
**AUSWIRKUNGEN EINES DEFIZITS DES NEURONALEN
ZELLADHÄSIONSMOLEKÜLS (*NCAM*)
IM TELENCEPHALON AUF
LERNEN, GEDÄCHTNIS UND INDIVIDUALITÄT
BEI EINER GENTECHNISCH VERÄNDERTEN
LABORMAUS**

Nikolas Fentrop

Dissertation an der Universität Hamburg, Deutschland, 2003

German with English summary

© **Nikolas Fentrop**

Email: nikolas@fentrop.com

Verlag: **Litis Press Publishers**, München 2003
1. Auflage 10/2003
246 Seiten, 70 s/w Abbildungen, 99 Tabellen
Email: info@litispress.com

ISBN 0-9751285-1-5

Elektronische Version

zum Download vorhanden / to be downloaded for free

www.fentrop.com/nikolas/publications



Die **gedruckte und gebundene Ausgabe** mit der **ISBN 0-9751285-0-7** (inhaltlich identisch mit der elektronischen Version) kann im Buchhandel oder direkt bei **Litis Press Publishers** vertrieb@LitisPress.com bestellt werden.

The **printed version** may be ordered through bookstores or directly at **Litis Press Publishers** vertrieb@LitisPress.com with **ISBN 0-9751285-0-7**

Bibliografische Angaben: Fentrop, N. (2003), Auswirkungen eines Defizits des Neuronalen Zelladhäsionsmoleküls (*NCAM*) im Telencephalon auf Lernen, Gedächtnis und Individualität bei einer gentechnisch veränderten Labormaus, *Litis Press Publishers*, München.

Zusammenfassung

Auf der Hypothese aufbauend, daß Lern- und Gedächtnisphänomene auf Veränderungen der synaptischen Plastizität basieren, sollte geklärt werden, ob das Neuronale Zelladhäsionsmolekül (*NCAM*) an der Bildung von Langzeit- bzw. räumlichem Gedächtnis beteiligt ist. Für die Verhaltensuntersuchungen wurde ein gentechnisch veränderter Mausstamm eingesetzt, dessen konditionale *knock-out* (*ko*) - Mäuse ab der dritten postnatalen Woche im *Telencephalon* weniger *NCAM* exprimierten als die *wild-type* (*wt*) -Kontrollmäuse (nachweislich etwa 90% Reduktion im Hippokampus und geringere Reduktion im Neokortex).

Die Tiere wurden einzeln unter inversem Lichtrhythmus gehalten und in der Dunkelphase getestet. Die männlichen *ko*-Mäuse ($n = 16$) und deren männliche *wt*-Nestgeschwister ($n = 15$) durchliefen während eines Zeitraumes von 80 Tagen folgende Testserie: (I) am Tag 1 ein **Open field-Test** (Explorationstest), (II) am Tag 3 ein **Hell-Dunkel-Meidetest** (Test auf lichtinduziertes "angstähnliches" Verhalten), (III) vom Tag 21 bis 54 eine **Morris water maze-Testreihe** (schwimmende Suche nach einer unter der Wasseroberfläche verborgenen, ortskonstanten Zielplattform mit ausschließlich distalen visuellen Landmarken zur Orientierung), (IV) am Tag 76 ein dem Tag 1 identischer **Open field-Test**, und (V) am Tag 80 ein **Open field-Test** in einer runden statt quadratischen Arena.

Es konnten keine signifikanten Unterschiede in **allgemeinen Verhaltensparametern** zwischen den beiden Mäusegruppen nachgewiesen werden, die Hinweise auf unterschiedliche Voraussetzungen für die Bewältigung der Lern- und Gedächtnistests oder unterschiedliche Verhaltensstrategien hätten geben können (u.a. Körpergewicht, Defäkation oder Urinlachen). Ebenso unterschieden sich die *ko*- und *wt*-Mäuse im Hell-Dunkel-Meidetest für **angstähnliches Verhalten** nicht signifikant in der vorhandenen Präferenz des dunklen Quadranten oder in der Aktivitätsverteilung auf die Hell- und Dunkelzonen.

Die lokomotorische **Aktivität** der *ko*-Mäuse war (entsprechend den Erwartungen aufgrund von Ergebnissen von Hippokampus-funktionsgestörten *Rodentia*) in den *Open field*-Tests und dem Hell-Dunkel-Meidetest signifikant höher als die der *wt*-Mäuse. Sie legten zwischen 36 % und 80 % mehr Strecke zurück und besuchten die einzelnen Zonen der Arenen häufiger.

Die Analyse des **Explorationsverhaltens** ergab, daß die Mäuse beider Genotypengruppen die runde Arena in den ersten 5 min nicht flächenproportional abliefen. Sie legten mehr Strecke auf der max. 5 bis 10 cm von der Wand entfernten Fläche zurück, was jedoch über eine Expositionszeit von 20 min nicht mehr nachweisbar war. Dagegen verbrachten die Mäuse in den 20 min die Hälfte der Zeit, in der sie sich fortbewegten, auf etwa einem Drittel der randnahen Fläche. Bezüglich der prozentualen Verteilung der Aktivitäten auf die Zonen der *Open field*-Testarenen wurden signifikante Explorationsunterschiede zwischen den *ko*- und *wt*-Mäusen gefunden. Die *ko*-Mäuse waren im Vergleich zu den *wt*-Mäusen in der Regel weiter von der **Wand** entfernt, sie **besuchten** die Zonen zum Zentrum hin häufiger, **hielten** sich länger in der Zwischen- als in der Randzone auf und legten dort mehr **relative Strecke** (Verhältnis der Zonen- zur Gesamtstrecke) zurück. Auch waren die *ko*-Mäuse im zeitlichen Verlauf der Tests länger oder früher näher zur Mitte hin aktiv. Dagegen waren alle Mäuse in der Randzone am langsamsten und wurden graduell bis ins Zentrum hin rund 50 % schneller.

Die Lern- und Gedächtnisleistungen der Mäuse wurden in drei Komplexen untersucht: (1) Habituationsphänomene, (2) individuelle Verhaltenskonsistenz als Ausdruck von allgemeiner Erfahrungsspeicherung und (3) Gedächtnis für eine räumliche Konstellation im *Morris water maze*-Test.

Die Mäuse habituierten in den drei *Open field*-Tests sowohl im **Kurzzeitbereich** (innerhalb eines Tests) als auch im **Langzeitbereich** (zwischen zwei Tests), was sich in der Verringerung der zurückgelegten Strecke zeigte. Die Geschwindigkeit verringerten sie signifikant nur im Kurzzeitbereich. In keiner dieser Variablen ließ sich ein signifikanter Unterschied zwischen den *ko*- und *wt*-Mäusen nachweisen.

Individuelle Konsistenz in Verhaltensweisen wurde als individuell gleichbleibende Reaktion (nicht absolut, sondern im Verhältnis zur Reaktion der weiteren Tiere der Gruppe) auf wiederkehrende Stimuli gemessen. Jeweils im Vergleich von zwei Tests wurden die individuellen Werte aller Mäuse pro Variable innerhalb ihres Genotyps korreliert (*Pearson*-Korrelation). Ebenso wurden die Habitationskurven (Kurvenverläufe) auf ihre Konsistenz hin untersucht.

Im **kurzfristigen Bereich** korrelierten jeweils die Variablen Strecke und Geschwindigkeit und die Anzahl der Besuche bei *ko*- und *wt*-Mäusen mittel ($r \geq 0.50$) bis stark ($r \geq 0.80$), wenn die Tests einige Tage (*Open field*-Test

und Hell-Dunkel-Meidetest = Trockentests), bzw. einige Tage bis zu 3 Wochen (*Morris water maze*-Test = Naßtest) auseinander lagen. Die Korrelationen waren unabhängig vom Testtyp (*Open field*-Test oder Hell-Dunkel-Meidetest), unabhängig von der Arenaform (quadratisch oder rund) und unabhängig von dem Neuigkeitswert des Tests. Dagegen waren zwischen den beiden Testtypen Trocken- und Naßtest fast keine Korrelationen nachzuweisen.

Im **längerfristigen Bereich** von 10 Wochen blieben die mittleren bis starken Korrelationen bei den *ko*-Mäusen erhalten, nicht aber bei den *wt*-Mäusen. Die vergleichende Analyse der individuellen Habituationkurven in zwei identischen *Open field*-Tests, die 79 Tage auseinanderlagen, ergaben größere Übereinstimmungen bei den *ko*- als bei den *wt*-Mäusen und mittlere Korrelationen nur bei den *ko*-, nicht aber bei den *wt*-Mäusen.

Im *Morris water maze*-Test für **räumliches Gedächtnis** unterschieden sich die *ko*- und *wt*-Mäuse in der Lernkurve der Latenz zur Plattform während der Lernphase (nur Lernläufe mit Plattform) nicht signifikant voneinander. Dagegen hielten sich die *ko*-Mäuse während ihrer Plattformsuche statistisch tendenziell erst einige Tage später ebenso nah an der Zielplattform auf wie die *wt*-Mäuse. Als die Plattform verkleinert wurde, benötigten die *ko*-Mäuse mehr Zeit als die *wt*-Mäuse, um die Plattform zu erreichen. In den anschließenden Testläufen auf räumliches Suchverhalten (ohne Plattform) nach einer bzw. 65 Stunden schwammen die *ko*- und die *wt*-Mäuse in exklusiver räumlicher Nähe zur Zielplattform (exklusiv: im Vergleich zu drei weiteren rädialsymmetrisch angeordneten virtuellen Plattformen). In einem weiteren Testlauf nach 22 Tagen Schwimmpause und ebenso nach einer Umlernphase auf eine neue Plattformposition war für die *ko*-Mäuse keine signifikante räumliche Präferenz mehr nachzuweisen. Die *wt*-Mäuse zeigten dagegen eine, wenn auch verminderte, räumliche Präferenz für die Ziel- im Vergleich mit der *Visavis*-Plattform.

Es gab keine Unterschiede zwischen den *ko*- und *wt*-Mäusen hinsichtlich der **Navigationsstrategie** oder der genutzten **Orientierungshilfen**. Die Mäuse beider Gruppen schwammen nach umgehängten distalen visuellen Landmarken nicht an den Ort, auf den diese verwiesen. Vermutlich waren die umgehängten Landmarken in Kombination mit weiteren im Raum vorhandenen und nicht kontrollierten konstanten Landmarken von den Mäusen wegen der widersprüchlichen Ortsweisung nicht nutzbar. Erst als die distalen visuellen Landmarken entfernt waren, hielten sie sich in exklusiver räumlicher Nähe zur Zielplattform auf, nutzten also andere Landmarken. In unterschiedlichen Läufen ohne oder nur mit anfänglichem Licht schwammen die Mäuse nicht signifikant in der Nähe der Plattformposition, und die Latenz zur Plattform verbesserte sich nicht, was auf die ausschließliche Nutzung visueller Informationen deutet.

Es konnten keine signifikanten **motivationalen oder sensomotorischen** Unterschiede oder Unterschiede in der **Verhaltensstrategie** zwischen den *ko*- und *wt*-Mäusen nachgewiesen werden (u.a. Thigmotaxis, Sich-treibenlassen, Latenz zur markierten Plattform oder Schwimmstrecke während der Plattformsuche).

Zusammengefaßt konnte nicht bestätigt werden, daß die *NCAM*-defizitären *ko*-Mäuse ein vor allem im räumlichen Bereich deutlich eingeschränktes Langzeitgedächtnis haben. Es wurden jedoch subtile Einschränkungen in der kurz- und längerfristigen Suchpräzision, ein verändertes, mehr zur Mitte hin orientiertes Explorationsverhalten und eine längerfristige Konsistenz in der individuellen Verhaltensanpassung nachgewiesen.

Die individuelle Verhaltenskonsistenz aller Mäuse in gleichen oder ähnlichen aber nicht in sehr unterschiedlichen Testsituationen bestätigt das "Interaktionistische Individualitätsmodell" (Magnusson & Endler 1977, S. 4). Für die *wt*-Mäuse wurde eine zeitlich begrenzte Verhaltenskonsistenz nachgewiesen, und es kann von einem zeitabhängigen natürlichen Verlust der Verhaltenskonsistenz ausgegangen werden. Das Vorhandensein von *NCAM* scheint eine Rolle bei der Veränderung der Verhaltensindividualität von Mäusen in reaktiven Variablen (hier Strecke und Geschwindigkeit), möglicherweise aufgrund von Lern- und Gedächtnisdefiziten, zu spielen.

Insgesamt lassen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit vermuten, daß bei den *ko*-Mäusen eine von einem *NCAM*-Defizit begleitete eingeschränkte synaptische Plastizität vorliegt, die zu eingeschränkter Verhaltensanpassung (= Verhaltensstarrheit) führt. Da bei den *ko*-Mäusen auf unterschiedlichen organismischen Integrationsebenen kompensatorische Effekte aufgrund des reduzierten *NCAM* angenommen werden müssen, ist keine unmittelbare Kausalität zwischen *NCAM* und den Verhaltensabweichungen zu erwarten. Mit Hilfe des konditionalen *NCAM-ko* Mäusestammes ließen sich künftig die zellulären Mechanismen von langfristiger Verhaltenskonsistenz bzw. -starrheit näher untersuchen.

Stichwörter: *NCAM*, Maus, Verhalten, Lernen, Gedächtnis, Konsistenz, Individualität, *Morris water maze*, Testbatterie