenbäume durch längere und stärker verzweigte Dendriten. Vor allem bei dem 3er-Vergleich weist die statistische Analyse auf einen deutlichen Einfluss des *5-Htt*-Genotyps hin. HET-Mäuse besitzen längere Dendriten als die WT- sowie eine höhere Spinedichte als die WT- und KO-Mäuse. Die Hypothese, die in der vorausgegangenen Arbeit von Nietzer et al. dargestellt wurde, dass ein 5-HTT-Defizit in den KO-Mäusen grundsätzlich zu einer vermehrten Ausbildung von Spines in Form einer erhöhten Spinedichte führt, ließ sich hier im direkten Vergleich, also im 2er Vergleich, nicht bestätigen (Nietzer et al., 2011). Für die Branch Order-Analyse lässt sich grundsätzlich beschreiben, dass sich die erzielten Werte der einzelnen Parameter deutlich von Verzweigungsordnung zu Verzweigungsordnung unterscheiden, unabhängig von Stresserfahrung und *5-Htt*-Genotyp.

Zusätzlich wurde in der hier vorliegenden Arbeit die CA3-Region des Hippocampus der Gehirnschnitte aller drei Genotypen der 5-HTT-KO-Mauslinie (WT/HET/KO) untersucht, mit dem Ziel, mögliche Effekte des *5-Htt*-Genotyps sowie der sozialen Stresserfahrung zu überprüfen. Es wurden die Apikaldendriten der Pyramidenzellen der CA3-Region rekonstruiert und verschiedene morphologische Parameter analysiert. Sowohl der Einfluss des *5-Htt*-Genotyps als auch des Erlebens von sozialem Stress konnte dabei belegt werden. Jedoch führte bei den Neuronen der CA3-Region die soziale Stresserfahrung - im Gegensatz zu den Veränderungen in der LA - zu einer Abnahme der Dendritenlänge sowie zu einer geringeren Verzweigung der Dendriten, was sich auch in einer reduzierten Anzahl von Dendritenenden widerspiegelte. Wie auch bei der Analyse der LA-Neurone sind diese Unterschiede zwischen den WT-Gruppen am stärksten ausgeprägt. Die Analyse der Spinedichte ergab etwas komplexere Veränderungen, wobei sich andeutet, dass die HET-Tiere die höchste Spinedichte besitzen und eine signifikante Reduktion der Spinedichte nur bei den HET-Verlierern im Vergleich zu den HET-Kontrollen gezeigt werden konnte. In der zusätzlich durchgeführten Sholl-Analyse stellte sich deutlich dar, dass die einzelnen erhobenen, morphologischen Parameter sich von Schale zu Schale signifikant unterscheiden, auch unabhängig von Erfahrung und Genotyp. Grundsätzlich konnte häufig nachgewiesen werden, dass Unterschiede der Sholl-Analyse zwischen Mäusen unterschiedlichen Genotyps und unterschiedlicher sozialer Stresserfahrung dem Verteilungsmuster der Analyse des gesamten Dendritenmaterials ähneln.

4.1 Effekt von sozialer Stresserfahrung und *5-Htt*-Genotyp auf Neurone der LA

Der Einfluss von Stresserfahrungen scheint sich vor allem durch eine Verlängerung der Dendriten und einer stärkeren Verzweigung der Dendritenbäume der LA-Neurone abzuzeichnen. Das gesamte dendritische Material und das der Apikaldendriten der WT in der LA unterschied sich hoch signifikant bezüglich des Parameters Länge, abhängig davon, ob die Mäuse der sozialen Stresserfahrung ausgesetzt wurden oder nicht. Dieses Ergebnis stellte sich auch heraus in der ersten Verzweigungsordnung der Branch Order-Analyse der gesamten Dendriten. Es konnte für die WT statistisch signifikant gezeigt werden, dass sozialer Stress zu einer Hypertrophie der Dendriten führt. Zumindest in der deskriptiven Statistik lässt sich dieser Effekt für die WT und HET vermuten, nicht jedoch in der Gruppe der KO. Einen Einfluss von Stress auf die Dendritenlänge ergab sich auch in der Studie von Mitra et al., 2008, in der eine signifikante Zunahme der Dendritenlänge der Neurone der basolateralen Amygdala von Ratten nachgewiesen werden konnte, die eine Gabe von Glukokortikoiden zur Simulation der Glukokortikoid-Ausschüttung bei akutem Stress erhalten hatten (Mitra and Sapolsky, 2008). In einer Studie am Rattenmodell von Vyas et al. löste chronischer Stress durch Immobilisation ebenfalls einen Anstieg der dendritischen Länge der pyramidenzellähnlichen Neurone der basolateralen Amygdala aus und konnte in Zusammenhang mit erhöhtem ängstlichem Verhalten gestellt werden (Vyas et al., 2002). Dieser Effekt stellte sich als nachhaltig heraus und blieb auch nach einer Erholungsphase von 21 Tagen bestehen (Vyas et al., 2004).

Die Anzahl der Verzweigungspunkte der Basaldendriten der WT-Verlierer waren signifikant erhöht gegenüber der WT-Kontrollgruppe, was für eine stärkere Verzweigung und erhöhte Komplexität der Dendritenbäume aufgrund der Stresserfahrung spricht. Diese Feststellung deckt sich mit den Ergebnissen für die gesamten Dendriten der basolateralen Amygdala im Rattenmodell von Vyas et al. (Vyas et al., 2002).

Auch zeichnet sich ein Effekt des *5-Htt*-Genotyps auf die Dendritenbäume der LA ab. Anzumerken ist dabei, dass in der hier vorliegenden Arbeit erstmals die HET-Gruppe der Versuchstiere untersucht wurde und sich wiederholt ein statistisch relevanter Effekt dieser Gruppe herausstellte.

Die HET-Mäuse besaßen signifikant längeres Dendritenmaterial als die WT und die KO-Mäuse in der Gruppe aller Dendriten sowie in der Gruppe der Basaldendriten separat, unabhängig von der Stresserfahrung in der Auswertung des gesamten Dendritenmaterials und in der Branch Order-Analyse. In der Analyse des gesamten Dendritenmaterials ergab sich zumindest als Trend eine höhere Dendritenlänge der HET-Kontrollen gegenüber den WT-Kontrollen. Dieser Effekt wiederholte sich in der zweiten Ordnung der Branch Order-Analyse unter den Verlierermäusen. Diese Ergebnisse weisen auf einen Effekt des *5-Htt*-Genotyps auf die Dendritenlänge der Mäuse hin, die sozialem Stress ausgesetzt wurden. Die HET weisen im Gegensatz zu den WT ein relatives Defizit des 5-HTT auf, was potenziell zu längerem Dendritenmaterial geführt hat. Daraus lässt sich jedoch nicht ableiten, dass ein stärkeres 5-HTT-Defizit, wie es bei den KO-Mäusen vorlag, ebenfalls zu einer signifikanten Erhöhung der Dendritenlänge gegenüber den WT oder den HET führt. In vorausgegangenen Arbeiten konnte kein Effekt des *5-Htt*-Genotyps auf die Dendritenlänge gezeigt werden (Nietzer et al., 2011, Wellman et al., 2007).

Die Parameter Spines und Spinedichte stellten sich in vergangenen Arbeiten zum Teil als besonders aussagekräftig heraus bezüglich des Einflusses von Stress und des *5-Htt*-Genotyps auf die Morphologie der Neurone der Amygdala. In verschiedenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass ein 5-HTT-Defizit zu einer erhöhten Spinedichte führt (Nietzer et al., 2011, Wellman et al., 2007). Außerdem bewirkte beispielsweise in der Arbeit von Nietzer et al. eine stärkere Stresserfahrung bei WT-Tieren eine erhöhte Spinedichte gegenüber den Kontrollen im Mausmodell der lateralen Amygdala (Nietzer et al., 2011) oder auch im Rattenmodell der basolateralen Amygdala, ohne genetische Unterschiede bezüglich des *5-Htt* (Mitra et al., 2005, Vyas et al., 2006). Die Anzahl der Spines und die Spinedichte betreffend konnten solche Ergebnisse in der hier vorliegenden Arbeit nicht repliziert werden. Es stellte sich ein Einfluss des Genotyps insofern heraus, als die Gruppe der HET sich von den beiden anderen Genotyp-Gruppen, unabhängig von der Stresserfahrung, durch eine tendenziell bis hochsignifikant höhere Spinedichte abhoben, sowohl in der Analyse des Dendritenmaterials in seiner Gesamtheit als auch in der Branch Order-Analyse. Dieser Effekt stellte sich ebenso für den Parameter Spines in der Branch Order-Analyse heraus. Eine signifikant höhere Spinedichte sowohl in der Analyse des Dendritenmaterials aller Dendriten in ihrer Gesamtheit als auch in der dritten Verzweigungsordnungen der Branch

Order-Analyse der gesamten Dendriten konnte für die HET-Verlierer gegenüber den Verlierern der beiden anderen Genotypen gezeigt werden. Der heterozygote *5-Htt*-Genotyp führt also vermutlich zu einer Erhöhung der Spines und Spinedichte gegenüber den WT und KO. Die HET-Gruppe weist gegenüber den WT ein Defizit an 5-HTT auf und es kann eine höhere Anfälligkeit für negatives Stresserleben vermutet werden, was eine Erhöhung der Spinedichte erklären kann. Es lässt sich jedoch nicht schlussfolgern, dass ein absolutes 5-HTT-Defizit der KO zu nochmals höherer Spinedichte führt.

Ziel dieser Arbeit war es zu analysieren, inwieweit sich die HET-Tiere von den beiden anderen Genotypen unterscheiden. Von Interesse ist die Betrachtung der HET-Tiere auch deshalb, da die HET-Tiere bezüglich des Vorkommens des 5-HTT vergleichbar sind mit menschlichen Trägern des *5-HTT*-Längenpolymorphismus (Murphy et al., 2008). In der vorausgegangenen Arbeit von Nietzer et al. wurden nur die Schnitte der WT- und KO-Mäuse der LA untersucht (Nietzer et al., 2011). Es wurde bisher in einigen Studien angenommen, dass sich die stärksten Effekte bezüglich des *5-Htt*-Genotyps in der Knockout-Mauslinie zwischen den WT- und KO-Tieren zeigt. Es konnte auch wiederholt beschrieben werden, dass sich die HET-Tiere im Vergleich aller drei Genotypen in der Mitte der Ausprägung von Unterschieden zwischen den drei Genotypen befanden, z.B. bezogen auf ängstliche Verhaltensweisen (Jansen et al., 2010).

Eine Hypothese ist jedoch, dass die HET-Tiere über Kompensations-Mechanismen verfügen, einen relativen Mangel an 5-HTT auszugleichen und sich dies in morphologischen Anpassungen abbildet. Eben diese Fähigkeit wird den KO-Mäusen in diesem Ausmaß nicht zugeschrieben.

Verhaltensexperimente in vergangenen Studien haben beispielsweise gezeigt, dass HET-Tiere, die nur ein wildtypisches Allel für den 5-HTT besitzen, erst unter besonders herausfordernden Testbedingungen weniger aggressives Verhalten zeigen gegenüber den WT-Tieren (Holmes et al., 2002) und auch bezüglich ihres Furchtverhaltens sich ähnlich verhalten können wie die WT-Tiere der Kontrollgruppe, wohingegen die KO-Mäuse jeweils das im Versuch erwartete abweichende Verhalten zeigten (Holmes et al., 2003).

Waider et al. haben in ihrer Studie gezeigt, dass Mäuse, die heterozygot für einen Tryptophan-Hydroxylase-2-Knockout sind und somit ein relatives Serotonindefizit

aufweisen, sich gegenüber ihrer WT- und KO-Vergleichsgruppe mit deutlichen Anpassungsprozessen auf neurobiologischer Ebene von beiden Gruppen absetzen. Waider et al. stellten die Annahme auf, dass sich durch eine gesteigerte 5-HT_{1A}-Rezeptoraktivität das GABAerge Netzwerk des Gehirns der für die Tryptophan-Hydroxylase-2 heterozygoten Versuchstiere im Präfrontalkortex und in der Amygdala messbar an den Serotoninmangel anpasste. Im Präfrontalkortex kam es zu einer signifikant niedrigeren und in der Amygdala zu einer signifikant höheren GABA-Konzentration. Funktionell betrachtet wies dies auf eine verminderte hemmende Wirkung des Präfrontalkortex der für die Tryptophan-Hydroxylase-2 heterozygoten Tiere und auf eine Verstärkung der hemmenden Wirkung in der Amygdala hin. Diese vermutete Fähigkeit des Anpassungsprozesses der Heterozygoten wurde für die Knockout-Tiere, ohne neuronale Serotoninproduktion, nicht beobachtet (Waider et al., 2013).

Montañez et al. konnten im 5-HTT-Knockout-Mausmodell bei Untersuchungen der CA3-Region des Hippocampus zeigen, dass die Verabreichung eines SSRIs (Fluvoxamin) die Clearance (= Entfernung/Beseitigung) von 5-HT aus dem extrazellulären Raum von HET-Mäusen deutlich verlängert gegenüber den beiden anderen Genotypen (WT/KO). Ohne Einfluss des SSRIs zeigten sich keine Unterschiede zwischen WT- und HET-Gruppe. Es wird auch hier vermutet, dass das Ergebnis für Kompensations-Mechanismen der HET-Gruppe spricht, die bisher nicht vollständig erklärt werden können (Montañez et al., 2003).

4.2 Gegenüberstellung der Daten des Zweier-Vergleichs (WT- & KO-Gruppe) mit den Ergebnissen der Arbeit von Nietzer et al. (Nietzer et al., 2011)

Ziel dieser Arbeit war, zusätzlich zu den bereits vorliegenden Ergebnissen der Arbeit von Nietzer et al. aus dem Jahr 2011, die Gruppe der HET, neben den Gruppen der WT- und KO-Tiere, zu analysieren und dies nicht nur für die Hirnregion der LA, sondern auch für die CA3-Region des Hippocampus. Voraussetzung war, dass die Daten je Arbeit von derselben Untersucherin generiert werden. Nur so konnte ein möglicher Einfluss durch die jeweilige Untersucherin je Arbeit als Störfaktor ausgeschlossen werden und die Vergleichbarkeit der drei Genotypgruppen untereinander ermöglichen. Es liegen also für

die Genotypgruppen WT und KO sowohl Auswertungen der Arbeit von Nietzer et al. vor als auch der aktuellen Arbeit.

An dieser Stelle ist darauf hinzuweisen, dass die Daten in den hier verglichenen Arbeiten auf unterschiedliche Weise statistisch ausgewertet wurden. Nietzer et al. verwendeten einen nicht-parametrischen Test (Kruskal-Wallis-Test) und verglichen die Gruppen paarweise anhand von Mittelwerten der Daten der einzelnen Mäuse. Es galt in der Arbeit von Nietzer et al. auch lediglich zwei Genotypgruppen zu vergleichen. In der aktuellen Arbeit wurden anhand einer verallgemeinerten Schätzungsgleichung alle Einzelwerte in die Erstellung linearer Modelle einbezogen und die verschiedenen Gruppen auf signifikante Unterschiede hin überprüft. Um spezifischere Vergleiche anzustellen wäre für zukünftige Untersuchungen denkbar, wenn bereits im Vorhinein ein bestimmter Zusammenhang bzw. Effekt erwartet wird, die Fragestellung zu konkretisieren. Beispielsweise könnte es in der Form erfolgen, dass ein bestimmter Unterschied eines morphologischen Parameters zwischen zwei bestimmten Genotyp- oder Stresserfahrungs-Gruppen untersucht wird. Diese könnten auf Grundlage der bereits erarbeiteten Ergebnisse erfolgen.

Es ist bei der statistischen Auswertung der hier vorliegenden Arbeit zu berücksichtigen, dass bei dem Modell der verallgemeinerten Schätzungsgleichung, mit der die statistische Auswertung durchgeführt wurde, alle verfügbaren Daten in die Erstellung des Modells einbezogen werden. Wenn beispielsweise getestet wird, ob sich zwei Genotypen signifikant voneinander unterscheiden, beeinflusst hier der dritte Genotyp das Modell, das der Schätzung zu Grunde liegt. Für die bessere Vergleichbarkeit der Daten mit der Arbeit von Nietzer et al. aus dem Jahr 2011, wurde daher eine zusätzliche Auswertung durchgeführt, in die ausschließlich die Daten der Genotypen WT und KO einbezogen wurden, sodass die erhobenen Daten für die HET, die in der Arbeit von Nietzer et al. nicht erhoben wurden, keinen Einfluss auf die Ergebnisse haben. Dieses Vorgehen erklärt mögliche Abweichungen der Ergebnisse der statistischen Analyse bezüglich der Gruppen WT und KO abhängig davon, ob die erhobenen Daten für die HET in das zugrundeliegende Modell der Berechnungen einbezogen wurden oder nicht. Dies kann dem Ergebnisteil entnommen werden.

In der Arbeit von Nietzer et al. und meiner Arbeit wurden die identischen Präparate der Mäusegehirne verwendet. Zur Rekonstruktion der Neurone wurde das gleiche Neurolucida-System benutzt. Die angelegten Kriterien zur Auswahl der Neurone und

deren Rekonstruktion wurde eng angelegt an die, die von Nietzer et al. vorgegeben wurden. Allerdings ist nicht nachvollziehbar, welche Neurone exakt in den einzelnen Präparaten zur Rekonstruktion ausgewählt wurden. Es ist also wahrscheinlich, dass für die jeweiligen Mäusegruppen in meiner Arbeit im Vergleich zur Arbeit von Nietzer et al. unterschiedliche Neurone durch die Untersucherinnen ausgewählt wurden. Nietzer et al. wählten mindestens vier Neurone pro Maus aus, während in meiner Arbeit das Ziel angestrebt wurde, mindestens sechs Neurone je Maus zu rekonstruieren, was aufgrund der strengen Gütekriterien nicht für jede Maus erreicht werden konnte. Es wäre ggf. sinnvoll, eine noch größere Anzahl an Neuronen zu rekonstruieren und in die Auswertung einzubeziehen, um die Vergleichbarkeit und die Aussagekraft der Ergebnisse zu erhöhen. Limitierend ist dabei jedoch, dass es bei einigen Präparaten bereits schwierig oder sogar unmöglich war, die angestrebte Anzahl von sechs Neuronen zu erreichen, wenn die Auswahlkriterien konsequent eingehalten werden sollten.

Abweichend zu der Arbeit von Nietzer et al., in der ausschließlich Mushroom-Spines, gezählt wurden, wurden hier in der aktuellen Arbeit alle Spinearten gezählt, wie im Methodenteil erläutert. Trotzdem lässt sich in den Diagrammen ablesen, dass die absolute Anzahl der Spines bei Nietzer et al. höher ist als in meiner Arbeit. Das Gegenteil wäre zu erwarten gewesen. Für zukünftige Untersuchungen scheint es relevant zu sein, die Auswahlkriterien für die Zählung der Spines zu überdenken und noch genauer zu spezifizieren. Geeignet dafür wäre Bildmaterial, das während der Rekonstruktion gewonnen wird, um die Beschreibung, welche Spines als solche gezählt werden, zu präzisieren.

Auch wenn die deskriptive Statistik auf Grundlage der Diagramme der einzelnen Parameter von Nietzer et al. deutliche Gemeinsamkeiten mit denen der hier vorliegenden Arbeit vermuten lassen und dies für eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse der beiden Arbeiten spricht, resultierte die statistische Analyse nicht in übereinstimmenden signifikanten Unterschieden. Es wurden vergleichbare Werte bezüglich des gesamten Dendritenmaterials und auch für Apikal- und Basaldendriten getrennt erhoben mit scheinbar ähnlicher Verteilung auf die vier untersuchten Gruppen. Wie bereits beschrieben, weicht die absolute Anzahl der erhobenen Spines zwischen den beiden Arbeiten ab, indem bei Nietzer et al. tendenziell etwas mehr Spines gezählt wurden, allerdings kann anhand der Diagramme ein vergleichbares Verteilungsmuster zwischen

Apikal- und Basaldendriten wie auch zwischen den vier Genotyp-/Erfahrungsgruppen angenommen werden. Wie sich daraus ableiten lässt, ist die Spinedichte in der hier vorliegenden Arbeit im Vergleich etwas niedriger. Bezüglich des Parameters Verzweigungsdichte lässt sich in den Diagrammen von Nietzer et al. eine zehnfach höhere Verzweigungsdichte ablesen, ohne dass die Verzweigungspunkte als getrennter Parameter aufgeführt sind. Es kann vermutet werden, dass in der Arbeit von Nietzer et al. ein Berechnungsfehler um den Faktor zehn vorliegt.

Dass die Erfahrung von sozialem Stress aber auch der *5-Htt*-Genotyp in der Gruppe der Apikaldendriten der pyramidenzellähnlichen Neurone der LA einen Einfluss auf die Ausbildung von Spines haben kann, konnte in beiden Arbeiten beobachtet werden. In der hier vorliegenden Arbeit ergaben sich in der Auswertung der Apikaldendriten statistisch zumindest auf Trendebene niedrigere Werte des Parameters Spines in der Gruppe der WT-Verlierer sowie der KO-Kontrollen gegenüber den WT-Kontrollen. Dieses Muster der Ergebnisse stellte sich signifikant ebenfalls in der Arbeit von Nietzer et al. heraus, allerdings nur bezüglich des Parameters Spinedichte, also der Anzahl der Spines in Bezug zur Länge des Dendritenmaterials. Es kann diesbezüglich abgeleitet werden, dass die sozialen Stresserfahrungen sowie ein Defizit des 5-HTT zu einer höheren Spinezahl bzw. Spinedichte führt.

Da die Rekonstruktion der Neurone in den beiden Arbeiten von unterschiedlichen Personen durchgeführt wurde, ist der individuelle Einfluss und die Bewertung des Untersuchenden von Relevanz. Gegebenenfalls sind eine erneute Untersuchung und Erhebung der Daten durch eine dritte Person dahingehend gewinnbringend, dass bereits dargestellte Ergebnisse bestätigt werden oder besser eingeordnet werden können.

4.3 Effekt von sozialer Stresserfahrung und *5-Htt*-Genotyp auf Neurone der CA3-Region des Hippocampus

Auch in der CA3-Region des Hippocampus konnte gezeigt werden, dass die soziale Stresserfahrung als auch der *5-Htt*-Genotyp sich auf die Morphologie der Neurone auswirken. Als ein deutliches Ergebnis der Analyse der CA3-Region lässt sich feststellen, dass der Einfluss der sozialen Stresserfahrung in der Gruppe der WT-Mäuse eine signifikante Reduktion der absoluten Anzahl der Verzweigungspunkte der Apikaldendriten zur Folge hat, die Komplexität der Dendritenbäume also durch Stress

abnimmt. In der Auswertung der Sholl-Analyse wird dieser Effekt, unabhängig von bestimmten Radien, bestätigt. Innerhalb der HET-Mäuse und KO-Mäuse zeigt sich dieser Erfahrungseffekt nicht. Das Ergebnis der Sholl-Analyse der WT-Mäuse für den Parameter Schnittpunkte unterstreicht, dass die Komplexität der Dendritenbäume mit insgesamt mehr Dendritenmaterial und mehr Verzweigungspunkten durch die Erfahrung von sozialem Stress abnimmt: In der WT-Verlierergruppe ergeben sich signifikant weniger Schnittpunkte der Dendritenbäume mit einigen Schalen der Sholl-Analyse gegenüber der WT-Kontrollgruppe, was für eine Atrophie und Reduktion der Komplexität der Apikaldendriten durch die Stresserfahrung in der Gruppe der WT-Mäuse spricht.

Vergleichbare Ergebnisse des Einflusses von Stresserfahrung auf die Komplexität der Pyramidenzellen der CA3-Region lieferte die Arbeit von Vyas et al. Dabei wurden Ratten chronischem Immobilisationsstress ausgesetzt und eine signifikante Reduktion der Verzweigungspunkte der Pyramidenzellen der CA3-Region durch die Stresserfahrung nachgewiesen (Vyas et al., 2002). Ähnliches konnte bereits durch physischen Stress, ausgelöst durch Bewegungseinschränkung (McLaughlin et al., 2007, Watanabe et al., 1992) sowie chronischen psychosozialen Stress (McKittrick et al., 2000), vor allem in der Gruppe der Apikaldendriten der CA3-Region von Ratten, gezeigt werden.

In der hier vorliegenden Arbeit zeigt sich auch die absolute Anzahl der Enden von Zweigen der Apikaldendriten in der Gruppe der WT-Verlierer reduziert gegenüber der WT-Kontrollgruppe. In der Sholl-Analyse ergibt sich auch für die WT-Verlierer eine geringere Anzahl an Schnittpunkten der Dendritenbäume mit den Schalen im Vergleich mit den WT-Kontrollen. Diese Ergebnisse lassen sich von den verminderten Verzweigungen und insgesamt reduzierten Ästen der WT-Verlierer ableiten und lassen keine zusätzlichen Schlüsse zu. Stresserfahrung führt also in der WT-Gruppe zu einer reduzierten Komplexität der Apikaldendriten der Pyramidenzellen der CA3-Region.

Der Effekt der Stresserfahrung auf die Komplexität und Länge der Dendritenbäume zeigte sich nur innerhalb der WT-Mäuse, nicht in der Gruppe der HET- oder KO-Mäuse. Weitere Auswirkungen des *5-Htt*-Genotyps auf die Verzweigungspunkte lassen sich ebenfalls feststellen: Die Kontrollgruppe der HET weist signifikant weniger Verzweigungspunkte der Apikaldendriten auf als die Kontrollgruppe der WT. Ein 5-HTT-Defizit, wie es die HET gegenüber den WT ausweisen, führt also zu einer verminderten Anzahl an Verzweigungen der Dendritenbäume. Dieses Ergebnis lässt sich in Zusammenhang bringen mit den Erkenntnissen von Watanabe et al. (1992). Sie konnten

nachweisen, dass eine verstärkte Wiederaufnahme von 5-HT durch den präsynaptischen 5-HTT, morphologische Umstrukturierungen in Form einer verminderten Anzahl an Verzweigungspunkten, die durch Stress ausgelöst wurde, in der CA3-Region des Hippocampus verhindert werden kann. Dazu wurde Ratten das Antidepressivum Tianeptin verabreicht, was einem Serotonin-Wiederaufnahme-Verstärker entspricht (Watanabe et al., 1992). Eine durch dieses Antidepressivum im adulten Tier ausgelöste erhöhte Effektivität des 5-HTT bewirkt demnach eine verminderte Auswirkung von Stress, in Form von geringerer Komplexität, auf die Struktur des Hippocampus, was dem gegenteiligen Effekt des 5-HTT Defizits in der aktuellen Arbeit gegenübersteht. Allerdings lässt sich der Effekt für die Gruppe der KO-Mäuse nicht darstellen, die ein noch höheres Defizit an 5-HTT aufweisen. Hier können erneut die möglichen Anpassungsfähigkeiten der HET-Tiere diskutiert werden (siehe „Diskussion - Effekt von sozialer Stresserfahrung und *5-Htt*-Genotyp auf Neurone der LA“).

Die Kontrollen der WT wiesen hochsignifikant längere Apikaldendriten auf als die WT-Verlierer. Das Gleiche zeigte sich in der Sholl-Analyse für den Parameter Länge mit dem Fokus auf die Radien 90-270 μm . Es kann also angenommen werden, dass die Auswirkungen des sozialen Stresses zu einer reduzierten Länge der Apikaldendriten der WT führen. Diese stressinduzierte Dendritenatrophie der Pyramidenzellen der CA3-Region des Hippocampus konnte in vorangegangenen Studien anhand von Rattenmodellen ebenfalls nachgewiesen werden. Dabei handelte es sich um verschiedene Stressarten wie chronischer Immobilisationsstress (Vyas et al., 2002, Vyas et al., 2004, Watanabe et al., 1992), chronischer nicht vorhersehbarer Stress, induzierter Stress durch Verabreichung von Corticosteron (Sousa et al., 2000) und chronischer sozialer Stress, bei Magarinos et al. am Modell der Spitzhörnchen (McKittrick et al., 2000, Magariños et al., 1996). Die Verlierer der WT wiesen außerdem signifikant kürzeres Dendritenmaterial auf, gegenüber den Verlierern der KO in den Schalen mit Radius 150-330 μm und, wenn auch nur angedeutet, gegenüber den Verlierern der HET in Radius 150-270 μm der Sholl-Analyse. Diese Beobachtung lässt sich möglicherweise dadurch erklären, dass der Effekt der sozialen Stresserfahrung auf die Verlierer der WT so stark ist, dass die daraus resultierende Atrophie der Apikaldendriten nicht nur zu signifikanten Unterschieden zu den WT-Kontrollen, sondern auch als Nebeneffekt zu

den HET- und KO-Verlierern führt, was sich bei Betrachtung der Grafik des gesamten Dendritenmaterials für den Parameter Länge vermuten lässt.

Die Verlierererfahrung durch sozialen Stress führt in der Gruppe der HET-Mäuse zu einer signifikant erniedrigten Spinedichte der Apikaldendriten gegenüber der Kontrollgruppe. Das zeigt sich sowohl in der Auswertung des gesamten dendritischen Materials als auch in der Sholl-Analyse in den Schalen mit den Radien 30-300 µm sowie als allgemeiner Erfahrungseffekt. Auch Chen et al. haben bereits die Erkenntnis gewonnen, dass gemischter physischer sowie psychischer Stress zu einer reduzierten Spinedichte bei Mäusen in der CA3-Region des Hippocampus führt (Chen et al., 2008, Chen et al., 2010). Dieser Effekt konnte jedoch nicht in der Gruppe der WT- oder KO-Tiere festgestellt werden.

Unter den Kontrollgruppen zeigten die KO-Mäuse eine signifikant niedrigere Spinedichte des gesamten Dendritenmaterials gegenüber den Kontrollen der HET und WT. In der Branch Order-Analyse bestätigte sich der Effekt, dass die Kontrollgruppe der HET eine signifikant höhere Spinedichte als die Kontrollgruppe der KO-Mäuse hat. Außerdem kann bei der Analyse des gesamten Dendritenmaterials eine tendenziell niedrigere Spinedichte der HET-Verlierer gegenüber den WT-Verlierern beschrieben werden. Es lässt sich daher vermuten, dass ein 5-HTT-Defizit, unabhängig von der Stresserfahrungen, zu einer Verminderung der Spinedichte in der CA3-Region des Hippocampus beiträgt.

4.4 Methodische Überlegungen

In vorausgegangenen vergleichbaren Studien, in denen der Einfluss von Stress auf die Morphologie der Amygdala untersucht wurden, wurde zumeist die basolaterale Amygdala untersucht. Teilweise mit unklarer Definition, ob der basolaterale und der laterale Kern einbezogen wurden (Mitra and Sapolsky, 2008, Vyas et al., 2002, Wellman et al., 2007). In der aktuellen Arbeit wurde der laterale Kern der Amygdala separat und klar von anderen Strukturen abgegrenzt betrachtet, was die Vergleichbarkeit mit bestimmten vorausgegangenen Arbeiten reduziert. Allerdings ist eine getrennte Untersuchung der einzelnen Kerngebiete der Amygdala sinnvoll, da bekannt ist, dass den verschiedenen Kernen verschiedene Afferenzen und Verschaltungen zuzuordnen sind und sie sich somit in ihrer Funktion voneinander unterscheiden. So erhält die

laterale Amygdala vor allem sensorische Afferenzen des Cortex und Thalamus, der basale Kern der Amygdala vom Hippocampus und präfrontalen Cortex. In der Arbeit von Nietzer et al. konnte bereits gezeigt werden, dass die morphologischen Veränderungen im Rahmen der neuronalen Plastizität abhängig von Stresserleben und *5-Htt*-Genotyp jeweils unterschiedliche Effekte in den Regionen des lateralen und basalen Kerns im Mausmodell erzeugen können, mit den stärksten Effekten im lateralen Kern (Nietzer et al., 2011).

Es ist bekannt, dass der Hippocampus für die Gedächtnisbildung und Verarbeitung von Sinneseindrücken eine wichtige Rolle spielt. Der Einfluss von Stress auf die Morphologie des Cornu ammonis des Hippocampus wurde in vorausgegangenen Studien bereits untersucht, wobei vor allem die CA1- und CA3-Region untersucht wurden. In der hier vorliegenden Arbeit wurde die Morphologie der Apikaldendriten der CA3-Pyramidenzellen des Hippocampus analysiert. Besonders relevant für diese Entscheidung waren die Ergebnisse der Arbeit von Nietzer et al., wo sich für die Mäusepräparate der hier vorliegenden Arbeit keine signifikanten Auswirkungen des sozialen Stresses oder des *5-Htt*-Genotyps auf die Morphologie der Pyramidenzellen der CA1-Region ergaben. In anderen Arbeiten stellte sich bereits heraus, dass die CA3-Region des Hippocampus deutlicher als die CA1-Region auf verschiedene Stressoren durch morphologische Veränderungen der Dendritenbäume der Pyramidenzellen reagierte (Magariños and McEwen, 1995, Magariños et al., 1996, McLaughlin et al., 2005).

Die zusätzliche Analyse nach Verzweigungsordnung im Rahmen der Branch Order-Analyse der Neurone der LA sowie die Sholl-Analyse in verschiedenen Schalen, bildet verschiedene morphologische Informationen von Abschnitten des Dendritenmaterials ab, abhängig vom Abstand zum Soma der Neurone. Ein weiterer Aspekt ist jedoch zu berücksichtigen: Die Rekonstruktion der oft weit verzweigten Dendritenbäume zeigte sich häufig in den am weitesten distalen Abschnitten der Dendriten als erschwert. Die Dendritenbäume kreuzten in den distalen Abschnitten häufiger andere Dendritenbäume. Auch konnte nicht für jedes Ende eines Dendritenasts mit absoluter Sicherheit bestimmt werden, ob es sich um ein natürliches Ende dieses Dendriten handelt oder um einen „Abbruch“, da die Schnittoberfläche erreicht wurde. Diese Phänomene konnten durch die Begrenzung der Branch Order-Analyse bis Verzweigungsordnung 4 und die der Sholl-Analyse bis Radius 360 µm reduziert werden.

Es kann für zukünftige Untersuchungen überlegt werden, ob möglicherweise eine verlängerte Stressexposition, im Fall der vorliegenden Arbeit das soziale Stresserleben der Mäuse, an mehr als nur drei aufeinander folgenden Tagen, deutlichere morphologische Veränderungen im Sinne der neuronalen Plastizität hervorrufen könnte. Hinweise auf stärkere Effekte durch längere Stressexposition berichteten Vyas et al. 2006 in ihrer Arbeit. Die Ausdehnung einer Stresserfahrung in Form von Immobilisationsstress im Rattenmodell von zehn Tagen auf 21 Tage in Folge führte zu einer erhöhten Dendritenlänge, Spinedichte und mehr Verzweigungspunkten der Neurone der basolateralen Amygdala (Vyas et al., 2006). In einer methodisch zu der hier vorliegenden Arbeit vergleichbaren Arbeit (Weber, 2022) wurden ebenso Mäuse aller drei Genotypen der 5-HTT-Knockout-Linie der CA3-Region des Hippocampus untersucht, die unterschiedliche Lebensgeschichten („Life History“) bzgl. Stress-/Angst-besetzter Erfahrungen durchgemacht hatten. Dabei wurden insgesamt über alle Genotypen hinweg längere Apikaldendriten, mehr Verzweigungspunkte und mehr Enden der Dendritenbäume festgestellt. Ein Teil der Mäuse erlebte entweder schon pränatal und in der Adoleszenz aber auch im Erwachsenenalter sozialen Stress. Die Stresserfahrung im Erwachsenenalter fand außerdem zwei Wochen früher statt als in der hier vorliegenden Arbeit. Dies könnte bedeuten, dass Stress tatsächlich über einen deutlich längeren Zeitraum doch zu komplexeren Dendritenbäumen in der CA3-Region im Mausmodell führen könnte, wie es in der „Life History“-Studie beschrieben wurde. Außerdem könnte der Zeitpunkt der Stresserfahrung in der Lebensgeschichte relevant sein, abhängig vom Alter und Entwicklungsstand der Mäuse.

4.5 Klinischer Bezug

Erkenntnisse über die Morphologie und neuronale Plastizität einzelner Hirnregionen sind im klinischen Alltag von großer Bedeutung. Es ist einerseits ein wichtiger Bestandteil des Verständnisses der Entstehung psychischer Erkrankungen und auch relevant für deren Behandlung. Wenn man die Hypothese aufstellt, dass beim Menschen vergleichbare Prozesse bezüglich der neuronalen Plastizität anzunehmen sind, wie sie in dieser Arbeit gezeigt werden konnten, könnte dies von Bedeutung für den klinischen Alltag sein.

Beispielsweise wird zunehmend die Behandlungsmethode der tiefen Hirnstimulation eingesetzt. Diese Methode ist vor allem bekannt als eine Behandlungsoption von

gestörten Bewegungsabläufen hirngenanischer Genese, besonders im Rahmen der Parkinsontherapie. Die tiefe Hirnstimulation wird auch zur Behandlung psychischer Erkrankungen eingesetzt, aktuell jedoch noch selten und gilt beispielweise bei der Behandlung einer Depression als alternative Option bei sonst therapieresistenten Verlaufsformen, wenn sich psychotherapeutische und medikamentöse Ansätze als unzureichend wirksam zeigen. Vor allem inhibierende, aber auch stimulierende Effekte der tiefen Hirnstimulation werden diskutiert. Der genaue Mechanismus ist noch nicht abschließend erforscht. Die Auswahl von Hirnregionen für die Behandlung psychischer Erkrankungen mit der tiefen Hirnstimulation erfolgt bisher auf Grundlage von bildgebenden Studien, Erkenntnissen durch Verletzungen von Hirnstrukturen und bisherigem Verständnis der neurophysiologischen Genese. Generell gibt es bisher nur Studien mit geringen Fallzahlen. Bisher wurde beispielsweise der Nucleus accumbens, Teil der Basalganglien, als Teil des Belohnungszentrums bei depressiven Erkrankungen wirksam stimuliert (Schlöpfer and Bewernick, 2009). Grundlegende Ergebnisse zur Morphologie und neuronalen Plastizität einzelner Hirnregionen können wegweisend sein bei zukünftiger Auswahl der stimulierten Hirnregionen im Rahmen der Behandlung psychischer Erkrankungen.

Die Kenntnisse über die neuronale Plastizität der untersuchten Hirnregionen unterstreicht außerdem die Hypothese des multifaktoriellen Erklärungsmodells für die Entstehung von Angststörungen und Depressionen. Gerade auch für die Behandlung dieser Störungsbilder ist die Reduktion des negativen Stresses ein erheblicher Bestandteil. Dies ist beim Menschen bereits seit Langem auf empirischer Ebene als wesentliche Strategie zur Reduktion und Prävention einer depressiven und ängstlichen Symptomatik bekannt und in der Form des Vulnerabilitäts-Stress-Modells beschrieben: Abhängig von der Anfälligkeit bzw. Verletzlichkeit (= Vulnerabilität) eines Menschen, genetische Faktoren mit eingeschlossen, kann negativer Stress zu einer psychischen Belastung im Sinne einer klinisch relevanten Symptomatik führen (Tölle and Windgassen, 2014).

4.6 Schlussfolgerung und Ausblick

Sowohl die LA als auch die CA3-Region des Hippocampus spielen eine entscheidende Rolle in der Verarbeitung von Stress und Emotionen und stehen in Verbindung mit der

Entstehung psychischer Erkrankungen wie Angststörungen und Depressionen. Es konnte anhand eines Mausmodells gezeigt werden, dass die soziale Stresserfahrung wie auch der *5-Htt*-Genotyp Auswirkungen auf die Morphologie der Neurone der LA und der CA3-Region haben. Dies lässt auf einen Einfluss von Stress sowie genetischer Suszeptibilität (beispielsweise der *5-HTT*-Längenpolymorphismus) auf morphologische Anpassungsprozesse im Sinne der neuronalen Plastizität der untersuchten Hirnregionen schließen.

Für zukünftige Arbeiten mit vergleichbaren Methoden erscheint es relevant zu sein, bei der Erhebung morphologischer Parameter enge Kriterien anzulegen und diese exakt zu beschreiben. Nur so kann die Aussagekraft der gewonnenen Daten hochgehalten und auch eine Vergleichbarkeit von ähnlichen Arbeiten ermöglicht werden. Es könnten dabei entsprechendes Bildmaterial der Mikroskopie oder schematische Darstellungen beispielsweise für den Parameter Spines (siehe „Material und Methoden - Kriterien zur Auswahl der Neurone und deren Rekonstruktion“) dienlich sein. Mit Blick auf vorausgegangene Arbeiten kann der Ansatz weiterverfolgt werden, den Effekt der Stresserfahrung durch längere und häufigere Stressexposition zu verstärken, allerdings unter Abwägung ethischer Aspekte des Tierwohls. Es hat sich auch herausgestellt, dass die Vergleichbarkeit der Ergebnisse von morphologischen Untersuchungen, wie sie hier stattgefunden haben, limitiert ist. Dabei sind neben grundsätzlichen methodischen Aspekten auch individuelle Einflüsse und Bewertungen der Untersuchenden bereits bei der Auswahl der Neurone aber auch der Rekonstruktion des Dendritenmaterials zu berücksichtigen. Die Auswertung derselben Präparate durch mehrere Untersuchende, mit im Vorfeld vereinbarten identischen Rekonstruktionskriterien könnte interessant sein, um die Methoden im Anschluss gemeinsam zu diskutieren.

5 Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde der Einfluss sozialer Stresserfahrung sowie des *5-Htt*-Genotyps auf die neuronale Morphologie bestimmter Hirnregionen anhand eines Mausmodells untersucht. Es wurde in mit Golgi-Cox gefärbten Gehirnen der 5-HTT-KO-Linie in der lateralen Amygdala (LA) die Apikal- und Basaldendriten pyramidenzellähnlicher Neurone und die Apikaldendriten der Pyramidenzellen der Cornu ammonis (CA)3-Region des Hippocampus mithilfe des Neurolucidasystems rekonstruiert und die so gewonnenen Daten anschließend statistisch ausgewertet.

Die erzielten Ergebnisse belegen, dass vor allem die Erfahrung von sozialem Verteidigungsstress aber auch der *5-Htt*-Genotyp (WT, HET, KO) im Mausmodell signifikanten Einfluss auf die Morphologie der Neurone der LA und der CA3-Region besitzen. Um die in dieser Arbeit mit allen drei *5-Htt*-Genotypen erzielten Ergebnisse der LA-Neurone besser mit den Ergebnissen von Nietzer und Bonn (nur WT, KO) vergleichen zu können (Nietzer et al., 2011), wurden die von mir erhobenen Daten nicht nur in einem 3er-Vergleich, sondern auch einem 2er-Vergleich (WT vs. KO) statistisch analysiert. Untersuchungen der LA-Neurone aller drei *5-Htt*-Genotypen zeigen, dass sozialer Stress zu einer Zunahme der Komplexität der Dendritenbäume durch längere und auch stärker verzweigte Dendriten vor allem in der Gruppe der WT-Mäuse führt. HET- und KO-Mäuse zeigten keinen entsprechenden Stress-Effekt. Darüber hinaus zeigten sich deutliche Genotypeneffekte. Unabhängig vom Stresserleben besitzen HET-Mäuse längere Dendriten als WT-Mäuse sowie eine höhere Spinedichte als WT- und KO-Mäuse. Die Hypothese, die in der Arbeit von Nietzer et al. aufgestellt wurde, dass eine vollständige 5-HTT-Defizienz zu mehr Spines führt, ließ sich hier weder durch den 3er- noch durch den 2er-Vergleich replizieren. Die Pyramidenzellen der CA3-Region, die in dieser Studie zum ersten Mal analysiert wurden, zeigen in Bezug auf die durch den Stress ausgelösten Veränderungen ein im Vergleich zu den LA-Neuronen entgegengesetzten Effekt. Der soziale Stress führt hier zu einer Dendritenatrophie in der WT-Gruppe mit kürzeren und weniger komplexen Dendriten. Außerdem führte er zu einer geringeren Spinedichte bei den HET-Mäusen. Es zeigten sich klare Genotypeneffekte, unabhängig von der Stresserfahrung, mit einer reduzierten Spinedichte der KO-Mäuse gegenüber den WT-Mäusen und einer nur in den Kontrollen detektierten, reduzierten Spinedichte der KO-Mäuse im Vergleich zu den WT- und HET-Mäusen. Sowohl in der LA als auch in der CA3-Region lassen sich Kompensationsmechanismen des 5-HTT-Defizits der HET-Tiere vermuten, über die die KO-Tiere nicht verfügen.

Die in LA und CA3 gezeigten gegensätzlichen Auswirkungen des sozialen Stresses weisen auf die unterschiedlichen Funktionen dieser beiden Regionen im Furchtkreislauf und/oder bei der Verarbeitung von Stress hin. Darüber hinaus deutet diese Arbeit darauf hin, dass Arbeiten mit ähnlichen Untersuchungsmethoden und sogar gleichem Untersuchungsmaterial unterschiedliche Ergebnisse liefern können.

6 Literaturverzeichnis

- ANDERSEN PER, M. R., AMARAL DAVID, BLISS TIM, AND O'KEEFE JOHN 2006. *The Hippocampus Book*, Oxford University Press, Inc.
- ARMBRUSTER, D., MOSER, D. A., STROBEL, A., HENSCH, T., KIRSCHBAUM, C., LESCH, K. P. & BROCKE, B. 2009. Serotonin transporter gene variation and stressful life events impact processing of fear and anxiety. *Int J Neuropsychopharmacol*, 12, 393-401.
- BENGEL, D., MURPHY, D. L., ANDREWS, A. M., WICHEMS, C. H., FELTNER, D., HEILS, A., MOSSNER, R., WESTPHAL, H. & LESCH, K. P. 1998. Altered brain serotonin homeostasis and locomotor insensitivity to 3, 4-methylenedioxyamphetamine ("Ecstasy") in serotonin transporter-deficient mice. *Mol Pharmacol*, 53, 649-55.
- BERTOGLIO, L. J., JOCA, S. R. & GUIMARÃES, F. S. 2006. Further evidence that anxiety and memory are regionally dissociated within the hippocampus. *Behav Brain Res*, 175, 183-8.
- BLISS, T. V. & COLLINGRIDGE, G. L. 1993. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361, 31-9.
- BOSSONG, F. 2008. [In memory of Roland Kuhn (1912-2005) and 50 years of imipramine]. *Nervenarzt*, 79, 1080-6.
- BUZNIKOV, G. A., LAMBERT, H. W. & LAUDER, J. M. 2001. Serotonin and serotonin-like substances as regulators of early embryogenesis and morphogenesis. *Cell Tissue Res*, 305, 177-86.
- CANLI, T. & LESCH, K. P. 2007. Long story short: the serotonin transporter in emotion regulation and social cognition. *Nat Neurosci*, 10, 1103-9.
- CASPI, A., SUGDEN, K., MOFFITT, T. E., TAYLOR, A., CRAIG, I. W., HARRINGTON, H., MCCLAY, J., MILL, J., MARTIN, J., BRAITHWAITE, A. & POULTON, R. 2003. Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science*, 301, 386-9.
- CHEN, Y., DUBÉ, C. M., RICE, C. J. & BARAM, T. Z. 2008. Rapid loss of dendritic spines after stress involves derangement of spine dynamics by corticotropin-releasing hormone. *J Neurosci*, 28, 2903-11.
- CHEN, Y., REX, C. S., RICE, C. J., DUBÉ, C. M., GALL, C. M., LYNCH, G. & BARAM, T. Z. 2010. Correlated memory defects and hippocampal dendritic spine loss after acute stress involve corticotropin-releasing hormone signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107, 13123-8.
- CHRISTIAN, K. M., MIRACLE, A. D., WELLMAN, C. L. & NAKAZAWA, K. 2011. Chronic stress-induced hippocampal dendritic retraction requires CA3 NMDA receptors. *Neuroscience*, 174, 26-36.
- COATES, M. D., MAHONEY, C. R., LINDEN, D. R., SAMPSON, J. E., CHEN, J., BLASZYK, H., CROWELL, M. D., SHARKEY, K. A., GERSHON, M. D., MAWE, G. M. & MOSES, P. L. 2004. Molecular defects in mucosal serotonin content and decreased serotonin reuptake transporter in ulcerative colitis and irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*, 126, 1657-64.
- COPPEN, A., PRANGE, A. J., JR., WHYBROW, P. C. & NOGUERA, R. 1972. Abnormalities of indoleamines in affective disorders. *Arch Gen Psychiatry*, 26, 474-8.
- CURZON, G. 1990. Serotonin and appetite. *Ann N Y Acad Sci*, 600, 521-30; discussion 530-1.
- DĄBROWSKI, J., CZAJKA, A., ZIELIŃSKA-TUREK, J., JAROSZYŃSKI, J., FURTAK-NICZYPORUK, M., MELA, A., PONIATOWSKI Ł, A., DROP, B., DOROBEK, M., BARCIKOWSKA-KOTOWICZ, M. & ZIEMBA, A. 2019. Brain Functional Reserve in the Context of Neuroplasticity after Stroke. *Neural Plast*, 2019, 9708905.
- DOGRUL, A., OSSISOV, M. H. & PORRECA, F. 2009. Differential mediation of descending pain facilitation and inhibition by spinal 5HT-3 and 5HT-7 receptors. *Brain Res*, 1280, 52-9.
- EHRlich, I., HUMEAU, Y., GRENIER, F., CIOCCHI, S., HERRY, C. & LÜTHI, A. 2009. Amygdala inhibitory circuits and the control of fear memory. *Neuron*, 62, 757-71.

- ERSPAMER, V. & ASERO, B. 1952. Identification of enteramine, the specific hormone of the enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine. *Nature*, 169, 800-1.
- ERSPAMER, V. & VIALLI, M. 1937. — Ricerche sul secreto delle cellule enterocromaffini. Nota I. Estratti alcoolici di mucosa gastrica e loro reazioni. Nota II. Prove di controllo su estratti gastrici vari. Nota III. Comportamento della sostanza specifica delle enterocromaffini di fronte ad alcuni agenti precipitanti. Nota IV. La sostanza specifica delle enterocromaffini non può essere adrenalina. Nota V. Comportamento della sostanza specifica delle enterocromaffini di fronte ai solventi organici. Nota VI. Sulla azione biologica di estratti bruti di mucosa gastrica di coniglio. *Boll. Soc. med.-chir. Pavia* 51 (1937).
- FABRE, V., BEAUFOUR, C., EVRARD, A., RIOUX, A., HANOUN, N., LESCH, K. P., MURPHY, D. L., LANFUMEY, L., HAMON, M. & MARTRES, M. P. 2000. Altered expression and functions of serotonin 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in knock-out mice lacking the 5-HT transporter. *Eur J Neurosci*, 12, 2299-310.
- FANSELOW, M. S. & DONG, H. W. 2010. Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron*, 65, 7-19.
- FITCH, J. M., JURASKA, J. M. & WASHINGTON, L. W. 1989. The dendritic morphology of pyramidal neurons in the rat hippocampal CA3 area. I. Cell types. *Brain Res*, 479, 105-14.
- FRAER, M. & KILIC, F. 2015. Serotonin: a different player in hypertension-associated thrombosis. *Hypertension*, 65, 942-8.
- GOBBI, G., MURPHY, D. L., LESCH, K. & BLIER, P. 2001. Modifications of the serotonergic system in mice lacking serotonin transporters: an in vivo electrophysiological study. *J Pharmacol Exp Ther*, 296, 987-95.
- GODDARD, A. W., BALL, S. G., MARTINEZ, J., ROBINSON, M. J., YANG, C. R., RUSSELL, J. M. & SHEKHAR, A. 2010. Current perspectives of the roles of the central norepinephrine system in anxiety and depression. *Depress Anxiety*, 27, 339-50.
- HACKE, W. 2016. *Neurologie*, Heidelberg, Springer Berlin, Heidelberg.
- HAN, K. M., WON, E., SIM, Y. & TAE, W. S. 2016. Hippocampal subfield analysis in medication-naïve female patients with major depressive disorder. *J Affect Disord*, 194, 21-9.
- HARIRI, A. R., MATTAY, V. S., TESSITORE, A., KOLACHANA, B., FERA, F., GOLDMAN, D., EGAN, M. F. & WEINBERGER, D. R. 2002. Serotonin transporter genetic variation and the response of the human amygdala. *Science*, 297, 400-3.
- HEILS, A., TEUFEL, A., PETRI, S., SEEMANN, M., BENDEL, D., BALLING, U., RIEDERER, P. & LESCH, K. P. 1995. Functional promoter and polyadenylation site mapping of the human serotonin (5-HT) transporter gene. *J Neural Transm Gen Sect*, 102, 247-54.
- HEILS, A., TEUFEL, A., PETRI, S., STOBER, G., RIEDERER, P., BENDEL, D. & LESCH, K. P. 1996. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *J Neurochem*, 66, 2621-4.
- HIRSCHFELD, R. M. 2001. The Comorbidity of Major Depression and Anxiety Disorders: Recognition and Management in Primary Care. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*, 3, 244-254.
- HOLMES, A., MURPHY, D. L. & CRAWLEY, J. N. 2002. Reduced aggression in mice lacking the serotonin transporter. *Psychopharmacology (Berl)*, 161, 160-7.
- HOLMES, A., YANG, R. J., LESCH, K. P., CRAWLEY, J. N. & MURPHY, D. L. 2003. Mice lacking the serotonin transporter exhibit 5-HT_{1A} receptor-mediated abnormalities in tests for anxiety-like behavior. *Neuropsychopharmacology*, 28, 2077-88.
- HOLMSEN, H. & WEISS, H. J. 1979. Secretory storage pools in platelets. *Annu Rev Med*, 30, 119-34.
- HOLSBOER, F., GERKEN, A., VON BARDELEBEN, U., GRIMM, W., BEYER, H., MULLER, O. A. & STALLA, G. K. 1986. Human corticotropin-releasing hormone in depression—correlation with thyrotropin secretion following thyrotropin-releasing hormone. *Biol Psychiatry*, 21, 601-11.
- HORNUNG, J.-P. 2003. The human raphe nuclei and the serotonergic system. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 26, 331-343.
- HULL, E. M., MUSCHAMP, J. W. & SATO, S. 2004. Dopamine and serotonin: influences on male sexual behavior. *Physiol Behav*, 83, 291-307.

- HYDE, K. L., LERCH, J., NORTON, A., FORGEARD, M., WINNER, E., EVANS, A. C. & SCHLAUG, G. 2009. Musical training shapes structural brain development. *J Neurosci*, 29, 3019-25.
- JANS, L. A., RIEDEL, W. J., MARKUS, C. R. & BLOKLAND, A. 2007. Serotonergic vulnerability and depression: assumptions, experimental evidence and implications. *Mol Psychiatry*, 12, 522-43.
- JANSEN, F., HEIMING, R. S., LEWEJOHANN, L., TOUMA, C., PALME, R., SCHMITT, A., LESCH, K. P. & SACHSER, N. 2010. Modulation of behavioural profile and stress response by 5-HTT genotype and social experience in adulthood. *Behav Brain Res*, 207, 21-9.
- KALUEFF, A. V., OLIVIER, J. D., NONKES, L. J. & HOMBERG, J. R. 2010. Conserved role for the serotonin transporter gene in rat and mouse neurobehavioral endophenotypes. *Neurosci Biobehav Rev*, 34, 373-86.
- KANDEL, E. R. 2001. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science*, 294, 1030-8.
- KANDEL, E. R. & TAUC, L. 1965. Mechanism of heterosynaptic facilitation in the giant cell of the abdominal ganglion of *Aplysia depilans*. *J Physiol*, 181, 28-47.
- KARABEG, M. M., GRAUTHOFF, S., KOLLERT, S. Y., WEIDNER, M., HEIMING, R. S., JANSEN, F., POPP, S., KAISER, S., LESCH, K. P., SACHSER, N., SCHMITT, A. G. & LEWEJOHANN, L. 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, e78238.
- KARG, K., BURMEISTER, M., SHEDDEN, K. & SEN, S. 2011. The serotonin transporter promoter variant (5-HTTLPR), stress, and depression meta-analysis revisited: evidence of genetic moderation. *Arch Gen Psychiatry*, 68, 444-54.
- KARNATH HANS-OTTO, T. P. 2006. *Neuropsychologie*, Heidelberg, Springer
- KIM, D. K., TOLLIVER, T. J., HUANG, S. J., MARTIN, B. J., ANDREWS, A. M., WICHEMS, C., HOLMES, A., LESCH, K. P. & MURPHY, D. L. 2005. Altered serotonin synthesis, turnover and dynamic regulation in multiple brain regions of mice lacking the serotonin transporter. *Neuropharmacology*, 49, 798-810.
- KIM, J. J. & FANSELOW, M. S. 1992. Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science*, 256, 675-7.
- KOLE, M. H., COSTOLI, T., KOOLHAAS, J. M. & FUCHS, E. 2004. Bidirectional shift in the cornu ammonis 3 pyramidal dendritic organization following brief stress. *Neuroscience*, 125, 337-47.
- KRIEGEBAUM, C., GUTKNECHT, L., SCHMITT, A., LESCH, K. P. & REIF, A. 2010. [Serotonin now: Part 2. Behavioral genetics and psychopathology]. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 78, 332-42.
- LAMBERT, K. G., BUCKELEW, S. K., STAFFISO-SANDOZ, G., GAFFGA, S., CARPENTER, W., FISHER, J. & KINSLEY, C. H. 1998. Activity-stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal pyramidal neurons in male rats. *Physiol Behav*, 65, 43-9.
- LATHE, R. 2001. Hormones and the hippocampus. *J Endocrinol*, 169, 205-31.
- LEDOUX, J. 2007. The amygdala. *Curr Biol*, 17, R868-74.
- LESCH, K. P., BALLING, U., GROSS, J., STRAUSS, K., WOLOZIN, B. L., MURPHY, D. L. & RIEDERER, P. 1994. Organization of the human serotonin transporter gene. *J Neural Transm Gen Sect*, 95, 157-62.
- LESCH, K. P., WOLOZIN, B. L., MURPHY, D. L. & REIDERER, P. 1993. Primary structure of the human platelet serotonin uptake site: identity with the brain serotonin transporter. *J Neurochem*, 60, 2319-22.
- LI, X. F., STUTZMANN, G. E. & LEDOUX, J. E. 1996. Convergent but temporally separated inputs to lateral amygdala neurons from the auditory thalamus and auditory cortex use different postsynaptic receptors: in vivo intracellular and extracellular recordings in fear conditioning pathways. *Learn Mem*, 3, 229-42.
- LIRA, A., ZHOU, M., CASTANON, N., ANSORGE, M. S., GORDON, J. A., FRANCIS, J. H., BRADLEY-MOORE, M., LIRA, J., UNDERWOOD, M. D., ARANGO, V., KUNG, H. F., HOFER, M. A., HEN, R. & GINGRICH, J. A. 2003. Altered depression-related behaviors

- and functional changes in the dorsal raphe nucleus of serotonin transporter-deficient mice. *Biol Psychiatry*, 54, 960-71.
- LOWRY, C. A., JOHNSON, P. L., HAY-SCHMIDT, A., MIKKELSEN, J. & SHEKHAR, A. 2005. Modulation of anxiety circuits by serotonergic systems. *Stress*, 8, 233-46.
- MAGARIÑOS, A. M. & MCEWEN, B. S. 1995. Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons: comparison of stressors. *Neuroscience*, 69, 83-8.
- MAGARIÑOS, A. M., MCEWEN, B. S., FLÜGGE, G. & FUCHS, E. 1996. Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews. *J Neurosci*, 16, 3534-40.
- MAJCHER-MASLANKA, I., SOLARZ, A., WEDZONY, K. & CHOCYK, A. 2017. The effects of early-life stress on dopamine system function in adolescent female rats. *Int J Dev Neurosci*, 57, 24-33.
- MALBERG, J. E., EISCH, A. J., NESTLER, E. J. & DUMAN, R. S. 2000. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci*, 20, 9104-10.
- MANEV, H., UZ, T., SMALHEISER, N. R. & MANEV, R. 2001. Antidepressants alter cell proliferation in the adult brain in vivo and in neural cultures in vitro. *Eur J Pharmacol*, 411, 67-70.
- MATHEWS, T. A., FEDELE, D. E., COPPELLI, F. M., AVILA, A. M., MURPHY, D. L. & ANDREWS, A. M. 2004. Gene dose-dependent alterations in extraneuronal serotonin but not dopamine in mice with reduced serotonin transporter expression. *J Neurosci Methods*, 140, 169-81.
- MAWE, G. M. & HOFFMAN, J. M. 2013. Serotonin signalling in the gut--functions, dysfunctions and therapeutic targets. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 10, 473-86.
- MCKITTRICK, C. R., MAGARIÑOS, A. M., BLANCHARD, D. C., BLANCHARD, R. J., MCEWEN, B. S. & SAKAI, R. R. 2000. Chronic social stress reduces dendritic arbors in CA3 of hippocampus and decreases binding to serotonin transporter sites. *Synapse*, 36, 85-94.
- MCLAUGHLIN, K. J., BARAN, S. E., WRIGHT, R. L. & CONRAD, C. D. 2005. Chronic stress enhances spatial memory in ovariectomized female rats despite CA3 dendritic retraction: possible involvement of CA1 neurons. *Neuroscience*, 135, 1045-54.
- MCLAUGHLIN, K. J., GOMEZ, J. L., BARAN, S. E. & CONRAD, C. D. 2007. The effects of chronic stress on hippocampal morphology and function: an evaluation of chronic restraint paradigms. *Brain Res*, 1161, 56-64.
- MEYER-BOTHLING, U., BRON, A. J. & OSBORNE, N. N. 1993. Topical application of serotonin or the 5-HT₁-agonist 5-CT intraocular pressure in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 34, 3035-42.
- MITRA, R., JADHAV, S., MCEWEN, B. S., VYAS, A. & CHATTARJI, S. 2005. Stress duration modulates the spatiotemporal patterns of spine formation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 9371-6.
- MITRA, R. & SAPOLSKY, R. M. 2008. Acute corticosterone treatment is sufficient to induce anxiety and amygdaloid dendritic hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105, 5573-8.
- MONTAÑEZ, S., OWENS, W. A., GOULD, G. G., MURPHY, D. L. & DAWS, L. C. 2003. Exaggerated effect of fluvoxamine in heterozygote serotonin transporter knockout mice. *J Neurochem*, 86, 210-9.
- MOREY, R. A., GOLD, A. L., LABAR, K. S., BEALL, S. K., BROWN, V. M., HASWELL, C. C., NASSER, J. D., WAGNER, H. R. & MCCARTHY, G. 2012. Amygdala volume changes in posttraumatic stress disorder in a large case-controlled veterans group. *Arch Gen Psychiatry*, 69, 1169-78.
- MURPHY, D. L., FOX, M. A., TIMPANO, K. R., MOYA, P. R., REN-PATTERSON, R., ANDREWS, A. M., HOLMES, A., LESCH, K. P. & WENDLAND, J. R. 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, 932-60.
- MYERS, D. G. 2014. *Psychologie*, Berlin Heidelberg, Springer
- NAKAMARU-OGISO, E., MIYAMOTO, H., HAMADA, K., TSUKADA, K. & TAKAI, K. 2012. Novel biochemical manipulation of brain serotonin reveals a role of serotonin in the circadian rhythm of sleep-wake cycles. *Eur J Neurosci*, 35, 1762-70.

- NIETZER, S. L., BONN, M., JANSEN, F., HEIMING, R. S., LEWEJOHANN, L., SACHSER, N., ASAN, E. S., LESCH, K. P. & SCHMITT, A. G. 2011. Serotonin transporter knockout and repeated social defeat stress: impact on neuronal morphology and plasticity in limbic brain areas. *Behav Brain Res*, 220, 42-54.
- OWENS, M. J. & NEMEROFF, C. B. 1994. Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. *Clin Chem*, 40, 288-95.
- PAPE, H.-C. 2019. *Physiologie*, Stuttgart; New York, Georg Thieme Verlag.
- PAWLUSKI, J. L., VALENCA, A., SANTOS, A. I., COSTA-NUNES, J. P., STEINBUSCH, H. W. & STREKALOVA, T. 2012. Pregnancy or stress decrease complexity of CA3 pyramidal neurons in the hippocampus of adult female rats. *Neuroscience*, 227, 201-10.
- PENTKOWSKI, N. S., BLANCHARD, D. C., LEVER, C., LITVIN, Y. & BLANCHARD, R. J. 2006. Effects of lesions to the dorsal and ventral hippocampus on defensive behaviors in rats. *Eur J Neurosci*, 23, 2185-96.
- RAPPORT, M. M., GREEN, A. A. & PAGE, I. H. 1948. Serum vasoconstrictor, serotonin; isolation and characterization. *J Biol Chem*, 176, 1243-51.
- RASHEED, N., AHMAD, A., PANDEY, C. P., CHATURVEDI, R. K., LOHANI, M. & PALIT, G. 2010. Differential response of central dopaminergic system in acute and chronic unpredictable stress models in rats. *Neurochem Res*, 35, 22-32.
- RENSING, L. K., MICHAEL; RIPPE, BERNHARD; RIPPE, VOLKHARD 2013. *Mensch im Stress - Psyche, Körper, Moleküle*, Berlin Heidelberg (Wiesbaden), Springer Verlag.
- RISCH, N., HERRELL, R., LEHNER, T., LIANG, K. Y., EAVES, L., HOH, J., GRIEM, A., KOVACS, M., OTT, J. & MERIKANGAS, K. R. 2009. Interaction between the serotonin transporter gene (5-HTTLPR), stressful life events, and risk of depression: a meta-analysis. *Jama*, 301, 2462-71.
- ROOZENDAAL, B., MCEWEN, B. S. & CHATTARJI, S. 2009. Stress, memory and the amygdala. *Nat Rev Neurosci*, 10, 423-33.
- SAH, P., FABER, E. S., LOPEZ DE ARMENTIA, M. & POWER, J. 2003. The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiol Rev*, 83, 803-34.
- SCHAFER, C. 2007. [Nobel Prize for Medicine 2007. Knockout mice are revolutionizing genetics]. *Ophthalmologe*, 104, 1080-2.
- SCHLÄPFER, T. E. & BEWERNICK, B. H. 2009. Deep brain stimulation for psychiatric disorders -state of the art. *Adv Tech Stand Neurosurg*, 34, 37-57.
- SCOVILLE, W. B. & MILNER, B. 1957. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 20, 11-21.
- SERESS, L. 1980. Development and structure of the radial glia in the postnatal rat brain. *Anat Embryol (Berl)*, 160, 213-26.
- SHEN, H. W., HAGINO, Y., KOBAYASHI, H., SHINOHARA-TANAKA, K., IKEDA, K., YAMAMOTO, H., YAMAMOTO, T., LESCH, K. P., MURPHY, D. L., HALL, F. S., UHL, G. R. & SORA, I. 2004. Regional differences in extracellular dopamine and serotonin assessed by in vivo microdialysis in mice lacking dopamine and/or serotonin transporters. *Neuropsychopharmacology*, 29, 1790-9.
- SHOLL, D. A. 1953. Dendritic organization in the neurons of the visual and motor cortices of the cat. *J Anat*, 87, 387-406.
- SLOPEN, N., GLYNN, R. J., BURING, J. E., LEWIS, T. T., WILLIAMS, D. R. & ALBERT, M. A. 2012. Job strain, job insecurity, and incident cardiovascular disease in the Women's Health Study: results from a 10-year prospective study. *PLoS One*, 7, e40512.
- SOUSA, N., LUKOYANOV, N. V., MADEIRA, M. D., ALMEIDA, O. F. & PAULA-BARBOSA, M. M. 2000. Reorganization of the morphology of hippocampal neurites and synapses after stress-induced damage correlates with behavioral improvement. *Neuroscience*, 97, 253-66.
- SQUIRE, L. R. 1992. Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol Rev*, 99, 195-231.
- STETLER, C. & MILLER, G. E. 2011. Depression and hypothalamic-pituitary-adrenal activation: a quantitative summary of four decades of research. *Psychosom Med*, 73, 114-26.

- SUBLETTE, M. E., GALFALVY, H. C., OQUENDO, M. A., BART, C. P., SCHNECK, N., ARANGO, V. & MANN, J. J. 2016. Relationship of recent stress to amygdala volume in depressed and healthy adults. *J Affect Disord*, 203, 136-142.
- TÖLLE, R. & WINDGASSEN, K. 2014. *Psychiatrie*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- TONI, N., BUCHS, P. A., NIKONENKO, I., BRON, C. R. & MULLER, D. 1999. LTP promotes formation of multiple spine synapses between a single axon terminal and a dendrite. *Nature*, 402, 421-5.
- TREPEL, M. 2015. *Neuroanatomie Struktur und Funktion*, München, Urban und Fischer/Elsevier
- TWAROG, B. M. & PAGE, I. H. 1953. Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination. *Am J Physiol*, 175, 157-61.
- ULLMER, C., SCHMUCK, K., KALKMAN, H. O. & LUBBERT, H. 1995. Expression of serotonin receptor mRNAs in blood vessels. *FEBS Lett*, 370, 215-21.
- ULRIKE, E. 2016. *Verhaltensmedizin*, Berlin Heidelberg, Springer.
- VIDEBECH, P. & RAVNKILDE, B. 2004. Hippocampal volume and depression: a meta-analysis of MRI studies. *Am J Psychiatry*, 161, 1957-66.
- VYAS, A., JADHAV, S. & CHATTARJI, S. 2006. Prolonged behavioral stress enhances synaptic connectivity in the basolateral amygdala. *Neuroscience*, 143, 387-93.
- VYAS, A., MITRA, R., SHANKARANARAYANA RAO, B. S. & CHATTARJI, S. 2002. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *J Neurosci*, 22, 6810-8.
- VYAS, A., PILLAI, A. G. & CHATTARJI, S. 2004. Recovery after chronic stress fails to reverse amygdaloid neuronal hypertrophy and enhanced anxiety-like behavior. *Neuroscience*, 128, 667-73.
- WAIDER, J., PROFT, F., LANGLHOFER, G., ASAN, E., LESCH, K. P. & GUTKNECHT, L. 2013. GABA concentration and GABAergic neuron populations in limbic areas are differentially altered by brain serotonin deficiency in Tph2 knockout mice. *Histochem Cell Biol*, 139, 267-81.
- WARNER-SCHMIDT, J. L. & DUMAN, R. S. 2006. Hippocampal neurogenesis: opposing effects of stress and antidepressant treatment. *Hippocampus*, 16, 239-49.
- WATANABE, Y., GOULD, E. & MCEWEN, B. S. 1992. Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 pyramidal neurons. *Brain Res*, 588, 341-5.
- WEBER, T. 2022. Untersuchung des Einflusses verschiedener Lebenserfahrungen und unterschiedlicher Serotoninhomöostase auf die Neuromorphologie von Pyramidenzellen der CA3-Region des Hippocampus in Mäusen.
- WELLMAN, C. L., IZQUIERDO, A., GARRETT, J. E., MARTIN, K. P., CARROLL, J., MILLSTEIN, R., LESCH, K. P., MURPHY, D. L. & HOLMES, A. 2007. Impaired stress-coping and fear extinction and abnormal corticolimbic morphology in serotonin transporter knock-out mice. *J Neurosci*, 27, 684-91.
- WOOLLEY, C. S., GOULD, E. & MCEWEN, B. S. 1990. Exposure to excess glucocorticoids alters dendritic morphology of adult hippocampal pyramidal neurons. *Brain Res*, 531, 225-31.
- YANIV, S. P., ISSMAN-ZECHARYA, N., OREN-SUISSA, M., PODBILEWICZ, B. & SCHULDINER, O. 2012. Axon regrowth during development and regeneration following injury share molecular mechanisms. *Curr Biol*, 22, 1774-82.
- ZELEFSKY, J. R., FINE, H. F., RUBINSTEIN, V. J., HSU, I. S. & FINGER, P. T. 2006. Escitalopram-induced uveal effusions and bilateral angle closure glaucoma. *Am J Ophthalmol*, 141, 1144-7.
- ZHAO, Y., QUICK, M., SHI, L., MEHLER, E. L., WEINSTEIN, H. & JAVITCH, J. A. 2010. Substrate-dependent proton antiport in neurotransmitter:sodium symporters. *Nat Chem Biol*, 6, 109-16.

Appendix

I Abkürzungsverzeichnis

5-HT	5-Hydroxytryptamin, Serotonin
5-HTP	5-Hydroxytryptophan
5-HTT	Serotonintransporter(-protein)
5-Htt-Gen	Murines Serotonintransporter-Gen
5-HTT-Gen	Humanes Serotonintransporter-Gen
5-HTTLPR	Serotonin transporter-linked polymorphic region
ACTH	Adrenocorticotroic hormone (Adrenokortikotropes Hormon)
BL	Basolaterale Amygdala
CA	Cornu ammonis
CREB	cAMP response element binding protein
CRH	Corticotropin-releasing-hormone (Kortikotropin-Releasing-Hormon)
EC-Zellen	Enterochromaffine Zellen
HET	Heterozygot
HHNA	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse
KO	Knockout
LA	Laterale Amygdala
MDMA	3,4-Methylenedioxy-N-methylamphetamin
NMRI	Naval Medical Research Institute
SSRI	Selective serotonin reuptake inhibitor (selektiver Serotonin-Wiederaufnahmehemmer)
WT	Wildtyp

II Statistiktabelle

Statistiktabelle 1: Ergebnisse der statistischen Analyse des gesamten Dendritenmaterials aller Dendriten (S1a), der Apikaldendriten (S1b) und der Basaldendriten (S1c) der Genotypen WT, HET und KO der LA für die Parameter: Verzweigungspunkte, Länge, Verzweigungsdichte, Spines, Spinedichte. Ergebnisse des Wald-Chi-Quadrat-Tests und Post-hoc-Analysen der Gruppenvergleiche und paarweisen Vergleiche. Signifikanzniveau nach Bonferroni-Korrektur $p = 0,05$. Effektstärke: # entspricht Trend mit $p \leq 0,1$, * entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,05$, ** entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,01$, *** entspricht Signifikanz mit $p = 0,000$.

S1a) Laterale Amygdala WT/HET/KO							
Dendritenmaterial Gesamtheit - gesamte Dendriten							
Verzweigungspunkte	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche			
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke	
	Erfahrung		0,030	*	Verlierer vs. Kontrolle	0,030	*
	Erfahrung*Genotyp		0,097	#			
Länge (μm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche			
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke	
	Genotyp		0,023	*	WT vs. HET	0,022	*
	Erfahrung*Genotype		0,000	***	KO vs. HET	0,019	*
					Verlierer*WT vs. Kontrolle*WT	0,000	***
				Kontrolle*HET vs. Kontrolle*WT	0,098	#	
Verzweigungsdichte (/ μm^*100)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche			
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke	
	-	-	-	-	-	-	
Spines	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche			
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke	
	Genotyp		0,051	#	-	-	
	Erfahrung		0,041	*	Verlierer vs. Kontrolle	0,041	*
Spinedichte (Spines/ μm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche			
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke	
	Genotyp		0,001	**	WT vs. HET	0,001	**
	Erfahrung*Genotyp		0,001	**	Verlierer*KO vs. Verlierer*HET	0,037	*
					Verlierer*HET vs. Verlierer*WT	0,001	**

S1b) Laterale Amygdala WT/HET/KO						
Dendritenmaterial Gesamtheit - Apikaldendriten						
Verzweigungspunkte	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Erfahrung*Genotyp	0,019	*	-	-	-
Länge (µm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Erfahrung*Genotyp	0,032	*	Kontrolle*WT vs. Verlierer*WT	0,004	**
Verzweigungsdichte (/µm*100)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	-	-	-	-	-	-
Spines	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Genotyp	0,098	#	-	-	-
Spinedichte (Spines/µm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Genotyp	0,015	*	KO vs. HET	0,027	*
				WT vs. HET	0,014	*
S1c) Laterale Amygdala WT/HET/KO						
Dendritenmaterial Gesamtheit - Basaldendriten						
Verzweigungspunkte	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Erfahrung*Genotyp	0,013	*	Kontrolle*WT gg. Verlierer*WT	0,038	*
Länge (µm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Genotyp	0,001	**	WT vs. HET	0,007	**
	Erfahrung*Genotyp	0,067	#	WT vs. KO	0,036	*
			HET vs. KO	0,047	*	
Verzweigungsdichte (/µm*100)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Genotyp	0,064	#			
Spines	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Genotyp	0,023	*	WT vs. HET	0,076	#
Spinedichte (Spines/µm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Genotyp	0,003	**	WT vs. HET	0,002	**
				HET vs. KO	0,025	*

Statistiktabelle 2: Ergebnisse der Branch Order-Analyse aller Dendriten (S2a), der Apikaldendriten (S2b) und der Basaldendriten (S2c) der Genotypen WT, HET und KO der LA für die Parameter: Länge, Spines, Spinedichte. Ergebnisse des Wald-Chi-Quadrat-Tests und Post-hoc-Analysen der Gruppenvergleiche und paarweisen Vergleiche. Signifikanzniveau nach Bonferroni-Korrektur $p = 0,05$. Effektstärke: # entspricht Trend mit $p \leq 0,1$, * entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,05$, ** entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,01$, *** entspricht Signifikanz mit $p = 0,000$.

S2a) Laterale Amygdala WT/HET/KO Branch-Order-Analyse						
Branch-Order-Analyse - Gesamte Dendriten						
Länge (μm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	BranchOrder	0,000	***	HET vs. KO	0,011	*
	Genotyp	0,002	**	HET vs. WT	0,002	**
	Erfahrung*BranchOrder	0,035	*	Verlierer*HET*BranchOrder2 vs. Verlierer*WT*BranchOrder2	0,074	#
	Erfahrung*Genotyp*BranchOrder	0,011	*	Verlierer*HET*BranchOrder1 vs. Verlierer*KO*BranchOrder1	0,000	***
			Verlierer*WT*BranchOrder1 vs. Kontrolle*WT*BranchOrder1	0,000	***	
Spines	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	BranchOrder	0,000	***	HET vs. WT	0,000	***
	Genotyp	0,000	***	HET vs. KO	0,000	***
	Genotype*BranchOrder	0,000	***	Kontrolle*WT vs. Kontrolle*HET	0,006	**
	Erfahrung*Genotype	0,007	*	Verlierer*WT vs. Verlierer*HET	0,033	*
	Erfahrung*Genotype*BranchOrder	0,001	**	Verlierer*KO vs. Verlierer*HET	0,000	***
				WT*BranchOrder1 vs. HET*BranchOrder1	0,025	*
				WT*BranchOrder2 vs. HET*BranchOrder2	0,000	***
				HET*BranchOrder2 vs. KO*BranchOrder2	0,007	**
				HET*BranchOrder3 vs. KO*BranchOrder3	0,012	*
				HET*BranchOrder4 vs. KO*BranchOrder4	0,092	#
				Verlierer*KO*BranchOrder4 vs. Verlierer*HET*BranchOrder4	0,028	*
				Verlierer*HET*BranchOrder3 vs. Verlierer*KO*BranchOrder3	0,065	#
				Verlierer*KO*BranchOrder2 vs. Verlierer*HET*BranchOrder2	0,014	*
				Verlierer*HET*BranchOrder2 vs. Verlierer*WT*BranchOrder2	0,002	**
			Verlierer*WT*BranchOrder1 vs. Kontrolle*WT*BranchOrder1	0,068	#	
Spinedichte (Spines/ μm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	BranchOrder	0,000	***	HET vs. WT	0,000	***
	Genotyp	0,000	***	HET vs. KO	0,001	**
	Genotyp*BranchOrder	0,005	**	KO*BranchOrder4 vs. HET*BranchOrder4	0,044	*
	Erfahrung*Genotyp*BranchOrder	0,015	*	KO*BranchOrder3 vs. HET*BranchOrder3	0,024	*
				KO*BranchOrder2 vs. HET*BranchOrder2	0,003	**
				WT*BranchOrder3 vs. HET*BranchOrder3	0,013	*
				WT*BranchOrder2 vs. HET*BranchOrder2	0,000	***
				Verlierer*KO*BranchOrder3 vs. Verlierer*HET*BranchOrder3	0,015	*
				Kontrolle*HET*BranchOrder2 vs. Kontrolle*WT*BranchOrder2	0,000	***

S2b) Laterale Amygdala WT/HET/KO Branch-Order-Analyse							
Branch-Order-Analyse - Apikaldendriten							
Länge (μm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche			
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke	
	BranchOrder		0,000	***	-	-	-
	Erfahrung*Genotyp		0,069	#			
	Erfahrung*Genotyp*BranchOrder		0,011	*			
Spines	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche			
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke	
	BranchOrder		0,000	***	WT vs. HET	0,066	#
	Genotyp		0,005	**	KO vs. HET	0,004	**
	Erfahrung*Genotyp		0,001	**	WT*Kontrolle vs. WT*Verlierer	0,084	#
	Genotyp*BranchOrder		0,023	*			
Erfahrung*Genotyp*BranchOrder		0,003	**				
Spinedichte (Spines/ μm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche			
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke	
	BranchOrder		0,000	***	WT vs. HET	0,010	**
Genotyp		0,003	**	KO vs. HET	0,004	**	
S2c) Laterale Amygdala WT/HET/KO Branch-Order-Analyse							
Branch-Order-Analyse - Basaldendriten							
Länge (μm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche			
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke	
	BranchOrder		0,000	***	WT vs. HET	0,001	**
	Genotyp		0,001	**	KO vs. HET	0,014	*
	Erfahrung*BranchOrder		0,049	#			
Spines	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche			
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke	
	BranchOrder		0,000	***	WT vs. HET	0,000	***
	Genotyp		0,000	***	KO vs. HET	0,000	***
	Genotyp*BranchOrder		0,001	**	WT*BranchOrder1 vs. HET*BranchOrder1	0,073	#
	Erfahrung*Genotyp*BranchOrder		0,064	#	WT*BranchOrder2 vs. HET*BranchOrder2	0,000	***
					WT*BranchOrder4 vs. HET*BranchOrder4	0,092	#
				HET*BranchOrder2 vs. KO*BranchOrder2	0,014	*	
Spinedichte (Spines/ μm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche			
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke	
	BranchOrder		0,000	***	WT vs. HET	0,003	**
	Genotyp		0,003	**	KO vs. HET	0,066	#
	Erfahrung		0,019	*	Verlierer vs. Kontrolle	0,019	*
	Genotype*BranchOrder		0,006	**	WT*BranchOrder2 vs. HET*BranchOrder2	0,000	***
Erfahrung*Genotype*BranchOrder		0,065	#	KO*BranchOrder2 vs. HET*BranchOrder2	0,016	*	

Statistiktabelle 3: Ergebnisse der statistischen Analyse des gesamten Dendritenmaterials aller Dendriten (S3a), der Apikaldendriten (S3b) und der Basaldendriten (S3c) der Genotypen WT und KO der LA für die Parameter: Länge, Verzweigungsdichte, Spines, Spinedichte. Ergebnisse des Wald-Chi-Quadrat-Tests und Post-hoc-Analysen der Gruppenvergleiche und paarweisen Vergleiche. Signifikanzniveau nach Bonferroni-Korrektur $p = 0,05$. Effektstärke: # entspricht Trend mit $p \leq 0,1$, * entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,05$, ** entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,01$, *** entspricht Signifikanz mit $p = 0,000$.

S3a) Laterale Amygdala WT/KO						
Dendritenmaterial Gesamtheit - gesamte Dendriten						
Länge (μm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Erfahrung*Genotyp	0,092	#	-	-	-
Verzweigungsdichte ($/\mu\text{m} \cdot 100$)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Erfahrung	0,057	#	-	-	-
Erfahrung*Genotyp	0,033	*				
Spines	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	-	-	-	-	-	-
Spinedichte (Spines/ μm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Erfahrung*Genotyp	0,041	*	-	-	-

S3b) Laterale Amygdala WT/KO						
Dendritenmaterial Gesamtheit - Apikaldendriten						
Länge (µm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Erfahrung*Genotyp	0,007	**	Verlierer*WT vs.. Kontrolle*WT	0,000	***
Verzweigungsdichte (/µm*100)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	-	-	-	-	-	-
Spines	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Erfahrung*Genotyp	0,000	***	Verlierer*WT vs. Verlierer*KO	0,029	*
				Verlierer*KO vs. Kontrolle*KO	0,014	*
				Verlierer*WT vs. Kontrolle*WT	0,086	#
			Kontrolle*WT vs. Kontrolle*KO	0,051	#	
Spinedichte (Spines/µm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Erfahrung*Genotyp	0,067	#	-	-	-
S3c) Laterale Amygdala WT/KO						
Dendritenmaterial Gesamtheit - Basaldendriten						
Länge (µm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	-	-	-	-	-	-
Verzweigungsdichte (/µm*100)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	-	-	-	-	-	-
Spines	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Erfahrung*Genotyp	0,041	*			
Spinedichte (Spines/µm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Erfahrung*Genotype	0,034	*	-	-	-

Statistiktabelle 4: Ergebnisse der Branch Order-Analyse aller Dendriten (S4a), der Apikaldendriten (S4b) und der Basaldendriten (S4c) der Genotypen WT und KO der LA für den Parameter Spinedichte. Ergebnisse des Wald-Chi-Quadrat-Tests und Post-hoc-Analysen der Gruppenvergleiche und paarweisen Vergleiche. Signifikanzniveau nach Bonferroni-Korrektur $p = 0,05$. Effektstärke: # entspricht Trend mit $p \leq 0,1$, * entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,05$, *** entspricht Signifikanz mit $p = 0,000$.

S4a) Laterale Amygdala WT/KO Branch-Order-Analyse						
Branch-Order-Analyse - Gesamte Dendriten						
Spinedichte (Spines/ μm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	BranchOrder	0,000	***	-	-	-
	Erfahrung*Genotype*BranchOrder	0,023	*			
S4b) Laterale Amygdala WT/KO Branch-Order-Analyse						
Branch-Order-Analyse - Apikaldendriten						
Spinedichte (Spines/ μm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	BranchOrder	0,000	***	-	-	-
	Erfahrung*Genotype	0,051	#			
Erfahrung*Genotype*BranchOrder	0,086	#				
S4c) Laterale Amygdala WT/KO Branch-Order-Analyse						
Branch-Order-Analyse - Basaldendriten						
Spinedichte (Spines/ μm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	BranchOrder	0,000	***	-	-	-
	Erfahrung*Genotype*BranchOrder	0,056	#			

Statistiktabelle 5: Ergebnisse der statistischen Analyse des gesamten Dendritenmaterials der Apikaldendriten der Genotypen WT, HET und KO der CA3-Region für die Parameter: Verzweigungspunkte, Länge, Verzweigungsdichte, Spines, Spinedichte, Enden. Ergebnisse des Wald-Chi-Quadrat-Tests und Post-hoc-Analysen der Gruppenvergleiche und paarweisen Vergleiche. Signifikanzniveau nach Bonferroni-Korrektur $p = 0,05$. Effektstärke: # entspricht Trend mit $p \leq 0,1$, * entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,05$, ** entspricht Signifikanz mit $p \leq 0,01$, *** entspricht Signifikanz mit $p = 0,000$.

S5) CA3 Dendritenmaterial Gesamtheit						
Verzweigungspunkte	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Erfahrung * Genotyp	0,001	**	Verlierer*WT vs. Kontrolle*WT	0,024	*
				Kontrolle*HET vs. Kontrolle*WT	0,050	*
Länge (µm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Erfahrung	0,002	**	Verlierer vs. Kontrolle	0,002	**
	Genotyp	0,088	#	Verlierer*WT vs. Kontrolle*WT	0,000	***
Verzweigungsdichte (µm*100)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Erfahrung	0,085	#	-	-	-
	Erfahrung * Genotyp	0,088	#			
Spines	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	-	-	-	-	-	-
Spinedichte (Spines/µm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Erfahrung	0,015	*	Verlierer vs. Kontrolle	0,015	*
	Genotyp	0,000	***	KO vs. HET	0,072	#
	Erfahrung * Genotyp	0,009	**	KO vs. WT	0,000	***
				HET vs. WT	0,063	#
				Verlierer*HET vs. Verlierer*WT	0,052	#
				Verlierer*HET vs. Kontrolle*HET	0,000	***
				Kontrolle*KO vs. Kontrolle*HET	0,002	**
			Kontrolle*KO vs. Kontrolle*WT	0,007	**	
Enden	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Erfahrung * Genotyp	0,002	**	Verlierer*WT vs. Kontrolle*WT	0,028	*

S6b)		CA3 Sholl-Analyse				
Länge (μm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Radius	0,000	***	Verlierer*WT vs. Verlierer*KO	0,014	*
	Erfahrung*Genotyp	0,042	*	Verlierer*WT vs. Verlierer*HET	0,041	*
	Erfahrung*Genotyp*Radius	0,019	*	Verlierer*WT vs. Kontrolle*WT	0,005	**
				Verlierer*KO*330 vs. Verlierer*WT*330	0,022	*
				Verlierer*KO*300 vs. Verlierer*WT*300	0,073	#
				Verlierer*KO*270 vs. Verlierer*WT*270	0,031	*
				Verlierer*KO*240 vs. Verlierer*WT*240	0,033	*
				Verlierer*KO*210 vs. Verlierer*WT*210	0,017	*
				Verlierer*KO*180 vs. Verlierer*WT*180	0,063	#
				Verlierer*KO*150 vs. Verlierer*WT*150	0,045	*
				Verlierer*KO*90 vs. Kontrolle*KO*90	0,088	#
				Verlierer*HET*270 vs. Verlierer*WT*270	0,080	#
				Verlierer*HET*240 vs. Verlierer*WT*240	0,065	#
				Verlierer*HET*150 vs. Verlierer*WT*150	0,076	#
				Verlierer*HET*60 vs. Kontrolle*HET*60	0,025	*
				Verlierer*WT*270 vs. Kontrolle*WT*270	0,005	**
				Verlierer*WT*240 vs. Kontrolle*WT*240	0,000	***
				Verlierer*WT*210 vs. Kontrolle*WT*210	0,001	**
			Verlierer*WT*180 vs. Kontrolle*WT*180	0,014	*	
			Verlierer*WT*150 vs. Kontrolle*WT*150	0,003	**	
			Verlierer*WT*120 vs. Kontrolle*WT*120	0,015	*	
			Verlierer*WT*90 vs. Kontrolle*WT*90	0,076	#	
Verzweigungsdichte (μm^*100)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Radius	0,000	***	KO vs. WT	0,006	**
	Genotyp	0,018	*	KO vs. HET	0,095	#
Spines	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Radius	0,000	***	-	-	-
	Erfahrung*Genotyp	0,068	#			
Erfahrung*Genotyp*Radius	0,076	#				

S6c)		CA3 Sholl-Analyse				
Spinedichte (Spines/ μm)	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Radius	0,000	***	Kontrolle*HET vs. Verlierer*HET	0,016	*
	Genotyp*Radius	0,067	#			
	Erfahrung*Genotyp	0,033	*	Kontrolle*KO vs. Kontrolle*HET	0,005	**
	Erfahrung*Genotyp*Radius	0,008	*	KO*Verlierer*360 vs. WT*Verlierer*360	0,076	#
				KO*Verlierer*60 vs. HET*Verlierer*60	0,027	**
				HET*Verlierer*300 vs. HET*Kontrolle*300	0,005	**
				HET*Verlierer*270 vs. HET*Kontrolle*270	0,003	**
				HET*Verlierer*240 vs. HET*Kontrolle*240	0,037	*
				HET*Verlierer*210 vs. HET*Kontrolle*210	0,016	*
				HET*Verlierer*150 vs. HET*Kontrolle*150	0,042	*
				HET*Verlierer*120 vs. HET*Kontrolle*120	0,062	#
				HET*Verlierer*90 vs. HET*Kontrolle*90	0,019	*
				HET*Verlierer*60 vs. HET*Kontrolle*60	0,042	*
				HET*Verlierer*360 vs. WT*Verlierer*360	0,051	#
			HET*Verlierer*330 vs. WT*Verlierer*330	0,070	#	
			HET*Verlierer*90 vs. WT*Verlierer*90	0,066	#	
			HET*Verlierer*60 vs. WT*Verlierer*60	0,090	#	
Enden	Wald-Chi-Quadrat-Test			Gruppenvergleiche und paarweise Vergleiche		
	Effekt	p-Wert	Effektstärke	Vergleich	p-Wert	Effektstärke
	Radius	0,000	***	Verlierer*90 vs. Kontrolle*90	0,003	**
	Erfahrung*Radius	0,007	**	Verlierer*180 vs. Kontrolle*180	0,093	#
	Erfahrung*Genotyp	0,015	*	Verlierer*300 vs. Kontrolle*300	0,021	*
				Verlierer*HET vs. Kontrolle*HET	0,086	#
				Verlierer*WT vs. Kontrolle*WT	0,016	*
				Kontrolle*HET vs. Kontrolle*KO	0,025	*
			Kontrolle*WT vs. Kontrolle*HET	0,000	***	

III Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Repräsentative Abbildung der lateralen Amygdala und des Hippocampus in einem Schnittpräparat nach Golgi-Cox-Färbung	19
Abbildung 2: Repräsentative Aufnahme eines pyramidenzellähnlichen Neurons der lateralen Amygdala..	20
Abbildung 3: Repräsentative Aufnahme einer Pyramidenzelle der CA3-Region.....	22
Abbildung 4: Darstellung der unterschiedlichen Spine-Typen.....	24
Abbildung 5: Schematische Darstellung der Branch Order- und der Sholl-Analyse.....	25
Abbildung 6: Analyse verschiedener morphologischer Parameter von Dendriten der pyramidenzellähnlichen Neurone der lateralen Amygdala im Gehirn von 5-HTT-WT, -HET- und -KO-Mäusen mit und ohne Verlierererfahrung.....	32
Abbildung 7: Branch Order-Analyse verschiedener morphologischer Parameter von Dendriten der pyramidenzellähnlichen Neurone der lateralen Amygdala im Gehirn von 5-HTT-, -HET- und -KO-Mäusen mit und ohne Verlierererfahrung.....	38
Abbildung 8: Analyse verschiedener morphologischer Parameter von Dendriten der pyramidenzellähnlichen Neurone der lateralen Amygdala im Gehirn von 5-HTT-WT und -KO-Mäusen mit und ohne Verlierererfahrung	43
Abbildung 9: Branch Order-Analyse des morphologischen Parameters Spinedichte der Dendriten der pyramidenzellähnlichen Neurone der lateralen Amygdala im Gehirn von 5-HTT-WT und -KO-Mäusen mit und ohne Verlierererfahrung	45
Abbildung 10: Analyse verschiedener morphologischer Parameter von Apikaldendriten der Pyramidenzellen der CA3-Region im Gehirn von 5-HTT-WT, -HET-, und -KO-Mäusen mit und ohne Verlierererfahrung.....	49
Abbildung 11: Sholl-Analyse verschiedener Parameter von Apikaldendriten der Pyramidenzellen der CA3-Region im Gehirn von 5-HTT-WT, -HET-, und -KO-Mäusen mit und ohne Verlierererfahrung	58

IV Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht der Größe und Zusammensetzung der experimentellen Gruppen, untergliedert nach 5-Htt-Genotyp und der von den Mäusen gemachten Erfahrung (Kontrolle oder Verlierer). WT, Wildtyp; HET, Heterozygote; KO, Knockout.....	17
Tabelle 2: Anzahl rekonstruierter Neurone	23
Tabelle 3: Die für die Analyse der Gesamtdendriten der Branch Order- und der Sholl-Analyse erhobenen Parameter	26

Statistiktabelle 1: Ergebnisse der statistischen Analyse des gesamten Dendritenmaterials aller Dendriten (S1a), der Apikaldendriten (S1b) und der Basaldendriten (S1c) der Genotypen WT, HET und KO der LA für die Parameter: Verzweigungspunkte, Länge, Verzweigungsdichte, Spines, Spinedichte

Statistiktabelle 2: Ergebnisse der Branch Order-Analyse aller Dendriten (S2a), der Apikaldendriten (S2b) und der Basaldendriten (S2c) der Genotypen WT, HET und KO der LA für die Parameter: Länge, Spines, Spinedichte

Statistiktabelle 3: Ergebnisse der statistischen Analyse des gesamten Dendritenmaterials aller Dendriten (S3a), der Apikaldendriten (S3b) und der Basaldendriten (S3c) der Genotypen WT und KO der LA für die Parameter: Länge, Verzweigungsdichte, Spines, Spinedichte

Statistiktabelle 4: Ergebnisse der Branch Order-Analyse aller Dendriten (S4a), der Apikaldendriten (S4b) und der Basaldendriten (S4c) der Genotypen WT und KO der LA für den Parameter Spinedichte

Statistiktabelle 5: Ergebnisse der statistischen Analyse des gesamten Dendritenmaterials der Apikaldendriten der Genotypen WT, HET und KO der CA3-Region für die Parameter: Verzweigungspunkte, Länge, Verzweigungsdichte, Spines, Spinedichte, Enden

Statistiktabelle 6: Ergebnisse der Sholl-Analyse der Apikaldendriten der Genotypen WT, HET und KO der CA3-Region für die Parameter: Schnittpunkte, Verzweigungspunkte (S6a), Länge, Verzweigungsdichte, Spines (S6b), Spinedichte, Enden (S6c)

