

Neuronale Grundlagen von Antrieb und Antriebshemmung bei *Drosophila melanogaster*



JOHANNES GUTENBERG
UNIVERSITÄT MAINZ

Dissertation
zur Erlangung des Grades
"Doktor der Naturwissenschaften"

Fachbereich Biologie der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

vorgelegt von Ariane-Saskia Ries
geboren in Mainz

Mainz, im Mai 2016

1.Berichterstatter:

2.Berichterstatter:

Tag der mündlichen Prüfung: 11. Mai 2016

"Life permanently confronts us with genuinely new situations. Thus, behavior must be creative to have success."

M. Heisenberg

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Motivation: allgemeine Definition des Phänomens	1
1.1.1	Motivation: Experimentelle Analysen und Definition bei Mensch und Tier	2
1.1.2	Motivation: Experimentelle Analysen zu Belohnung in <i>Drosophila</i>	3
1.2	Der Pilzkörper in <i>Drosophila</i>	4
1.2.1	Aufbau und Funktion des Pilzkörpers	4
1.2.2	Wahrnehmung von Düften in <i>Drosophila melanogaster</i>	6
1.3	Depression: allgemeine Definition des Phänomens	8
1.3.1	Behandlung von Depression	9
1.4	Tiermodelle der Depression: Schwerpunkt Learned Helplessness.....	11
1.4.1	Learned Helplessness in <i>Drosophila</i>	13
1.5	Serotonin	15
1.5.1	Serotonin in <i>Drosophila</i>	17
1.6	<i>Drosophila melanogaster</i> : Bedeutung als wissenschaftlicher Modellorganismus.....	18
1.6.1	Genetische Werkzeuge bei <i>Drosophila melanogaster</i>	20
1.6.2	Kletterverhalten bei <i>Drosophila melanogaster</i>	22
1.6.3	Erlernte Balzkonditionierung in <i>Drosophila melanogaster</i>	25
1.6.3.1	Lernen und Gedächtnis in <i>Drosophila</i> : Molekulare Mechanismen.....	27
1.6.3.2	Neuropeptid F in der Balzfrustration – Homolog zu dem humanen Neuropeptid Y.....	28
1.7	Zielsetzung.....	31
2	Material und Methode	32
2.1	Material	32
2.1.1	Geräte.....	32
2.1.2	Lösungen	33
2.1.3	Antikörper	33
2.1.4	Medien/Lösungen	34
2.1.5	Chemikalien.....	35
2.1.6	Fliegenstämme.....	36
2.2	Methoden.....	38
2.2.1	Aufzucht und Haltung	38
2.2.2	Kreuzungen	38

2.2.3	Vor- und Nachbereitungen der Versuche	38
2.2.4	Verfütterung von Chemikalien.....	39
2.2.5	Ablation der Pilzkörper	40
2.2.6	Erzeugung eines depressionsartigen Zustands durch Vibrationen	40
2.2.6.1	Zeitachse in der Depression	43
2.2.7	Verhaltensexperimente	44
2.2.7.1	Kletterparadigma.....	44
2.2.7.2	Buridan'sches Paradigma	45
2.2.7.3	Klassisches Balzparadigma.....	47
2.2.7.4	Schnelle Phototaxis.....	48
2.2.7.5	Duftpräferenz Paradigma	50
2.2.7.6	Modifikationen des Kletterparadigmas.....	52
2.2.8	Histologie	54
2.2.8.1	Autofluoreszenz-Paraffinschnitte.....	54
2.2.8.2	<i>Whole-mount</i> Präparation und immunhistochemische Färbung von adulten <i>Drosophila</i> Gehirnen.....	56
2.2.9	Statistik.....	57
3	Ergebnisse	58
3.1	Beeinflussung des Kletterverhaltens durch externe Reize	58
3.1.1	Einfluss visueller, externer Reize	59
3.1.2	Einfluss olfaktorischer, externer Reize	60
3.1.3	Einfluss durch die Kombination aus olfaktorischem und visuellem Reiz	63
3.1.4	Einflusses der Pilzkörper auf das Duftpräferenzverhalten von <i>Drosophila melanogaster</i>	64
3.1.4.1	Überprüfung der Pilzkörper-Ablation durch neuroanatomische Präparate ..	67
3.1.5	Rolle der Pilzkörper beim Beeinflussen des Kletterverhaltens durch externe, motivierende Reize.....	69
3.1.5.1	Modulation des motivierenden Einflusses von externen, olfaktorischen Reizen durch distinkte Pilzkörper-Loben in <i>Drosophila</i>	70
3.1.5.2	Modulation des motivierenden Einflusses von externen, visuellen Reizen durch distinkte der Pilzkörper-Loben in <i>Drosophila</i>	73
3.1.5.3	Konditionale Unterbrechung der der chemischen Ausgangssynapsen von Pilzkörperneuronen	77
3.1.5.4	Aktivierung von Pilzkörperneuronen.....	80
3.1.6	Kletterverhalten mit motivierenden Landmarken und gleichzeitiger Überexpression des Neuromodulators Neuropeptid F (NPF)	82

3.2	Erzeugung eines depressionsähnlichen Zustands in <i>Drosophila melanogaster</i> .	84
3.2.1	Charakterisierung eines depressionsähnlichen Verhaltens von <i>Drosophila</i> als Antwort auf wiederkehrende Stressreizung	84
3.2.2	Unterschiede des depressionsähnlichen Zustandes von <i>Drosophila</i> zu der erlernten Balzfrustration	92
3.2.3	Einfluss des Neurotransmitters Serotonin (5-HT) auf das depressionsähnliche Verhalten von <i>Drosophila</i>	101
3.2.4	Untersuchung der Rolle der Pilzkörper in dem depressionsartigen Verhalten von <i>Drosophila melanogaster</i>	109
3.2.5	Untersuchung der Rolle der Serotoninrezeptoren 5HT-1A und 5HT-1B in den Pilzkörpern für das depressionsartige Verhalten von <i>Drosophila melanogaster</i> .	119
3.2.6	Die Auswirkung von Lithium auf das depressionsartige Verhalten von <i>Drosophila melanogaster</i>	131
4	Diskussion	134
4.1	Manipulation der extrinsischen Motivation von <i>Drosophila melanogaster</i> und Quantifizierung im Kletterverhalten	134
4.2	Charakterisierung eines depressionsähnlichen Verhaltens von <i>Drosophila</i> als Antwort auf konstante Stressreizung	144
4.2.1	Verhaltensanalyse von <i>Drosophila</i> bei unkontrollierbaren Vibrationsreizen	144
4.2.2	Vergleich zwischen dem depressionsartigen Verhalten und dem nach erlernter Balzkonditionierung erzeugten Frustrationszustand in <i>Drosophila</i> .	150
4.2.3	Auswirkung von Serotonin auf den depressionsartigen Verhaltensphänotyp	153
4.2.4	Rolle der serotonergen Neurone der Pilzkörper im depressionsartigen Verhalten von <i>Drosophila melanogaster</i>	156
4.2.5	Rolle der Serotoninrezeptoren 5HT-1A und 5HT-1B im depressionsartigen Verhalten von <i>Drosophila melanogaster</i>	158
4.2.6	Ein Modell für das Depressionsverhalten in <i>Drosophila melanogaster</i>	162
4.3	Die Wirkung von Lithium im Depressionszustand von <i>Drosophila melanogaster</i>	170
5	Zusammenfassung	173
5.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	173
5.2	Summary	175
6	Verzeichnis	177

6.1	Literaturverzeichnis.....	177
6.2	Abkürzungsverzeichnis.....	200
6.4	Abbildungsverzeichnis.....	203
6.5	Tabellenverzeichnis.....	206
7	Anhang.....	I
7.1	Abbildungen.....	I
7.2	Statistische Auswertung der Ergebnisse.....	VI

1 Einleitung

1.1 Motivation: allgemeine Definition des Phänomens

"Die Motivation ist die durch das Erkennen hindurchgehende Kausalität." (A. SCHOPENHAUER, 2014)

Motivation ist eine Art Triebkraft für Verhalten, die hinsichtlich ihres Niveaus und ihrer Orientierung stark variieren kann, je nach Art des Bedürfnisses, das befriedigt werden soll oder der erwarteten Belohnung. Eine garantierte Verhaltensreaktion in Bezug auf Motivation gibt es nicht, aber für viele Verhaltensweisen ist sie erforderlich (BEAR M. et al., 2009).

Grundlegende Konzepte der Motivationsforschung sind die intrinsische und extrinsische Motivation. Die intrinsische Motivation ist definiert durch selbstbestimmte, von inhärenten Bedürfnissen geleitete Taten. Dieses Verhalten ist spontan und wird größtenteils durch Faktoren wie Neugierde, Wissensdurst, Kreativität und Interesse ausgelöst. Erwartete Konsequenzen spielen dabei keine größere Rolle, es wird nicht aufgrund von äußerem Ansporn, Belohnung oder Bestrafung ausgeführt. Grundlegend für die Beschreibung des Phänomens der intrinsischen Motivation war die Beobachtung in Tierversuchen, dass viele Lebewesen erforschende, spielerische und von Neugierde getriebene Verhaltensweisen zeigen, die der Suche nach neuen Ressourcen oder dem Trainieren neuer motorischer Abläufe dienen, auch wenn ihnen keine unmittelbare Belohnungen in Aussicht gestellt werden (WHITE R., 1959). Es lässt sich demnach feststellen, dass bei einer intrinsisch motivierten Handlung die Belohnung in der eigentlichen Tat an sich enthalten ist. Zudem ist die intrinsische Motivation auch als ein sehr individueller, spezieller Prozess anzusehen, da verschiedene Individuen Aufgaben und Verhalten ganz unterschiedlich bewerten und bevorzugen.

Dominierend in typischen Verhaltensmustern und Handlungsweisen kann in Abhängigkeit der Reizung die extrinsische Motivation sein. Sie bildet einen Kontrast zu der intrinsischen Motivation, denn bei dieser Art steht das Verhalten in direktem Bezug zu einem Resultat oder einer erwarteten Auswirkung. Handlungen, die mit extrinsischer Motivation erfolgen, haben immer ein direktes Ziel und dienen als förderliches Mittel zu einem mehr oder weniger präzise definierten Zweck (RYAN R. UND DECI E., 2000). Einerseits wird dadurch die Befriedigung natürlicher Bedürfnisse erreicht, beispielsweise Hunger, Durst oder Fortpflanzung. Andererseits lassen sich, vor allem für menschliches Verhalten, auch Ziele wie Integration, Introjektion, Selbstverständnis und direkte Bestimmung eines Individuums klassifizieren. Integration beinhaltet gesellschaftliche Anerkennung, Akzeptanz sowie Macht, Introjektion bedeutet eine teilweise unbewusste Verinnerlichung anerkannter Normen und Regeln eines sozialen Gefüges, Selbstverständnis beschreibt die Bewertung eines Selbstbildes mit persönlich gesetzten Erwartungen und Vorstellungen und die direkte Bestimmung ist gleichzusetzen mit einer erwarteten Belohnung oder Bestrafung (CORNWELL J.

et al., 2014). Insbesondere beim Menschen lassen sich viele nicht-vegetative Faktoren charakterisieren, die das Verhalten beeinflussen, wie das Streben nach Geld, Ruhm, Sicherheit, Schönheit und Luxus (SCHULTZ W., 2006).

1.1.1 Motivation: Experimentelle Analysen und Definition bei Mensch und Tier

Der Grundstein für die neurowissenschaftliche Erforschung des cerebralen Motivations- und Belohnungssystems wurde 1954 von OLDS und MILNER gelegt. Sie dokumentierten erstmals, dass Laborratten gewisse Verhaltensweisen – wie das Drücken eines Hebels – dauerhaft wiederholten, wenn die Gehirnregion des Septums über eine implantierte Elektrode durch leichte Stromschläge stimuliert wurde. Sie schlossen daraus, dass sich über die künstliche Stimulation in der unmittelbaren Nähe dieser Gehirnregion die natürlich auftretende Belohnung ersetzen ließe (OLDS J. UND MILNER P., 1954). Nach intensiver Forschung und auf der Basis zahlreicher Tests erfolgte eine detaillierte Darstellung der Anatomie des Belohnungssystems. Es wird als das mesocortiko- limbische dopaminerge Belohnungssystem bezeichnet, da der Neurotransmitter Dopamin eine zentrale Rolle einnimmt. Strukturell hat der Nucleus accumbens eine maßgebliche Funktion in diesem Belohnungssystem, weitere beteiligte Gehirnstrukturen sind Tegmentum, Substantia nigra, Striatum, Amygdala, sowie der Hippocampus (ALCARO A. et al., 2007). Über einen längeren Zeitraum galt dabei das mesolimbische Dopamin als der Neurotransmitter des Genusses und des Lustgewinns; diese Ansicht wurde allerdings in den 90iger Jahren durch detaillierte Studien in Frage gestellt und die Definition des Belohnungssystems erweitert (BERRIDGE K., 1996). Es erfolgte eine Aufspaltung in die Komponenten "Bedürfnis" und "Gefallen", da sich in Studien herausstellte, dass bei einigen Probanden ein starkes Verlangen nicht immer mit Genuss verknüpft war. Das mesolimbische System kann somit keine Empfindung des "Mögens" hervorrufen, es kann nur ein starkes Bedürfnis vermitteln, ohne dass dessen Befriedigung mit einem sukzessiven Lustgewinn verbunden sein muss (BERRIDGE K., 2007). Eine wichtige Rolle bei der Empfindung dieses "Bedürfnis" bei dem die Komponente "Mögen" nicht angesprochen wird, spielt das dorsale Neostriatum. Der Bereich des medialen dorsalen Striatums umfasst Neurone, die auf Essensaufnahme reagieren und ist reich an μ -Opioid-Rezeptoren (DAUNAS J. et al., 2001). Die Freisetzung des μ -Opioids im medialen dorsalen Neostriatum kann die Motivation zum Konsum von sensorischen Belohnungen (beispielsweise Futter) vermitteln und generieren, ohne dass die hedonische Wirkung des "Mögens" eintritt. Eine künstliche Stimulation dieser Region führt daher zu einer unkontrollierten Futterraufnahme in Ratten (DIFELICEANTONIO A. et al., 2012). Davon abgegrenzt werden dagegen durch Transmission des μ -Opioids in einem relativ kleinen Bereich der medialen Hülle des Nucleus accumbens Mechanismen für eine hedonische Bewertung des "Mögens" vermittelt (PECIÑA S. UND BERRIDGE K., 2005). Demnach generiert Dopamin mit seiner Aktivierung des mesocortiko- limbischen Systems die Belohnungserwartung und damit einhergehend ein tiefes Verlangen. Im weitesten Sinne

lässt es sich folglich als "Motivationssystem" definieren (PECIÑA S., 2003; BERRIDGE K. UND KRINGELBACH M., 2008).

Diese Forschungsergebnisse sind bedeutend für die Suchtforschung, die sich intensiv mit den Mechanismen des mesocortiko-limbischen Systems in Bezug auf Drogenwirkung und -abhängigkeit beschäftigt (NIEHAUS J. et al., 2009; MOREIRA F. UND DALLEY J., 2015).

1.1.2 Motivation: Experimentelle Analysen zu Belohnung in *Drosophila*

In Säugertieren werden oft Mimik und Geräusche zur Einstufung von "Mögen" oder "Gefallen" eingesetzt, beispielsweise das Lecken von Lippen und Vorderpfoten in Ratten (DIFELICEANTONIO A. et al., 2012) und ein Herausstrecken der Zunge (BERRIDGE K. UND KRINGELBACH M., 2015). Dies ist in *Drosophila* nicht anwendbar, da sie eine feste Cuticula aufweisen und keine Stimmorgane besitzen. Trotzdem lässt sich das Konzept des Gefallens und der Belohnung mit Hilfe neurogenetischer Techniken auch bei *Drosophila* erkennen. Ein gängiges Experiment zur Untersuchung einer positiven Reaktion auf Belohnungen sowie die Ausbildung eines Belohnungsgedächtnisses ist die sogenannte Proboscis Extension-Antwort (PER), bei der die Tiere durch Präsentation einer Zuckerlösung vermehrt ihren Saugrüssel herausstrecken (GORDESKY-GOLD B. et al., 2008). Daneben existiert die bekannteste und am meisten verwendete experimentelle Methode zur Überprüfung des Erlernens von Belohnungen, das T-Labyrinth-Duftkonditionierungsparadigma nach TULLY T. und QUINN W. von 1985. Anhand dieser Paradigmen ließ sich ermitteln, dass zwei Neurotransmitter, Octopamin und Dopamin, entscheidend für die Vermittlung von Belohnung und Motivation bei *Drosophila* sind. Zuerst wurde vermutet, dass Octopamin die Komponente Belohnung vermittele, während Dopamin für eine aversive Reizvermittlung zuständig sei (SCHWAERZEL M. et al., 2003). In weiterführenden Studien ließ sich diese Hypothese allerdings weiterentwickeln und wurde dabei zum Teil widerlegt. Octopaminerge Neurone vermitteln spezifisch die Information "süß/lecker" und aktivieren nachgeschaltete dopaminerge Neurone, die im Folgenden wichtig für eine Ausbildung des appetitiven Gedächtnisses sind (BURKE C. et al., 2012). Es wurde ein Modell gebildet, nachdem Octopamin den Geschmack süß vermittelt, während manche octopaminergen Signale den generellen Sättigungsgrad im Tier abstimmen und diese Informationen an eine Gruppe dopaminerger Neurone im protocerebralen anterioren medialen (PAM) Cluster weiterleiten. Dieses PAM-Cluster übermittelt daraufhin ein Belohnungssignal durch vorübergehende Aktivierung oder Deaktivierung von Zielneuronen (LIU C. et al., 2012). Zudem liegt nach neuesten Untersuchungen die Vermutung nahe, dass bei der Weiterleitung des Belohnungssystems der Reiz "süß/lecker" getrennt von der Information über den nutritiven Wert des verabreichten Stoffes prozessiert wird. Der süße Geschmack wird von octopaminergen Neuronen übermittelt, die durch eine Freisetzung von Octopamin über OAMB-Rezeptoren dopaminerge Neuronen aktivieren, die in distinkte β' - und γ -Regionen des Pilzkörpers projizieren. Der nutritive Ertrag wird dagegen von andersartigen dopaminergen Neuronen vermittelt, die in eine getrennte γ -Region des Pilzkörpers projizieren (HUETTEROTH W. et al., 2015).

Obendrein wird *Drosophila* in den letzten Jahren verstärkt als Modell in der Drogenabhängigkeit eingesetzt. Hierbei dient es nicht nur als Forschungsobjekt in Bezug auf die akuten stimulierenden und beruhigenden Effekte nach Drogeneinnahme, sondern auch zur Betrachtung der komplexen Belohnungseigenschaften von Drogen. In Vertebraten spielt bekanntlich das mesolimbische dopaminerge System eine große Rolle in der Verstärkung der Wirkung und der Abhängigkeit. Vergleichbar wurden in *Drosophila* dopaminerge Neurone identifiziert, die für eine alkohol-induzierte Hyperaktivität und den durch Alkohol ausgelösten Belohnungseffekt nötig sind (KAUN K. et al., 2011). Ähnlich spielen dopaminerge Neurone eine Rolle in der Auswirkung weiterer Suchtmittel; so führt eine pharmakologische Absenkung des Dopaminlevels in Fliegen zu einer verminderten Sensitivität gegenüber der Wirkung von Kokain und Nikotin (BAINTON R. et al., 2000). Bei Gabe von Methamphetaminen ließen sich Interaktionen mit dem dopaminergen System erkennen, die die neuronale Aktivität beeinträchtigten (ANDRETIC R. et al., 2005).

Auf Basis dieser vielfach auftretenden Parallelen zwischen Vertebraten und *Drosophila* in Hinblick auf Belohnungssysteme und Motivation hat sich die Fruchtfliege als wertvoller Modellorganismus in diesem Bereich etabliert können.

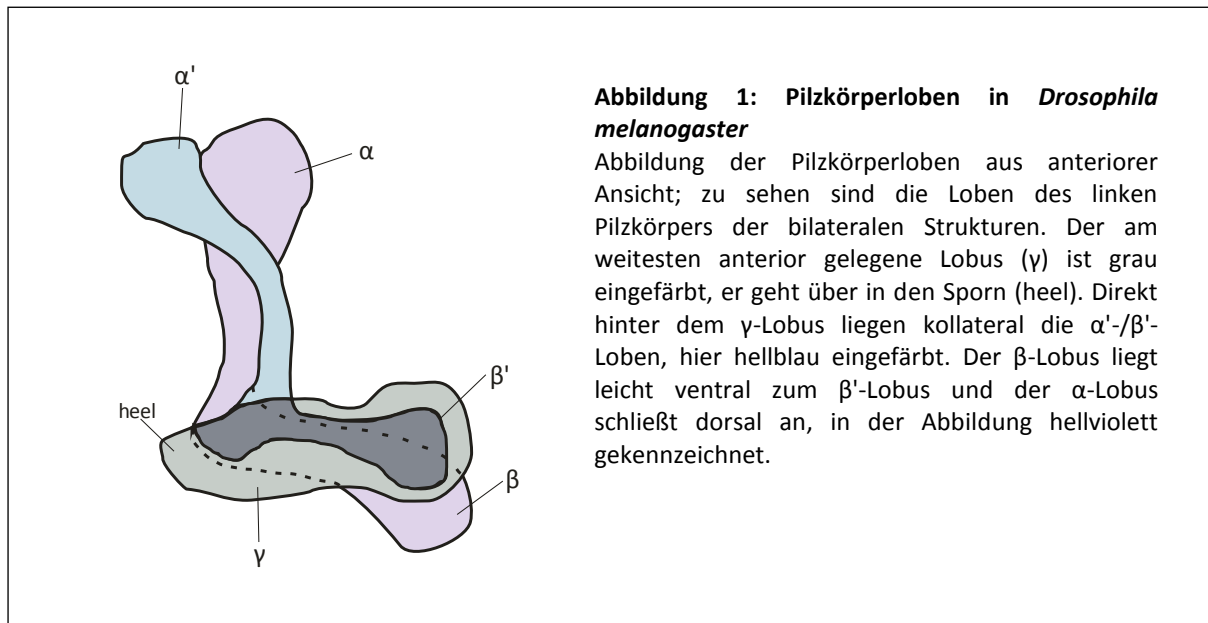
1.2 Der Pilzkörper in *Drosophila*

1.2.1 Aufbau und Funktion des Pilzkörpers

Der Pilzkörper ist eine paarige Gehirnstruktur in *Drosophila melanogaster*; er entwickelt sich in der frühen larvalen Entwicklung aus jeweils vier Neuroblasten pro Hirnhemispäre. In einer Zeitspanne, die bis acht Stunden nach dem Schlüpfen der Larven andauert, sind diese vier Neuroblasten der Pilzkörper – gemeinsam mit einem weiteren lateralen Neuroblasten – die einzigen, die eine Zellteilungsaktivität aufweisen (ITO K. UND HOTTA Y., 1992). Jeder Pilzkörper-Neuroblast kann jeweils drei Neuronentypen erzeugen. Dies läuft in einer streng sequenziellen Manier ab. Die Neurone der Pilzkörper, die vom Zeitpunkt des Schlüpfens an bis zum dritten Nymphenstadium durch Teilung entstehen, sind Neuronen des Typs γ . Vom dritten Nymphenstadium bis zum Pupalstadium entstehen einzig α' -/ β' -Pilzkörperneurone. Alle Neurone, die im Pupalstadium gebildet werden, gehören in die Klasse der α -/ β -Neurone (LEE T. et al., 1999). Die unterschiedlichen Neuronen-Kategorien wachsen in den adulten Tieren mit unterschiedlichen axonalen Projektionsmustern aus und lassen sich daran erkennen.

In adulten *Drosophila* liegen die Pilzkörper in der dorsal/posterioren Gehirnregion, sie sind bilateral symmetrisch angeordnet und lassen sich grob untergliedern in die Grundstrukturen Calices, Pedunculi und Loben. Pro Gehirnhemispäre besteht das Neuropil der Pilzkörper aus ca. 2500 intrinsischen Neuronen, es ist gegenüber dem restlichen Gehirn durch eine Glia-Hülle abgegrenzt. Die Neuronen der Pilzkörper, die innerhalb dieser Glia-Umhüllung auswachsen, werden als Kenyon-Zellen bezeichnet (HEISENBERG M., 1998). Ihre

Zellkörper liegen kumuliert posterior dorsal im Gehirn, ihre Dendriten werden von den Antennalloben innerviert und ziehen unmittelbar unter dem Areal der Zellkörper durch die Struktur der Calices. Die Axone der Kenyon-Zellen bilden die Struktur der Pedunculi, sie projizieren ventral in die anterioren Gehirnregionen und verzweigen sich dort, je nach Zelltyp in fünf terminale Loben. Die α - und α' - Loben ziehen dorsal, während die β -, β' - und die γ -Loben medial zur Mittellinie des Gehirns projizieren (CRITTENDEN J. et al., 1998) (**Abbildung 1**).



Werden die Pilzkörper in *Drosophila* durch Ablation oder gezielte Blockade ausgeschaltet, erhöhen die Fliegen bei einer Messung über einen Zeitraum von mehreren Stunden ihre spontane Laufaktivität (MARTIN J. et al., 1998). In der Anlaufphase der ersten 15 Minuten bewirkt der Verlust der Pilzkörper dagegen eine Abnahme der Laufaktivität (SERWAY C. et al., 2009). In der Balz haben sie Probleme bei der Detektion weiblicher Pheromone (SAKAI T. UND KITAMOTO T., 2006) und können zusätzlich im Balzverhalten weder Langzeit- noch Kurzzeitgedächtnis ausbilden (MCBRIDE S. et al., 1999). An unerreichbaren Landmarken können sie ohne Pilzkörper nur schwer ihr Anlaufverhalten aufgeben (MRONZ M. UND STRAUSS R., 2002), ebenso haben sie Schwierigkeiten im Entscheidungsverhalten bei widerstreitenden Stimuli (TANG S. UND GUO A., 2001) und in Flugsimulatorexperimenten gelingt ihnen keine Kontextgeneralisierung (LIU L. et al., 1999). Außerdem bildet der Pilzkörper in der Fliege das Zentrum der Schlafsteuerung (YI W. et al., 2013).

Anhand von elektrophysiologischen Experimenten ließ sich nachweisen, dass die Neurone der Pilzkörper ein Antwortverhalten sowohl auf olfaktorische als auch auf visuelle, taktile und gustatorische Stimuli aufzeigen. Daher wird vermutet, dass sie den Ort der sensorischen Integration repräsentieren (CRITTENDEN J. et al., 1998). Ein besonderer Forschungsschwerpunkt liegt allerdings auf der Rolle der Pilzkörper im olfaktorischem Gedächtnis, zusätzlich konnte auch ein Gedächtnis für visuelle Stimuli im Pilzkörper nachgewiesen werden (BUSTO G. et al., 2010; VOGT K. et al., 2014). Im Zuge der Versuche zum

olfaktorischen Gedächtnis ließ sich eine Divergenz bei der Mitwirkung der unterschiedlichen Pilzkörperloben in der Gedächtnisbildung feststellen. Mehrere Studien zeigen, dass der γ -Lobus eine zentrale Rolle im Kurzzeitgedächtnis spielt, während die α' -/ β' -Loben für die Konsolidierung des Gedächtnisses nach dem Training wichtig sind. Je länger die zeitliche Distanz zum Training wird, desto mehr gewinnen die α -/ β -Loben an Einfluss; das Langzeitgedächtnis ist hauptsächlich abhängig von ihnen. Der unterschiedliche Einfluss lässt sich auch gut an einer differierenden Aktivität der zuständigen Neurone in den verschiedenen Gedächtnisphasen erkennen (CERVANTES-SANDOVAL I. et al., 2013; TRANNOY S. et al., 2011). Ergänzend folgte der Befund, dass unterschiedliche Kenyonzell-Systeme (Shell- und Core-Einheiten eines Lobus) für verschiedenartige Gedächtnisspuren verantwortlich sein können (PERISSE E. et al., 2013). Eine weitere Unterteilung der Pilzkörper führten Aso Y et al. (2015) ein, sie definieren 15 Kompartimente innerhalb der Pilzkörperloben, in Abhängigkeit der Innervationsmuster unterschiedlicher extrinsische Neurone (Aso Y. et al., 2015). Diese Erkenntnisse belegen eine hohe Spezifität der einzelnen Loben des Pilzkörpers; sie sind funktional verschiedenartig und beispielsweise in der Gedächtnisbildung jeweils nur in einzelnen Phasen involviert.

1.2.2 Wahrnehmung von Düften in *Drosophila melanogaster*

Die Wahrnehmung und Verarbeitung von Düften ist für *Drosophila* essentiell, da sie über diese Sinnesreizung potentielle Futterquellen aufspüren oder Sexualpartner ausfindig machen können. Auf den Antennen und maxillaren Palpen befinden sich olfaktorische Rezeptorneurone (ORN), deren sensorische Dendriten in haarähnlichen, chemosensorischen Sensillen enden. Jedes olfaktorische Rezeptorneuron (ORN) exprimiert nur einen Typus an Duftrezeptoren, meistens zusammen mit einem Coreceptor Or83b; insgesamt gibt es 62 verschiedene olfaktorische Rezeptortypen. Die Axone der ORNs ziehen mit ihren Axonen in die ebenfalls paarig angelegten Glomeruli der Antennalloben, wobei die Axone der ORNs, die denselben Typus von olfaktorischem Rezeptor exprimieren, in einem gemeinsamen Glomeruli in den Antennalloben zusammenlaufen. Die Antennalloben bilden demnach die primären Verarbeitungszentren olfaktorischer Informationen und sind damit funktionell homolog zu dem *Bulbus olfactorius* in Vertebraten (VOSSHALL L. UND STOCKER R., 2007; VOSSHALL L. et al., 2000). In den Glomeruli werden die ORNs mit Projektionsneuronen (PNs) und lokalen Interneuronen verschaltet. Die Projektionsneurone leiten daraufhin die vorverarbeitenden olfaktorischen Informationen weiter an höhere Hirnzentren, wie das laterale Horn und die Calices der Pilzkörper (MASSE N. et al., 2009). Durch Experimente, bei denen eine Inaktivierung des Pilzkörpers stattfand, ließ sich beobachten, dass der direkte Informationsfluss der Antennalloben durch das laterale Horn allein ausreicht, um elementare Verhaltensmuster bei Duftperzeption auszulösen und zu steuern (HEIMBECK G. et al., 2001). Neuere Studien charakterisieren überdies einen duftprozessierenden Pfad aus inhibitorischen Projektionsneuronen, die ausschließlich von den Antennalloben zum lateralen Horn projizieren und Dufteigenschaften, wie hedonischen Wert und Intensität vermitteln. Das laterale Horn gewinnt diesen neueren Erkenntnissen nach als Knotenpunkt

der Verarbeitung biologischer Reize und angeborener Entscheidungen an Bedeutung (STRUTZ A. et al., 2014) (**Abbildung 2**).

Die primäre Aufgabe des Pilzkörpers besteht demnach in der Verarbeitung der Duftinformationen zur Bildung eines assoziativen Gedächtnisses. Der Pilzkörper ist daher Integrationsort von Düften sowie mit ihnen verknüpften Erinnerungen und steuert größtenteils erfahrungsbasiertes Verhalten. Bei dieser Verarbeitung wird eine hohe Selektivität für einzelne Düfte erreicht, indem in jeder Kenyon-Zelle als Koinzidenz-Detektor die Eingänge mehrerer Glomeruli zusammenlaufen und verrechnet werden. Zudem wird eine hohe Selektivität dadurch erreicht, dass die olfaktorischen Stimuli hierbei spärlich durch die entsprechende Aktivität der Kenyon-Zellen verschlüsselt werden; dieses "sparse coding" wird durch ein Paar GABAerger Neurone ermöglicht. Diese anterior paired lateral-Neurone (APL) innervieren den gesamten Pilzkörper und beeinflussen die Informationsverarbeitung, indem sie das Antwortverhalten der Kenyon-Zellen über Bindung von GABA_A-Rezeptoren reduzieren (LEI Z. et al., 2013). Mithilfe der Duftverarbeitung auf diesen unterschiedlichen Ebenen kann *Drosophila* mit nur rund 62 olfaktorischen Rezeptoren ein breites Spektrum an Düften wahrnehmen und auseinanderhalten.

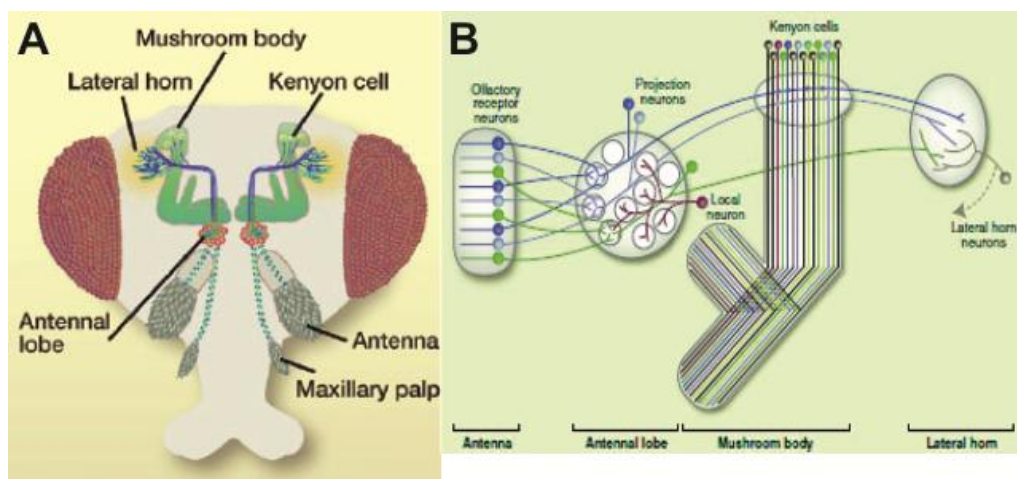


Abbildung 2: Duftverarbeitung in *Drosophila melanogaster*

(A) Frontale anatomische Aufsicht auf den Kopf der Fliege. Die Duftinformation gelangt von den sensorischen Organen (Antenne, maxillare Fühler) zu den Antennalloben. Zur anschließenden Prozessierung werden die Informationen an das laterale Horn und die Kenyon-Zellen der Pilzkörper übermittelt.

(B) Schematische Darstellung der Duftverarbeitung. Die Axone der olfaktorischen Rezeptorneurone (ORN) ziehen in spezifische Glomeruli der Antennalloben. Die Axone der synaptisch mit den ORN verschalteten Projektionsneurone (PN) ziehen direkt in das Neuropil des Lateralen Horns oder laufen durch die Calyces der Pilzkörper und bilden dort Synapsen auf die Kenyon-Zellen.

(modifiziert nach: MASSE N. et al., 2009 (A) und Su C. et al., 2009 (B))

1.3 Depression: Allgemeine Definition des Phänomens

Depression gehört zu den am stärksten verbreiteten psychischen Erkrankungen, sie wird in den Medien als "eine der größten Volkskrankheiten der Industrieländer" bezeichnet. Studien der WHO belegen, dass Depression in den Ländern mit hohem Einkommen die häufigste Ursache für beeinträchtigte Lebensjahre mit geminderter Lebensqualität darstellt, auf Platz zwei folgt die ischämische Herzkrankheit. Prognosen zufolge wird die Bedeutung der unipolaren Depression in den nächsten Jahren noch verstärkt zunehmen. Fünf Prozent der Bevölkerung Europas sind von der Erkrankung betroffen, wobei Frauen geschätzt doppelt so stark betroffen sind wie Männer (LOPEZ A. UND MATHERS C., 2006). Ungefähr 15% der Patienten mit schweren Depressionen versterben durch Suizid, daher liegt die Zahl der Suizide deutlich über der von jährlichen Verkehrstoten (SIMPSON S. UND JAMISON K., 1999).

Depression (lat. deprimere = niederdrücken) wird den affektiven Erkrankungen zugeordnet, sie verläuft meistens in Episoden, die im Durchschnitt zwischen drei bis zwölf Monate dauern. Charakterisieren lässt sich eine Depression durch mehrere Symptome, die in unterschiedlichen Kombinationen auftreten können. Merkmale der Krankheit sind meist Appetitlosigkeit mit starker Gewichtsabnahme, Schlaflosigkeit, Konzentrationsprobleme, Antriebslosigkeit, Verlust von Freude und Interesse an allen Aktivitäten, Müdigkeit, Energieverlust, Gefühle von Wertlosigkeit und Traurigkeit. Nach Anzahl und Schwere der jeweiligen Symptome gibt es eine Unterteilung in leichte, mittelgradige und schwere depressive Episoden (WITTCHEN H. et al., 2010). Die Ursachen der Depression sind wahrscheinlich multifaktoriell, Komponenten aus Genetik, Psyche und sozialem Umfeld wirken zusammen. Ein wichtiger Faktor ist Stress in unterschiedlichen Lebenssituationen, beispielsweise Verlust, Bedrohung, sozialer Ausschluss und Demütigung (PAYKEL E. et al., 2005). Trotzdem entwickeln nicht alle Menschen, die stressvolle Erlebnisse verarbeiten müssen, eine Depression. Daher ist ein Erklärungsansatz, dass die Sensibilität gegenüber depressiven Erkrankungen genetisch bedingt ist, aber erst in Kombination mit psychosozialen Faktoren zu einem Ausbruch der Erkrankung führt. Als einen wesentlichen genetischen Faktor vermuten etliche Studien hierbei das Serotonin-Transportergen (5-HTT), bei dem Variationen in der Promotorgegend auftreten. Trägt ein Individuum die genetische Disposition für kurze Allele dieses Gens, reagiert sein Organismus mutmaßlich empfindsamer auf Stressbelastungen psychosozialer Art und die Wahrscheinlichkeit, dass eine depressive Erkrankung ausgelöst wird, ist deutlich höher als bei homozygoten Trägern des langen Allels (CASPI A. et al., 2003). Außerdem wird dem Gen des Serotonin-Transporters auch eine Auswirkung auf die Aktivität und die Konnektivität der Amygdala und dem frontal-limbischen System zugeschrieben (COSTAFREDA S. et al., 2012). Diese Hypothesen ließ sich allerdings durch eine Metaanalyse mit über 14.000 Probanden nicht endgültig bestätigen (RISCH N. et al., 2009). Die Studien führten jedoch zu einem Forschungsmodell, das genetische Prädisposition und Umwelteinflüsse in bestimmtem Verhältnis mit Depression in Verbindung bringt ('gene x environment'). Als weitere Risikofaktoren wurden zudem noch Gene, die Enzyme oder Rezeptoren im Serotoninsignalweg codieren, vermutet. Beispielsweise sollen Varianten der Gene für HTR1A, HTR2A, TPH1 und COMT zu einem erhöhten Risiko führen,

nach Stressbelastungen Depressionen zu entwickeln (MANDELLI L. et al., 2007). Daher wird angenommen, dass die Interaktion zwischen "Stressbelastung x Gene" noch ein breites Spektrum an genetischen Faktoren über den 5-HTT-Locus hinaus beinhaltet. Hierzu beschreibt ein neuer Forschungsansatz einen Zusammenhang zwischen verstärkter Stressbelastung, dem Umfang mitochondrialer DNA (mtDNA), der durchschnittlichen Länge der Telomere und dem Auftreten von Depressionen. Ihr Ansatz besagt, dass Stress zu einem erhöhten Anteil von mtDNA und einer Verkürzung der Telomer-Länge führt, vermutlich bedingt durch eine Aktivierung der hypothalamischen hypophysären Achse. Dieser Effekt ist größtenteils reversibel, CAI N. et al. vermuten allerdings, dass in Individuen mit Depression diese Effekte länger andauern oder stärker ausgeprägt sind und mit der Anfälligkeit des Individuums gegenüber Depression verbunden sind (CAI N. et al., 2015).

Es besteht ein hohes Interesse an der Erforschung dieser psychischen Erkrankung, da sie nicht zuletzt einen erheblichen volkswirtschaftlichen Kostenfaktor darstellt. Die Erkrankung führt meistens zu Arbeitsunfähigkeit und damit zu einem Produktivitätsausfall. Im Weiteren hat dies zur Konsequenz, dass bei Frühverrentungen psychische Erkrankungen als Ursache an erster Stelle stehen und die Krankheitskosten stetig ansteigen (WITTCHEM H. et al., 2010).

1.3.1 Behandlung von Depression

Bis heute sind die Ursachen der Depression nicht vollständig aufgeklärt. Die Patienten werden klinisch größtenteils im Rahmen der Pharmakotherapie mit Antidepressiva behandelt. Die Ursache der Depression wird dabei nicht behandelt, daher wird generell (besonders allerdings bei Jugendlichen) eine Psycho- und Verhaltenstherapie mit der Gabe von Antidepressiva verknüpft. Die Responderquote liegt für alle Antidepressiva ungefähr bei 50-70 % (BSCHOR T. UND ADLI M., 2008). Die Wirkungsweise annähernd aller zugelassen Klassen von Antidepressiva lässt sich in drei grundsätzliche Varianten einteilen:

- I) Blockade präsynaptischer Transporterproteine, um die Entfernung von Monoaminen aus dem synaptischen Spalt zu verlangsamen,
- II) Inhibition von Monoaminoxidasen zur Verhinderung des Abbaus von monoaminergen Neurotransmittern,
- III) Regulierung bzw. Anregung monoaminergem Transmitterausschüttung oder Inhibition bzw. Anregung von prä- oder postsynaptischen Rezeptoren (NEMEROFF C. UND OWENS M., 2002).

Die am häufigsten eingesetzte Medikamentengruppe bilden die selektiven Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer (SSRI). Sie blockieren präsynaptische Rezeptoren (SERT), die für die Wiederaufnahme des Neurotransmitters Serotonin aus dem synaptischen Spalt verantwortlich sind. Folglich kommt es zu einer Erhöhung der Serotoninkonzentration im synaptischen Spalt und die Bindewahrscheinlichkeit des Neurotransmitters an die postsynaptischen Kanäle wird erhöht (COUSINS L. UND GOODYER I., 2015). Die sechs gemeinhin vertriebenen und eingesetzten SSRIs tragen die Handelsnamen: Citalopram, Escitalopram, Fluoxetin, Fluvoxamin, Paroxetin und Sertralin. Sie konnten sich als Wirkstoff zur Therapie

durchsetzen, da ihre Nebenwirkungen relativ benigne sind und sie nur selten Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten zeigen. So konnten sie sich gegen die vorher standardmäßig verwendeten tetracyclischen Antidepressiva (TCAs) durchsetzen. Tetracyclische Antidepressiva zählen zu den ältesten verwendeten Mitteln (Imipramin: 1957) und wurden über lange Jahre sehr stark eingesetzt. Sie greifen in mehrere Neurotransmittersysteme ein, sie hemmen die Wiederaufnahme von Serotonin, Noradrenalin und Dopamin. Daneben neigen sie allerdings auch dazu, die muskarinischen cholinergen Rezeptoren zu hemmen und zu blockieren. Wegen dieser fehlenden Selektivität können erhebliche Nebenwirkungen auftreten, beispielsweise Mundtrockenheit, Kopfschmerzen, Verstopfung, Sehprobleme, leichte kognitive Beeinträchtigungen und Tachykardie. Eine ebenfalls schon über einen längeren Zeitraum eingesetzte Medikation bilden die Monoamin Oxidase (MAO)-Hemmer; sie unterbinden den Abbau aller in der Präsynapse vorkommenden Monoamine. Sie zeigen starke Wirkung gegen Depression, andererseits führen sie aber bei Gebrauch mit anderen Medikamenten zu schädlichen Wechselwirkungen und mit ihrer Verschreibung gehen strenge Diätvorschriften einher (HOLTZHEIMER P. UND NEMEROFF C., 2006). Eine Weiterentwicklung dieser Substanzen sind Antidepressiva, die selektiv auf mehrere Neurotransmitter einwirken und damit bei einer Minderung von Nebenwirkungen die vorteilhaften Aspekte vereinen. Hierbei gibt es Präparate, die eine Wiederaufnahme von Serotonin und Noradrenalin hemmen, bei anderen konzentriert sich die Wirkung auf Noradrenalin und Dopamin.

Eine weitere Substanz, Lithium, wird allgemein als "Stimmungsaufheller" bezeichnet. Schon früh wurde die mildernde Wirkung von Lithium auf Depression festgestellt, der Mechanismus blieb jedoch über einen längeren Zeitraum im Dunkeln (TREISER S. et al., 1981). Zudem zeigten Untersuchungen, dass die Gabe von Lithium präventiv äußerst wirksam gegen Selbstmord oder Selbstverletzungen bei Depressionen und bipolaren Störungen wirkt (CIPRIANI A. et al., 2013). Mittlerweile ist bekannt, dass Lithium ein intrazelluläres Enzym, die Glycogen-Synthase-Kinase-3 β (GSK3 β) durch Phosphorylierung inaktiviert. Dem Enzym GSK3 β wird eine Rolle bei Depressionen zugeschrieben, es kann funktionell den Serotoninrezeptor 1B modulieren (DE SOUSA R. et al., 2015; CHEN L. et al., 2011). Zudem können klinische Studien zeigen, dass Lithium die Rezeptoraktivität des Serotonin-1A-Rezeptors steigert und dadurch zu einer Erhöhung der postsynaptischen Serotonin-1A-Rezeptor Neurotransmission führt (NUGENT A. et al, 2013). Der genaue Wirkmechanismus von Lithium bei Depression ließ sich allerdings noch nicht endgültig und detailliert aufklären.

Ein Ansatz aus der alternativen Medizin ist die Verabreichung von Johanniskraut, das ebenfalls eine positive Wirkung bei Depressionen aufzeigt. Aufgrund seiner pflanzlichen Wirkstoffe wird es als Phytopharmakon bezeichnet. Es wirkt sich auf den Serotoninspiegel im Gehirn aus, kann aber nur bei leichten oder mittelschweren Depressionen eingesetzt werden. In der Medizin ist es umstritten, einige Studien belegen eine messbare Wirkung, allerdings treten mit der Verabreichung viele Nebenwirkungen auf, es verliert damit an Attraktivität den tetracyclischen Antidepressiva gegenüber (LINDE K. et al., 2015; FARAHANI M. et al., 2015).

Ein neues Forschungsfeld ist auf die Wirkung der glutamatergen Transmission gerichtet. Grundlegend war eine klinische Studie, die aufzeigte, dass die Verabreichung einer Einzeldosis von Ketamin einen direkten und anhaltenden antidepressiven Effekt auf Patienten hatte, die auf keinen anderen Therapieansatz ansprachen (BERMAN R. et al., 2000). Ketamin, bekannt als klinisches Narkotikum, ist ein nicht-kompetitiver Kanalblocker des glutamergen NMDA-Rezeptors, es wirkt besonders in der Region des Hippocampus und im präfrontalen Cortex. Es ließ sich beobachten, dass es durch die Aufnahme von Ketamin zu einem Anstieg in der Anzahl und Funktionalität der synaptischen Verbindungen im präfrontalen Cortex kommt, diese Synaptogenese wird vermutlich durch die längere Präsenz des Glutamats ausgelöst. Dies soll dazu führen, dass durch chronischen Stress verloren gegangene Verbindungen zwischen Nervenzellen in dieser Region wieder hergestellt werden können (DUMAN R. UND AGHAJANIAN G., 2012). In Ketamin sehen die Wissenschaftler Potential zur Bekämpfung von schweren Depressionen, allerdings ist die Langzeitwirkung noch nicht ausreichend erforscht. Zudem muss die Verabreichung strengstens überwacht werden, da ein hohes Suchtrisiko besteht und halluzinogene Wirkungen, bezeichnet als "psychomimetische Effekte", bekannt sind (DALE E. et al., 2015).

Die Behandlungen von Depressionen sind vielfältig und werden intensiv beforscht, die Wirkungsmechanismen der einzelnen Substanzen bleiben aber häufig nicht endgültig erklärbar.

1.4 Tiermodelle der Depression: Schwerpunkt Learned Helplessness

Trotz intensiver Forschung auf dem Feld der Depression bleibt diese Krankheit eine psychiatrische Störung, deren neurobiologischer Hintergrund noch dürftig beschrieben und aufgeklärt ist. Viele Patienten zeigen keine deutliche Verbesserung nach der Behandlung mit den vorhandenen Antidepressiva. Der Fortschritt in der Forschung ist eng gekoppelt an die Betrachtung von Tiermodellen, die Aufschluss über die Kausalität und Entstehung von Depressionen geben können und auch helfen, erste Ansätze für effektive therapeutische Maßnahmen zu entwickeln. Dabei ist zu beachten, dass Tiermodelle natürlich Einschränkungen aufweisen. Emotionale Komponenten wie Schuldgefühle, Traurigkeit, Halluzinationen und Suizidgedanken sind nur bei Menschen festzustellen. In tierischem Verhalten lassen sich Entsprechungen ausmachen, wie beispielsweise abnormales soziales Verhalten, Motivationsveränderungen oder Gedächtnisschwächen; diese müssen aber als sich annähernde Analogien gesehen werden (NESTLER E. UND HYMAN S., 2010). In den überwiegenden Studien werden Tiermodelle nach folgenden Hauptkriterien bewertet:

- 1) Konstruktvalidität: Ähnliche neurobiologische Grundlagen der Krankheit.
- 2) Augenscheinvalidität: Ähnlichkeit zwischen dem Verhaltensphänotyp des Modelltiers und dem klinischen Symptom-Profil.
- 3) Ätiologische Validität: Aufgezeigte verhaltensauslösende Ereignisse im Modelltier sind vergleichbar mit denen der humanen Erkrankung.
- 4) Vorhersagevalidität: Verbesserung oder Abschwächung des Phänotyps im Modelltier bei Einsatz von klinisch-relevanten Therapien sowie Ausbleiben einer Veränderung

bei Einsatz von nicht-wirksamen Behandlungen des humanen Krankheitsbildes (CZÉH B. et al., 2015).

Zwei sehr bekannte Tier-Modellsysteme der Depression sind "Learned Helplessness" und das kurz darauf entwickelte Modell "Chronic Mild Stress".

Die Entdeckung und Entwicklung des "Learned Helplessness"-Modell fand in dem Zeitraum von 1968 bis 1980 statt. Die grundlegende Beobachtung erfolgte zufällig durch die Feststellung, dass Tiere nach einer aversiven Konditionierung mit Stromschlägen schlechtere Vermeidungsreaktionen in der sogenannten "Shuttle-Box" erkennen lassen (OVERMIER J., 1968). Diese Beobachtung wurde weiter entwickelt, indem ein dualer Versuchsaufbau verwendet wurde. Hierbei wurden die Versuchskäfige zweier Versuchstiere miteinander gekoppelt; beide Tiere erhielten damit dasselbe Ausmaß an Bestrafung durch Stromschläge. Eines der beiden Tiere konnte jedoch die Bestrafung mit dem eigenen Verhalten beenden oder modulieren ("Master-Tier"), während das andere Tier keinerlei Kontrolleinfluss ausüben konnte und immer in Abhängigkeit des Verhaltens des Master-Tiers mitbestraft wurde ("Yoked-Tier"). Es zeigte sich, dass nur das Tier, das keine Kontrolle über die Bestrafungen erhielt, im Anschluss ein Defizit in der Vermeidungsreaktion aufwies (OVERMIER J. UND SELIGMAN M., 1967). Hieraus ließ sich folgern, dass nicht die Bestrafung durch elektrische Schläge, sondern Unkontrollierbarkeit dieser Bestrafung das entscheidende Merkmal für den späteren Lern- und Verhaltensdefizit war. Ursprünglich wurde dieses Modell nicht gezielt hervorgebracht, um ein Tier-Modell der Depression oder einer sonstigen klinischen Erkrankung zu erzeugen, es bezog sich nur auf die Verhaltensmodulation eines Organismus durch das Ausmaß der Stresskontrolle. Der Terminus Depression taucht erst sieben Jahre später in den Artikeln auf, seither hat sich dieses Modell allerdings in der Depressionsforschung etabliert. Ein wichtiger Faktor für die Vergleichbarkeit der Experimente liegt darin, dass die unkontrollierbare Bestrafung der Tiere in einer anderen Umgebung erfolgt als ihre anschließende Testung, ansonsten sind die Ergebnisse nicht miteinander vergleichbar (MAIER S. UND WATKINS L., 2005). Der "Learned Helplessness"-Phänotyp äußert sich bei den Tieren in Verhaltensänderungen, die denen der humanen Depression stark ähneln: Passivität, Störungen im REM-Schlaf, Reduzierung des Körpergewichts und Abnahme des Sexualverhaltens (YAN H. et al., 2010). Ausschlaggebend ist, dass die Tiere in diesem Verhalten sehr gut auf Antidepressiva ansprechen, sowohl TCAs, SSRIs, MAOs als auch eine elektrokonvulsive Therapie bewirken eine deutliche Verbesserung des Phänotyps nach einem Zeitraum von drei bis fünf Tagen. Zudem lassen sich neurobiologische Veränderungen bei den Tieren im Learned Helplessness-Zustand beobachten, eine Verminderung von Norepinephrin und Serotonin, sowie eine Veränderung im Vorkommen der α -Norepinephrin- und der 5HT-1B-Serotonin-Rezeptoren. Eine langfristige Verabreichung von Antidepressiva wirkt reversibel auf diese Rezeptoren-Veränderung. Anhand dieser Punkte lässt sich eine hohe Augenschein- und Vorhersagevalidität ausmachen; dies macht das Learned Helplessness-Modell zu einem äußerst attraktiven Modell bei der Betrachtung der Pathophysiologie der Depression (ABELAIRA H. et al., 2013).

Ein weiteres Tier-Modell der Depression ist das "Chronic Mild Stress"-Modell. Der Grundgedanke dieses Modells ist, dass Personen nur selten zeitlich begrenzten, intensiven Stressepisoden ausgesetzt sind (bspw. Krieg, Naturkatastrophen), sondern eher lang andauernde Phasen mit zu- und abnehmendem Stress durchleben (MCARTHUR R. UND BORSINI F., 2006). Da diese anhaltende Belastung ohne zeitliche Begrenzung ein Grund zur Entwicklung klinischer Depressionen darstellen kann, wurde ein Modell erstellt, welches diese Situation in Tieren widerspiegeln soll. Die Tiere werden dabei über einen Zeitraum von drei Wochen unterschiedlichsten Formen von Stress ausgesetzt, sie durchleben beispielsweise abwechselnd Phasen des Hungerns, Dürstens, Hitzestress, Isolation, Schüttelns, Vertauschung von Tag- und Nachtrhythmus und Stromschläge (KATZ R. UND HERSH S., 1981). Im Anschluss an diese Behandlung zeigen sie verminderte Stressreaktionen und nehmen weniger Zuckerlösung zu sich. Die Abnahme der Zuckeraufnahme lässt darauf schließen, dass sie weniger Genuss und Gefallen an der Belohnungszuckerlösung finden, ein Zeichen von Anhedonie. Diesen Verhaltensveränderungen ließ sich durch TCAs und MAOs entgegenwirken (KATZ R., 1982). Da diese Stressbelastung sehr stark ist, wurde nachfolgend ein Modell entwickelt, bei denen zwar mit ähnlichen Stressfaktoren gearbeitet wird, die aber deutlich milder ausfallen als in den vorhergehenden Studien. In den Versuchsreihen konnten graduell ansteigende Anzeichen von Anhedonie über die Zuckeraufnahme beobachtet werden, die ebenfalls nach einer mehrtägigen Behandlung mit TCAs reversibel waren (WILLNER P. et al., 1987). In anschließenden Studien ließen sich weitere Auswirkungen feststellen: Veränderung hedonischer Bewertungen bei Hirnstimulation und Ortskonditionierung, Abnahme von Aggression und Sexualverhalten, Vernachlässigung der Eigenpflege und Veränderungen im Schlafverhalten (WILLNER P., 2005). Das CMS-Modell nach WILLNER P. wird als realistisch und als besseres Abbild der humanen Stressinduktion betrachtet als die Vorlage von KATZ P. et al. (1982). Besonders attraktiv macht dieses Modell, dass der anhedonische Zustand der Tiere über einen sehr langen Zeitraum stabil bleibt (CZÉH B. et al., 2015). Es lassen sich in einigen Studien Quervernetzungen zwischen dem Learned Helplessness- und dem CMS-Modell erkennen; es konnte gezeigt werden, dass bei vorhergehender CMS-Behandlung Learned Helplessness induziert und verstärkt werden kann. Dies lässt die Betrachtung zu, dass Learned Helplessness als Resultat der durch CMS-induzierten Anhedonie beurteilt werden kann (WILLNER P., 2005).

Tiermodelle, die auf Stressinduktion basieren, dürften auch in Zukunft eine vielversprechende Rolle bei der Erforschung von Entstehung, Pathophysiologie und Bekämpfungsmöglichkeit der Depression spielen.

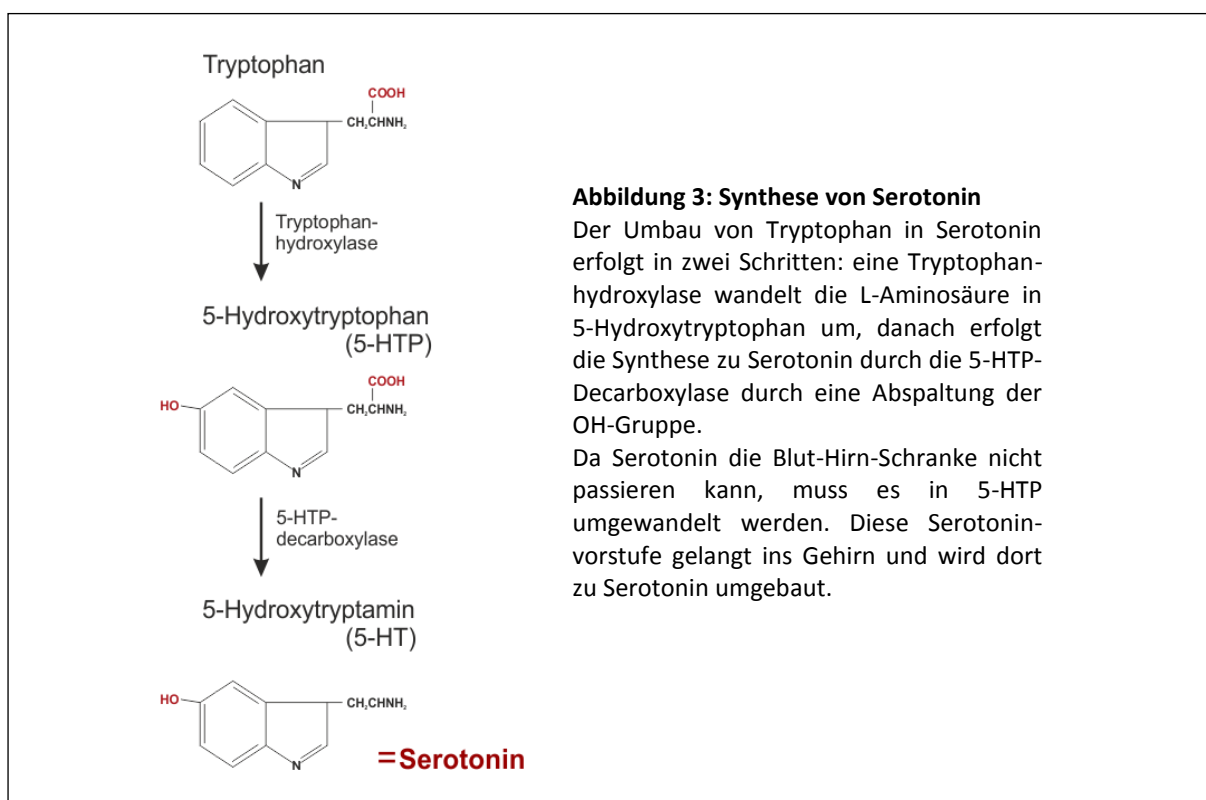
1.4.1 Learned Helplessness in *Drosophila*

Der Einsatz des Modells "Learned Helplessness" beschränkt sich nicht auf Vertebraten, sondern findet auch bei Invertebraten Anwendung. Erste Studien dazu wurden in den achtziger Jahren veröffentlicht, als Modelltiere dienten die Küchenschabe und die Nacktschnecke (BROWN G. UND STROUP K., 1988; BROWN G. et al., 1994). Eine erste Untersuchung zu *Drosophila* in dem Learned Helplessness-Verhalten wurde 1996 von BROWN

P. et al. veröffentlicht. In dieser Aufzeichnung beschreibt er den mechanischen Schüttelreiz auf einem Vortex-Schüttler als Bestrafungsreiz. Eine intensivere Auseinandersetzung erfolgte 2013 von YANG Z. et al., dabei wurden die kognitiven und die modulatorischen Komponenten des Verhaltens analysiert. Zugrunde liegt diesen Untersuchungen die Versuchsapparatur der "Heat-Box", die 1996 von WUSTMANN G. et al. entwickelt wurde. Das "Heat-Box"-Paradigma diente ursprünglich dazu, mithilfe des sogenannten "Idle-Experiments" ein Ortsgedächtnis in *Drosophila* über operante Konditionierung hervorzurufen. Für eine Untersuchung des Learned Helplessness-Verhaltens erfolgte die Abwandlung des Paradigmas in das sogenannten "No-Idle-Experiment". Hierbei kommt es zu einer Hitzebestrafung der Fliegen, wenn eine Inaktivität von mehr als einer Sekunde in der Heat-Box aufgezeichnet wird. Dabei liegt die Kontrolle der Hitzeimpulse bei der "Master"-Fliege, die über ihr Laufverhalten den Bestrafungsreiz modulieren kann. Die angekoppelte "Yoked"-Fliege erhält durchgehend die Hitzeimpulse der Master-Fliege, ohne dass ihre Laufaktivität einen Einfluss hat (BERTOLUCCI F., 2008). In einem anschließenden Test wird ein Verhalten verminderter Aktivität in den "Yoked"-Tieren nachgewiesen, das sich als Learned Helplessness-Verhalten beschreiben lässt. YANG Z. et al. unterscheiden dabei die gelernte Unkontrollierbarkeit als kognitives Verhalten und beschreiben andererseits zusätzlich ein modulatorisches, motiviertes Verhalten. Die kognitive Komponente des Verhaltens (gelernte Unkontrollierbarkeit) definieren sie als unmittelbare Reaktion auf den Hitzeimpuls. Die "Yoked"-Fliege zeigt am Anfang des Experiments Umkehrbewegungen bei einem Hitzeimpuls, diese Reaktion nimmt im Verlauf des Experiments ab, da sich der Reiz durch diese Fluchtbewegung nicht modulieren lässt. Das Tier erlernt somit die Ausweglosigkeit der Bestrafung und zeigt eine verminderte Fluchtreaktion. Die interessante Komponente liegt für YANG Z. et al. in der zusätzlichen motivierten Verhaltenskomponente, denn die "Yoked"-Fliege zeigt insgesamt eine stark verminderte Laufaktivität und -geschwindigkeit. Diese erhöhte Passivität lässt sich unabhängig von der operanten Konditionierung des Fluchtverhaltens auswerten und lässt sich als Learned Helplessness-Verhalten beschreiben. Aufschlussreich ist in dieser Studie auch der Geschlechtsdimorphismus des Verhaltensphänotyps. Während weibliche Tiere eine starke Verminderung sowohl ihrer Aktivität als auch ihrer Laufgeschwindigkeit aufzeigen, ist bei männlichen Tieren der Phänotyp weit weniger ausgeprägt. Ergänzend dazu ließ sich in einer Studie herausarbeiten, dass in *Drosophila* unterschiedliche dopaminerge Neurone in die Antwort auf Stress einbezogen sind (ARGUE K. UND NECKAMEYER W., 2013). Aus dem humanen Krankheitsbild der Depression ist ebenfalls bekannt, dass das Geschlecht in Bezug auf die Anfälligkeit gegenüber Stressresistenz und Depressionen eine Rolle spielt (OLDEHINKEL A. UND BOUMA E., 2011). Basierend auf den Erkenntnissen über den Verhaltensphänotyp in *Drosophila* in dem "Non-Idle-Experiment" wird spekuliert, dass sich Learned Helplessness als Verhalten evolutionär früh entwickelt hat, lange bevor die Separation in Vertebraten und Arthropoden stattfand (YANG Z. et al., 2013). Weitere Studien könnten daher zeigen, ob sich *Drosophila* als interessantes Tiermodell für Learned Helplessness etablieren lässt.

1.5 Serotonin

5-Hydroxytryptamin (5-HT), allgemein bekannt unter der Bezeichnung Serotonin, wird im Volksmund häufig als "Glückshormon" bezeichnet. Serotonin ist aber viel mehr als nur ein wichtiger Neurotransmitter zur Regulierung der Gemütslage. Es wirkt sowohl als Hormon, als auch als Neurotransmitter sowie als Mitogen und ist ubiquitär im Tierreich und sogar in Pflanzen (Phytoserotonin) vertreten. Erstmals isoliert und charakterisiert wurde Serotonin im Jahr 1948, im Zuge der Forschung an Gefäßverengungen (RAPPORT M. et al., 1948). Serotonin ist ein biogenes Amin, es wird in zwei Stufen aus der Aminosäure L-Tryptophan synthetisiert. Im ersten Schritt wird die Aminosäure durch die Tryptophan-Hydroxylase zu 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) umgewandelt. Die Arbeit dieses Enzyms ist der limitierende Faktor für Geschwindigkeit und Menge der Synthese, da die Tryptophan-Hydroxylase einen relativ hohen K_M aufweist, eine sehr geringe Affinität für Aminosäuren hat und ausschließlich in Geweben vorkommt, die Serotonin enthalten. In einem zweiten Schritt wird 5-HTP von einer Tryptophan-Decarboxylase zu 5-HT decarboxyliert (MOHAMMAD-ZADEH L. et al., 2008) (**Abbildung 3**).



Im ZNS wird Serotonin nahezu ausschließlich in Neuronen der Raphe-Kerne produziert, deren Axone in alle Teile des Vertebraten-Gehirns ziehen. Aufgrund seiner leicht negativen Ladungseigenschaften bei physiologischen pH-Werten ist es hydrophil und kann daher weder Zellmembranen noch die Blut-Hirn-Schranke passieren (PIERZ K. UND THASE M., 2014). Serotonin moduliert eine Vielzahl an Verhaltens- und neuropsychologischen Abläufen, wie im Belohnungssystem, bei Stimmungslagen, Wut, Angst, Aggression, Appetit, sensorische Perzeption, Gedächtnis, Sexualität, Aufmerksamkeit und Schlaf. Es ist schwer, ein

menschliches Verhalten zu benennen, bei dem Serotonin nicht involviert ist. Zudem hat es aber auch wichtige Funktionen im Organsystem außerhalb des ZNS; es beeinflusst die Körpertemperatur, reguliert die Energiehomöostase und damit verbunden die Nahrungsaufnahme, die lokomotorische Aktivität, circadiane Rhythmik, sowie gastrointestinale, respiratorische und kardiovaskuläre Abläufe (BERGER M. et al., 2009).

Serotonin wirkt über eine Vielzahl an membrangebundenen Rezeptoren, sie befinden sich sowohl im zentralen und peripheren Nervensystem, als auch in bestimmten nicht-neuronalen Geweben, wie beispielsweise im kardiovaskulären System, dem Darm und dem Blut. Die Serotoninrezeptoren lassen sich in sieben distinkte Klassen einteilen, in denen es 14 strukturell und pharmakologisch unterschiedliche Subtypen gibt (5HT_{1A,1B,1D,1E,1F}, 5HT_{2A,2B,2C}, 5HT₃, 5HT₄, 5HT_{5A,5B}, 5HT₆ und 5HT₇). Außer dem 5HT_{3A,3B}-Rezeptor gehören alle Rezeptoren in die Überfamilie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Der 5HT₃ Rezeptor ist als einziger ein liganden-gesteuerter Ionenkanal, der direkt eine Depolarisation der Zellmembran bewirkt (HANNON J. UND HOYER D., 2008). Bei den G-Protein-gekoppelten Rezeptoren unterscheidet man drei verschiedene Wirkmechanismen:

- I) 5HT₁ und 5HT₅ sind an inhibierende G-Proteine gebunden (G_i), führen zu einer Hemmung der Adenylatzyklase und senken damit den intrazellulären cAMP-Spiegel.
- II) 5HT₄, 5HT₆ und 5HT₇ sind an stimulierende G-Proteine gebunden (G_s), führen zu einer Aktivierung der Adenylatzyklase und erhöhen damit den intrazellulären cAMP-Spiegel.
- III) 5HT₂ sind an G_{q/11}-Proteine gebunden, am Phospholipase-C-(PLC-)Signalweg beteiligt und erhöhen den intrazellulären IP₃- und DAG-Spiegel (KRIEGEBAUM C. et al., 2010).

In der Klasse der 5HT₁-Rezeptoren finden sich Autorezeptoren (5HT_{1A}, 5HT_{1B}, 5HT_{1D}); diese sind präsynaptisch lokalisiert und tragen zu einer Regulation der 5HT-Transmission über einen negativen Rückkopplungsmechanismus bei. Ihre Bindung bei einer 5HT-Ausschüttung führt daher zu einer verminderten Neurotransmittersynthese und -exozytose (HOYER D. et al., 2002).

Im Rahmen der hier vorgelegten Arbeit liegt ein besonderes Augenmerk auf dem 5HT_{1A}, sowie dem 5HT_{1B} Rezeptor. Es wurde beobachtet, dass die Funktion des 5HT_{1A}-Rezeptors Auswirkungen auf die Regulation der Körpertemperatur, das Sexualverhalten und die zentrale Blutdruckregulation hat. Außerdem spielt der 5HT_{1A}-Rezeptor bei der Gedächtnisbildung eine Rolle. Auf das Kurzzeitgedächtnis hat er keinen Einfluss, allerdings kann der Einsatz von 5HT_{1A}-Antagonisten das Langzeitgedächtnis verbessern. Auch mit Hyperphagie wird der Rezeptor in Verbindung gebracht (BARNES N. UND SHARP T., 1999; KISER D. et al., 2012; MENESES A., 2007). Der 5HT_{1A} Rezeptor ist zudem in den Fokus der Forschung an Depression und Angststörungen geraten, da Knockout-Mäuse der 5HT_{1A}-Rezeptoren eine verstärkte Verhaltensantwort auf Stress und ein erhöhtes Angstverhalten zeigen. In klinischen Studien konnte festgestellt werden, dass bei Depressionspatienten die Dichte der 5HT_{1A}-Rezeptoren und ihre Bindung in Gehirnregionen wie Hippocampus, Raphe-Kernen und frontalem Kortex geringer ist. Nach neuesten Erkenntnissen lässt sich bei

Depressionspatienten eine Erhöhung der präsynaptischen 5HT_{1A}-Rezeptordichte feststellen, dies führt über eine Verstärkung der 5HT-Transmissionsinhibition zu einer Absenkung des Serotoninspiegels (SAVITZ J. et al., 2009; ARTIGAS F., 2013). Der 5HT_{1B}-Rezeptor ist besonders von Belang in der Medikation von Migräne, da er die durch Migräne ausgelösten Entzündungsprozesse unterdrückt, zu einer Gefäßverengung der schmerzhaft erweiterten cerebralen Blutgefäße führt und die nozizeptive Neurotransmission inhibiert. Eine Behandlungsmethode zur Bekämpfung von Migräneattacken ist daher die Verabreichung von 5HT_{1B}-Agonisten (Triptane) (TEPPER S. et al., 2002).

1.5.1 Serotonin in *Drosophila*

Evolutionär betrachtet taucht Serotonin sehr früh auf und gilt als einer der ältesten Neurotransmitter. Schon einzellige Eukaryoten wie beispielsweise Paramecien sollen vor 700 bis 800 Millionen Jahren über Serotoninrezeptoren verfügt haben. Serotoninrezeptoren sind daher in Invertebraten wie Vertebraten zu finden und meist hoch konserviert (HANNON J. UND HOYER D., 2008). In *Drosophila* sind bis zu diesem Zeitpunkt 106 serotonerge Neurone im Gehirn der Tiere beschrieben. Diese sind in mehreren Zell-Clustern organisiert, die aus einem bis zu fünf Neuronen bestehen. Im Verhältnis zu der Gesamtzahl aller Neurone ($\sim 10^5$) machen sie zwar nur einen kleinen Anteil aus, sie sind aber sehr großflächig verteilt und innervieren über ihre weit verzweigten Dendriten große Teile des Neuropils. Die serotonergen Zell-Cluster sind über beide Hirnhemisphären verteilt, serotonerge Innervierungen sind im Ellipsoid-Körper und etwas spärlicher im fächerförmigen Körper sowie den Noduli zu finden. Neben den Strukturen des Zentralkomplexes ziehen serotonerge Neurone in alle Neuropile der optischen Ganglien (Lamina, Medulla, Lobula und Lobulaplatte), der thorakalen Ganglien und der abdominalen Ganglien (VALLÉS A. UND WHITE K., 1988; MONASTIRIOTI M., 1999), sowie der Pilzkörper (LEE P. et al., 2011). Bemerkenswert ist, dass Serotonin in etlichen Neuronen zu finden ist, die es selbst nicht synthetisieren können. Dies lässt darauf schließen, dass Elemente zur Wiederaufnahme von Serotonin auch von Zellen exprimiert werden, die selbst kein Serotonin synthetisieren und so ermöglichen, dass Serotonin als Neuromodulator auf zusätzliche Kreisläufe einwirkt (CURRAN K. UND CHALASANI S., 2012). Dementsprechend spielt Serotonin eine Rolle in einem breiten Spektrum von Verhaltensweisen in *Drosophila*, es wirkt regulierend bei Balz und Paarung, in Aggression, circadianer Rhythmik und Schlaf der Fliege (NALL A. UND SEGAHL A., 2012). Für die Abläufe beim Lernen und der Gedächtnisbildung ist Serotonin ebenfalls ein ausschlaggebender Faktor. Interessant ist in diesem Prozess, dass der Neurotransmitter in der Ausbildung unterschiedlicher Gedächtnisformen gebraucht wird: sowohl im aversiven als auch im appetitiven Duftgedächtnis wird eine normale Serotoninfunktion benötigt, ebenso wie im Kurzzeit-Ortsgedächtnis in der Heat-box. Eine Hypothese besagt daher, dass das serotonerge System das relevante Ausmaß oder die Skala für die positiven und negativen Signale aus dem dopaminergen und dem oktopaminergen System darstellt und somit die Stärke der Gedächtnisverstärkung mit der Intensität der Erinnerung verknüpft (SITARAMAN D. et al., 2012).

In der Taufliege wirkt Serotonin über vier Rezeptortypen (5HT_{1A}, 5HT_{1B}, 5HT₂ und 5HT₇), die bei einem Vergleich zu den Säugerrezeptoren hoch konserviert in Sequenz und Funktion sind. Diese Rezeptorsubtypen in *Drosophila* zeigen distinkte Expressionsmuster und Signalwirkungen. Die 5HT_{1A}- und 5HT_{1B}-Rezeptoren weisen eine Sequenzhomologie zu dem Säugerrezeptortyp 5HT_{1A} auf und werden ebenfalls prä- und postsynaptisch in den Neuronen exprimiert. Lokalisieren lassen sich diese beiden Rezeptortypen in *Drosophila* besonders stark in den Loben der Pilzkörper, die Region des Gehirns, die mit Lernen und Gedächtnis bei Fliegen in Verbindung gebracht und regelmäßig in Studien als Pendant des Hippocampus bei Säugern bezeichnet wird (STRAUSFELD N. UND HIRTH F., 2013). Funktionell inhibieren beide Rezeptortypen in *Drosophila* die Adenylatzyklase, aktivieren aber gleichzeitig die Phospholipase C (SADOU F. et al., 1992). Bei Versuchen mit Zellkulturen konnte zusätzlich nachgewiesen werden, dass der 5HT_{1B}-Rezeptor bei Zusatz von Serotonin die mitogen-activated-protein-kinase (MAPK) aktiviert (YUAN Q. et al., 2005). Der Rezeptortyp 5HT₂ stimuliert ebenfalls die Phospholipase C, unterscheidet sich jedoch in der Sequenz und seiner Lokalisierung deutlich von den Rezeptoren 5HT_{1A} und 5HT_{1B} (COLAS J. et al., 1995). Der 5HT₂-Rezeptor ist vorwiegend im Ellipsoidkörper und im Protocerebrum zu finden, wo er an visuellen Prozessen, Steuerung der circadianen Rhythmik und dem Aggressionsverhalten beteiligt ist.

Der 5HT₇-Rezeptor bewirkt eine Aktivierung der Adenylatzyklase, homolog zu dem Säuger-rezeptor (WITZ P. et al., 1990), allerdings unterscheidet er sich in seinen pharmakologischen Eigenschaften deutlich von seinem Ortholog. So weist er beispielsweise eine sehr geringe Bindungsaffinität für den Agonisten 8-OH-DPAT auf (BLENAU W. UND THAMM M., 2011). Eine starke Expression des 5HT₇-Rezeptors ist in den Großfeld-R-Neuronen zu finden, die den Ellipsoidkörper innervieren, und im vorderen Ring des Ellipsoidkörpers. Zusätzlich findet sich eine Expression des Rezeptors in Neuronen des Gehirns, die eng mit den PDF-positiven lateral ventralen Neuronen (LN_v) gruppiert sind und die optischen Loben innervieren. Eine schwache Expression lässt sich zudem im fächerförmigen Körper ausmachen (BECNEL J. et al., 2011). Er spielt eine Rolle bei Balz, Paarung und Aggression, wie auch bei allen Phasen der Gedächtnisbildung (JOHNSON O. et al., 2011).

In den letzten Jahrzehnten hat sich das Wissen über Serotonin-Rezeptoren in Invertebraten stark erweitert, es hat in seinem Umfang mittlerweile die Vertebraten-Forschung erreicht. Die Vielfalt der Rezeptoren, die Orthologie zu den Vertebraten-Rezeptoren, ihre distinkte Lokalisierung und ihr unterschiedlicher Einfluss auf das Verhalten der Taufliege machen sie zu einem interessanten Forschungsobjekt. Die Bedeutung des serotonergen Systems und seiner unterschiedlichen Rezeptoren verschaffen *Drosophila* eine besondere Rolle als Modell zur Betrachtung von Serotonin in kognitiven Prozessen mit direktem Bezug zu dem Nervensystem von Vertebraten.

1.6 *Drosophila melanogaster*: Bedeutung als wissenschaftlicher Modellorganismus

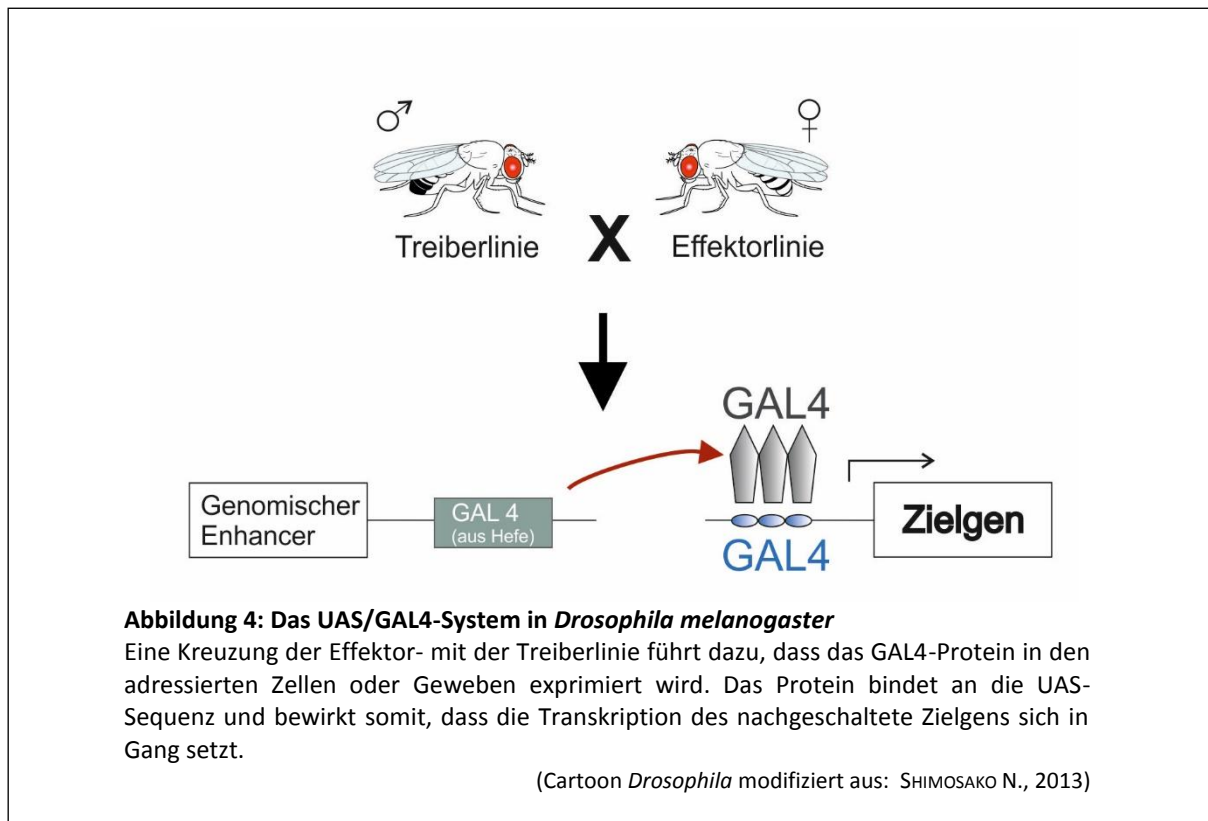
Drosophila melanogaster, im Deutschen als schwarzbäuchige Taufliege bezeichnet, ist seit über hundert Jahren in der Biologie als Modellorganismus etabliert. Mit Beginn des 20-igsten

Jahrhunderts begann T.H. MORGAN erste Studien zur Vererbung mit dem Forschungsobjekt *Drosophila* an der Columbia University in den USA, 1933 wurde er mit dem Nobelpreis der Medizin/Physiologie aufgrund seiner Charakterisierung der Rolle der Chromosomen in der Vererbungslehre ausgezeichnet (MORGAN T., 1910; STEPHENSON R. UND METCALFE N., 2013). Von diesem Zeitpunkt an (1910-1960) wurden an *Drosophila* genetische Grundlagen erforscht und im Zuge dessen Methoden entwickelt, die es erlauben, *Drosophila* als eines der wichtigsten Forschungsobjekte der klassischen Genetik, der Entwicklungsbiologie, der molekularen Biologie sowie der Neurobiologie zu nutzen. Im Jahr 2000 erfolgte die Veröffentlichung des vollständig sequenzierten Genoms von *Drosophila* (ADAMS M. et al., 2000). Dies ermöglichte die Entwicklung adäquater molekularbiologischer Methoden, um neurogenetische Fragestellungen zu untersuchen. Die Neurogenetik vereint Techniken aus Neurobiologie und Genetik, um einerseits die genetische Basis neuronaler Aktivitäten sowie ihre räumlich-zeitliche Funktion in der Entwicklung bestimmter, definierter Verhaltensvariationen im Organismus zu verstehen (VOSSHALL L., 2007). Das Genom der ca. 2,5 mm langen Insekten umfasst annäherungsweise 16.000 Gene, die für schätzungsweise 13.000 Proteine codieren (DOS SANTOS G. et al., 2014; FLYBASE GENOME ANNOTATORS, 2014). Von diesen 13.000 Genen weisen über 60% humane Orthologe auf, was dazu führt, dass sich viele entwicklungsbiologische Abläufe und zelluläre Prozesse bei *Drosophila* und Mensch ähneln (WANGLER M. et al., 2015). Daher bietet es sich an, diesen Ansatzpunkt zur Erforschung genetischer Grundlagen und zellulärer Prozesse in menschlichen Erkrankungen zu nutzen. Zudem wartet die Taufliege mit einigen Vorteilen gegenüber anderen Versuchstieren auf: eine einfache Haltung ohne großen Kostenaufwand, eine ganzjährige Reproduktion, eine hohe Nachkommenschaft (ca. 500 Eier pro Weibchen) und eine kurze Generationszeit von zwölf Tagen. Entscheidend ist, dass die Fliegen ein breites Verhaltensrepertoire aufweisen und sich so durch gezielte Mutationen verhaltensmodifizierende Auswirkungen einzelner Gene betrachten lassen (BENZER S., 1967). Es wurden unterschiedliche Versuchsparadigmen entwickelt, um Verhaltensweisen bei Abläufen in der Balz (YAMAMOTO D. UND KOGANEZAWA M., 2013), in der lokomotorischen Aktivität (STRAUSS R. UND HEISENBERG M., 1993), im Aggressionsverhalten (LIM R. et al., 2014), in der Orientierung (GUO C. et al., 2014), im Schlafrythmus (YURGEL M. et al., 2014) und in Bezug auf Lernen und Gedächtnis (OFSTAD T. et al., 2011; QUINN W. et al., 1974; NEUSER K. et al., 2008; KRAUSE T., 2015) intensiv studieren und analysieren zu können. Durch neurogenetische Methoden lassen sich viele neuronale Zusammenhänge erläutern, die diesen Verhaltensmustern zugrunde liegen, während sie in höheren Vertebraten deutlich schwerer zu identifizieren sind. Diese Möglichkeit bietet ein entscheidendes Fundament, um Zusammenhänge zwischen Verhaltenseigenschaften, neuronalen Abläufen und genetischen Ursachen nachzuvollziehen (ARENDE D. UND NÜBLER-JUNG K., 1999, CAREW T. UND SAHLEY C., 1986; MILNER B. et al., 1998).

1.6.1 Genetische Werkzeuge bei *Drosophila melanogaster*

Die Entwicklung wichtiger Forschungsmethoden, die seit 1960 bis heute andauert, erlaubt tiefe Einblicke in zelluläre, entwicklungsbiologische und neuronale Vorgänge in *Drosophila melanogaster*. Der erste entscheidende Schritt war 1927 der Einsatz von Balancer-Chromosomen. Sie schaffen die Voraussetzung, um Mutationen in heterozygoten Stämmen aufrecht zu erhalten ohne in regelmäßigen Abständen Genotypisierungen vornehmen zu müssen (BELLEN H. et al., 2010). Eine stetige Weiterentwicklung brachte modernste, genetische Methoden hervor, die zu diversen Genmanipulationen in *Drosophila* befähigen. Einige grundlegende Techniken sind das GAL4/UAS-System (BRAND A. UND PERRIMON N., 1993), RNA-Interferenz (MOHR S. et al., 2014), NaChBac-Expression (HODGE J., 2009) und die Tetanus-Toxin-Light-Chain(TeTxLC)-Methode (BAINES R. et al., 1999), die im Weiteren kurz erläutert werden.

Die Methode des GAL4/UAS-Systems ermöglicht es, Genexpression gezielt zu leiten und so spezifische Gene ektopisch in definierten Zelltypen oder Geweben zu exprimieren. BRAND und PERRIMON isolierten den Transkriptionsfaktor GAL4 und dessen Upstream-Activating-Sequence (UAS)-Bindungsstelle aus der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* und brachten diese beiden Komponenten getrennt über P-Element-Insertion jeweils in das Genom eines transgenen Fliegenstamms ein. Auf diese Weise wird eine GAL4-Treiberlinie geschaffen, die ein aktivierendes Protein ohne Zielgen enthält sowie eine UAS-Effektorlinie erzeugt, die das entsprechende Zielgen beinhaltet. Erst durch eine Kreuzung der beiden Linien wird das Zielgen in den Nachkommen aktiviert, bedingt durch eine Bindung des GAL4-Proteins an seine regulatorische UAS-Zielsequenz (**Abbildung 4**). Die Möglichkeit, ein variables Gen mit seinem Promotor hinter die UAS-Bindestelle zu klonieren und über die größtenteils räumlich und zeitlich hochspezifischen GAL4-Treiberlinien gezielt zu lenken, eröffnet neue Möglichkeiten, neuronale Morphologie, Konnektivität und Aktivität zu erforschen (BRAND A. UND DORMAND E., 1995). Je nach Auswahl des eingebrachten Zielgens kann gezielt in das Expressionsmuster der betroffenen Zellen oder Gewebe eingegriffen werden; es kann beispielsweise in spezifischen Neuronen ein Fluorochrom wie GFP (Green Fluorescent Protein) exprimiert werden, um diese Neurone histologisch sichtbar zu machen (TSIEN R., 1998). Durch eine gezielte Expression von *reaper* in definierten Zellen werden diese gezwungen, Apoptose einzuleiten. Mithilfe dieses Vorgangs lässt sich untersuchen, wie sich der Verlust bestimmter Zell- oder Gewebetypen auf die Entwicklung oder das Verhalten eines Organismus auswirkt (WHITE K. et al., 1996). Das GAL4/UAS-System in *Drosophila* stellt einen maßgeblichen Grundstein dar, auf dem viele weitere genetisch-manipulative Techniken beruhen.



Mit der Einführung eines Inhibitors des GAL4, das GAL80-Protein, gelang es, einen höheren Grad der zeitlichen Regulierung des UAS-Zielgens zu erreichen. Wird GAL80 allein im Organismus exprimiert, führt es zu keinen folgenreichen phänotypischen Veränderungen, kann aber bei einer Coexpression die Aktivität von GAL4 inhibieren (LEE T UND LUO L., 1999). GAL80 ist ein temperatursensitives Protein, es kann bei 18°C als Repressor wirken und die transkriptionale Aktivität von GAL4 unterdrücken. Dadurch wird die Expression des UAS-regulierten Zielgens unterbunden. Bei einer Temperaturveränderung hin zu 30°C erfolgt eine Inaktivierung von GAL80, es diffundiert von der transkriptionalen Aktivierungsdomäne des GAL4-Proteins ab, sodass das UAS-regulierte Zielgen exprimiert werden kann. Über diesen Mechanismus kann ein Organismus in kritische Zeitperioden seiner Entwicklung, in denen die Expression des Transgens unverzichtbar ist, damit versorgt oder auf zeitlich sehr differenzierte Fragestellungen überprüft werden (MCGUIRE S. et al., 2003).

Eine zusätzliche Verfeinerung des GAL4/UAS-Systems brachte die neue Methode des *phiC31* ortsbezogenen Integrationssystems, über das ein gezieltes Einbringen von Enhancern möglich ist. Da es durch eine stabile, ortsspezifische Rekombination nicht mehr zu einem zufallsgesteuerten Einbau der Konstrukte kommt, wird vermieden, dass Positionseffekte die Genexpression beeinflussen (GROTH A. et al., 2004; PFEIFFER B. et al., 2008).

Direkten Einfluss auf spezielle Neurone im Sinne einer Hoch- oder Herunterregulierung ihrer Aktivität gewinnt man über den ektopischen Einbau von NaChBac-Kanälen und der TeTxLC-Methode. NaChBac ist ein spannungsgesteuerter, bakterieller Na⁺-Kanal, der eine niedrigere Erregungsschwelle zur Kanalöffnung aufweist. So kann bereits eine schwächere Depolarisation der Membran einen einwärts gerichteten Na⁺-Einstrom induzieren. Dies führt zu einer weiteren Depolarisation der Membran und löst damit eine

positive Feedbackschleife aus. Eine zielgerichtete Expression von NaChBac führt daher zu einer erleichterten Membranerregbarkeit in den adressierten Neuronen (NITABACH N. et al., 2006).

Die TeTxLC-Methode dient dagegen der gezielten Abschaltung von Neuronen. In den beabsichtigten neuronalen Arealen wird das Gen *tetanus-toxin light-chain* exprimiert. Das entstehende Tetanus-Toxin(TNT)-Genprodukt spaltet Synaptobrevin, ein synaptisches Vesikel-Membranprotein, das für die Freisetzung von Neurotransmittern benötigt wird. So wird in definierten neuronalen Gebieten unter der Kontrolle von GAL4 die exozytotische Ausschüttung von Neurotransmittern blockiert. Die gezielte Unterbrechung von synaptischer Kommunikation zwischen Neuronen erlaubt direkte Rückschlüsse auf Verbindungen zwischen neuronalen Kreisläufen und Verhaltensphänotypen (SWEENEY S. et al., 1995).

A. FIRE entdeckte 1998 im Modellorganismus *Caenorhabditis elegans* die Grundlage einer – im Nachgang sehr einflussreichen – Methode zur Stilllegung der Expression definierter Gene. Bei dieser RNA-Interferenz-Technik wird ein endogener, hochkonservierter Zellschutz-mechanismus genutzt, der sich ursprünglich gegen das Eindringen von doppelsträngiger Virus-RNA und den Angriff von transposablen Elementen richtet. Sobald doppelsträngige RNA (dsRNA) in das Cytoplasma einer Zelle eingeführt wird, spaltet das Ribonuklease-Enzym DICER sie in kurze, doppelsträngige Fragmente, die als short interfering RNA (siRNA) bezeichnet werden. Nach einer Aufspaltung dieser Fragmente kann einer der Einzelstränge in den RISC-Komplex (RNA-induced silencing complex) aufgenommen werden und es kommt zu einer Bindung des sogenannten Leitstrangs an die komplementäre Basensequenz der zelleigenen mRNA. Diese Bindung aktiviert den Enzym-Komplex, die gebundene mRNA wird in Stücke gespalten und abgebaut. Auf diese Weise kann durch die Einführung von dsRNA, die eine homologe Basensequenz zu der RNA des ausgewählten Gens aufweist, die Translation dieses spezifischen Gens supprimiert werden (MEISTER G. UND TUSCHL T., 2004; BUCKINGHAM S. et al., 2004). Besonders wirkungsreich ist RNAi, wenn sie in einem Modell-organismus wie *Drosophila* eingesetzt wird, da hier das Genom vollständig sequenziert vorliegt und eine Fülle an Physiologie- und Verhaltensdaten existieren, womit direkte Rückschlüsse auf die Funktion einzelner Gene gezogen werden können.

1.6.2 Kletterverhalten bei *Drosophila melanogaster*

Das Kletterverhalten von *Drosophila melanogaster* weist eine hohe Komplexität auf; es ist für Studien zu Bewegungsabläufen, körperlicher Fitness, visueller Wahrnehmung und sensorischem Anreizverhalten besonders interessant. Die Fliegen müssen das Hindernis visuell einschätzen, die Kletterbewegung gerichtet initiieren und können dann durch koordinierte Muskelabläufe die andere Seite erreichen. Bei einer Körpergröße von durchschnittlich 2,5 mm können die Tiere mit einer optimalen Strategie Lückenbreiten von bis zu 4,0 mm überwinden.

Um vergebliche Überquerungsversuche zu vermeiden, die einen großen Energieverlust bedeuten würden, schätzt eine Fliege beim Anlauf auf die vor ihr liegende Lücke ab, ob ihre Kletteranstrengungen aussichtsreich sind. Es lässt sich beobachten, dass

die Tiere ihre eigene Größe im Bezug zur dargebotenen Lückenbreite gut einschätzen können, da ihre Kletterversuche ab einer unerreichbaren Lückenbreite von 4,5 mm deutlich abnehmen.

Bei *Drosophila* dient die Parallaxenbewegung der Entfernungseinschätzung beim Anlaufen auf das Hindernis. Bei Wahrnehmung von Distanzen durch Bewegungsparallaxe wird ausgenutzt, dass es zu einer Bildbewegung von Objekten in der Umgebung auf der Retina des Betrachters kommt, sobald der Betrachter eine Eigenbewegung ausführt. Hierbei bewegen sich näher liegende Objekte stärker auf der Retina als entferntere Objekte und es ergibt sich eine räumliche Anordnung (ROGERS B. UND GRAHAM M., 1982). In verschiedenen Insektenpezies, wie der Heuschrecke und der Gottesanbeterin, ist bekannt, dass Bewegungsparallaxe durch seitwärts gerichtete ("peering") oder auf-abwärts-gerichtete ("bobbing") Bewegungen des Kopfes hervorgerufen wird um beispielsweise eine Einschätzung der Distanz zur Beute zu ermöglichen (KRAL K. UND POTESER M., 1997). Kopfbewegungen und binokulares Sehen zur Distanzmessung können bei *Drosophila* ausgeschlossen werden, da ihnen im Rahmen von Versuchsreihen bei Hindernisanläufen der Kopf am Thorax befestigt bzw. der binokulare Bereich eines Auges verdeckt wurde und sie trotzdem eine Lückenbreite korrekt einschätzen. Bei den Fliegen entsteht die Bewegungsparallaxe "en route", während sie auf ein Hindernis zulaufen. Die Objektbewegungen auf der Retina ergeben sich dabei durch den Anlauf an sich und zusätzlich durch dabei entstehende kleine Oszillationen von 3°-5°, die durch den tripodischen Gang hervorgerufen werden. Diese These ließ sich mit dem Aufmalen eines vertikalen Streifenmusters auf der gegenüberliegenden Lückenseite untermauern, da die Tiere daraufhin verstärkte Kletterbemühungen aufweisen. Den Tieren wird dabei eine Nähe vorgetäuscht, da die vertikalen Streifen zu einer stärkeren Reizung der Bewegungs-detektoren für horizontale Bewegungen führen (PICK S. UND STRAUSS R., 2005).

Bewertet eine Fliege die Lücke als überwindbar und die Kletterbemühung als lohnend, beginnt sie ein Kletterverhalten mit koordinierten Beinbewegungen.

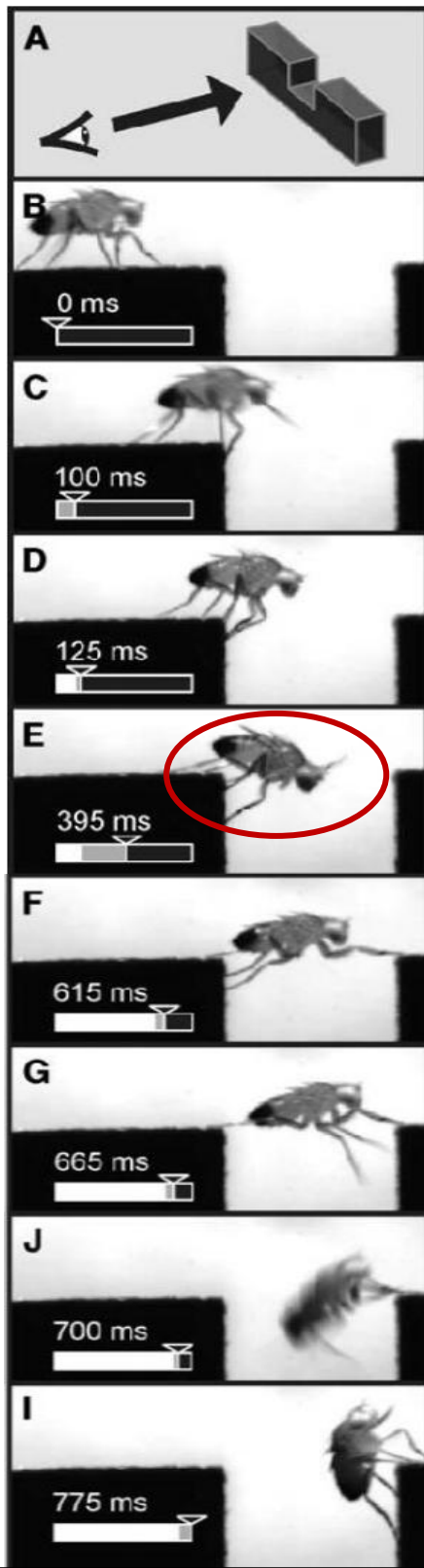


Abbildung 5: Kletterverhalten einer männlichen Fliege an einer 3,5 mm breiten Lücke, aufgenommen mit einer Hochgeschwindigkeitskamera

Die Pfeilspitze zeigt die Zeit an, die die Fliege von Beginn der Bewegung an bis zu dem Abschnitt gebraucht hat.

(modifiziert nach PICK S. UND STRAUSS R., 2005)

Der Bewegungsablauf, den die Tiere zum Überqueren der Lücke aufzeigen, lässt sich in mehrere Abschnitte untergliedern (**Abbildung 5**).

Die Fliegen laufen auf eine Lücke zu (**B**); sobald sie die Kante der Lücke erreichen, treten sie ins Leere und bemerken so das Hindernis (**C**). Als Folge auf diesen Schritt ins Leere erstarren die Tiere oft für einen kurzen Moment, eine Reaktion, die als "freezing" bezeichnet wird. Dann strecken sie ihr Abdomen ein Stück weit in die Lücke hinein und heben es dabei ein wenig an (**D**). Als nächstes beginnen sie mit einer Suchbewegung, mit der sie versuchen, den ersten Kontakt zu der gegenüberliegenden Seite zu erreichen. Sie heben dafür ihre Vorderbeine über den Kopf und tasten mit gezielten Suchschlägen in die Ferne. Dieser zielgerichtete Bewegungsablauf wird als "Bein-über-Kopf"-Verhalten bezeichnet und als Indikator für eine Kletterbemühung gewertet. Da Fliegen diese Bewegung in ihrem normalen Laufverhalten nicht aufzeigen, drückt dieses Verhalten die positive Entscheidung der Tiere aus, eine Überkletterung in Angriff zu nehmen. Zur Optimierung ihrer Reichweite stemmen die Fliegen während der Ausführung der Suchschläge ihren Körper mithilfe der Mittelbeine hoch, ziehen ihre Hinterbeine möglichst nah an die Kante und perfektionieren die Ausrichtung ihrer Körperachse (**E**). Bei einem geglückten Versuch schlagen die Vorderbeine auf der gegenüberliegenden Kante auf, die Tiere strecken sich in die Länge und ihr Körper überbrückt für einen kurzen Augenblick die Lücke (**F**). Daraufhin ziehen die Fliegen sofort die Mittelbeine und Hinterbeine nach (**G**). Die Fliegen schwingen bedingt durch die Schwerkraft über die Lücke an die gegenüberliegende Wand (**J**). So können die Fliegen sich an der Gegenseite der Lücke hochziehen, über die Kante klettern und ihren Lauf fortsetzen (**I**). Dieses vollendete Vorgehen ermöglicht es den Fliegen, Lückenbreiten zu überklettern, die fast das Doppelte ihrer Körperlänge betragen.

1.6.3 Erlernte Balzkonditionierung in *Drosophila melanogaster*

Im Gegensatz zur klassischen Konditionierung, bei der die Belohnungen und Bestrafungen für die Versuchstiere willkürlich erfolgen und die damit verknüpften Reflexe überprüft werden, hat das Versuchstier bei der operanten Konditionierung Einfluss auf die Intensität seiner Behandlung. Das Tier kann dabei durch ein von sich aus gezeigtes, bestimmtes Verhalten oder eine Vermeidungsreaktion seine Belohnung oder Bestrafung modulieren. Diesem Modell der operanten Konditionierung entspricht das Verhaltensparadigma der Balzkonditionierung nach SIEGEL und HALL von 1979.

Das Balzverhalten von *Drosophila* lässt sich leicht erkennen und quantifizieren, bei der Betrachtung des Verhaltens männlicher Fliegen lassen sich unterschiedliche Verhaltensbausteine in einer meist ähnlichen Reihenfolge identifizieren. Die männliche Fliege zielt in ihrer Handlung darauf ab, möglichst viele sensorische Informationen über ihr Zielobjekt zu erhalten und nutzt visuelle, chemosensorische, olfaktorische und auditive Reize, um in Kontakt mit dem erwähnten Weibchen zu kommen (GRIFFITH L. UND EJIMA A., 2009). Zu Beginn des Balzverhaltens nimmt das männliche Tier das Weibchen wahr und richtet in der Orientierungsphase seine Körperachse günstig nach ihm aus. Es folgt dem Weibchen mit geringem Abstand und versucht, möglichst oft das weibliche Abdomen mit seinen Vorderbeinen zu berühren. In Zuge dessen streckt es dabei einen seiner Flügel seitlich aus und vibriert ihn mit einer spezifischen Frequenz. Dieses markante und zentrale Element der Balz wird als Balzgesang bezeichnet. Dieser Balzgesang besteht aus zwei unterschiedlichen Komponenten, die als "sine song" und "pulse song" bezeichnet werden. Der "sine song" ist ein sinusförmiges Summen bei einer niedrigen Frequenz von 140 bis 170 Hertz, der "pulse song" hingegen setzt sich zusammen aus kurzen, unterbrochenen, wiederholten Amplitudenmodulationen einer Trägerwelle von 150 bis 300 Hertz. Zwischen den Amplitudenausschlägen im "pulse song" liegen kurze Intervalle, die bei *Drosophila melanogaster* um die 34 ms lang sind und sich speziesspezifisch unterscheiden. Während der "sine-song" die Weibchen anfänglich stimulieren und in einen paarungsbereiten Zustand versetzen soll, wird der "pulse song" für eine stärkere sexuelle Anregung eingesetzt und ermöglicht dem Weibchen gleichzeitig, das Männchen speziesspezifisch einzuordnen (CLYNE J. UND MIESENBOCK G., 2008; VON SCHLICHER F., 1976). Erkennt das Weibchen den konspezifischen Balzgesang und ist es sexuell rezeptiv, verlangsamt es seine Lokomotion und zeigt so eine Paarungsbereitschaft. Das Männchen beginnt daraufhin an den weiblichen Genitalien zu lecken und manifestiert Kopulationsversuche, indem es sein Abdomen nach vorne krümmt. Die weibliche Fliege senkt ihr Abdomen ab und spreizt leicht die Flügel, um dem Männchen die Kopulation zu erleichtern (**Abbildung 6**). Eine erfolgreiche Kopulation dauert 15 bis 20 Minuten (YAMAMOTO D. UND KOGANEZAWA M., 2013).

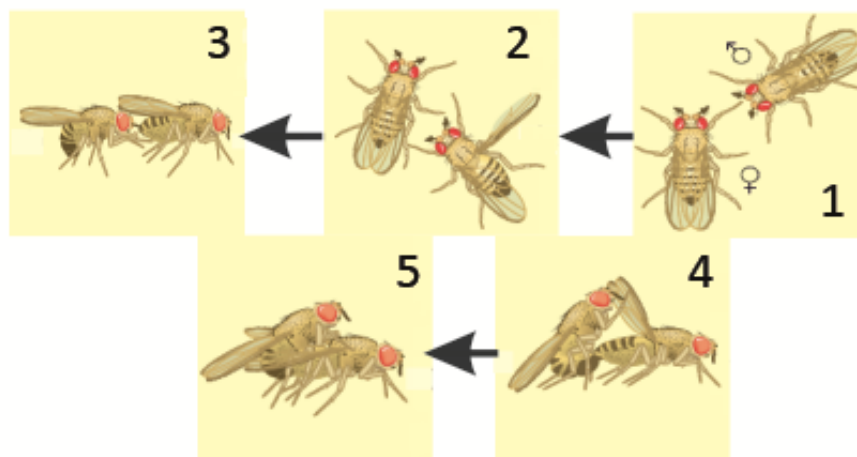


Abbildung 6: Balzverhalten von *Drosophila melanogaster*

Das männliche Tier ortet das Weibchen und folgt ihm mit geringem Abstand (1), dabei positioniert es sich in einer günstigen Position und beginnt mit der Flügelvibration, dem sogenannten Balzgesang (2). Bleibt das Weibchen stehen, leckt das Männchen dessen Genitalien (3) und probiert erste Kopulationsansätze (4). Die Kopulation dauert bis zu 20 Minuten (5).

(modifiziert nach: O'DELL K. UND KAISER K., 1997)

Das Balzverhalten bei *Drosophila* ist ein angeborenes Verhalten, die Männchen müssen es nicht von Artgenossen erlernen. Einzig die Unterscheidung zwischen geeigneten Sexualpartnern, wie beispielsweise jungfräulichen Weibchen, und ungeeigneten Adressanten, wie beispielsweise frisch verpaarten Weibchen oder jungen Männchen, sind durch Erfahrungen beeinflussbar (BAKER B. et al., 2001). Dies macht man sich bei der Balzkonditionierung zu Nutze. Trifft ein Männchen auf ein bereits verpaartes, unempfindliches Weibchen, wehrt dieses seine Balzversuche mit Tritten, Flügelschlägen, Flucht und dem Ausfahren des Ovipositors ab (WINBUSH A. et al., 2012). Wird ein männliches Tier für eine Stunde mit einem verpaarten Weibchen auf engem Raum zusammengesetzt, nimmt seine Balzaktivität stark ab. Dieser Effekt bleibt gegenüber verpaarten Weibchen für bis zu acht Stunden, im Kontakt mit jungfräulichen Weibchen für bis zu drei Stunden, bestehen. Wird das männliche Tier mehrmals in Intervallen zu einem verpaarten Weibchen hinzugesetzt, kann die Balzunterdrückung bis zu neun Tage anhalten (GAILEY D. et al., 1984; REIF M. et al., 2002). Dieser Vorgang beruht nicht auf Erschöpfung oder Gewöhnung des männlichen Tiers, sondern lässt sich als assoziatives Lernen bezeichnen und wird daher aufgrund seiner recht einfachen Handhabung zur Untersuchung biochemischer Vorgänge des Lernens eingesetzt.

1.6.3.1 Lernen und Gedächtnis in *Drosophila*: Molekulare Mechanismen

"Learning and memory are two of the most magical capabilities of our mind." (KANDEL E. et al., 2014)

Lernen definiert sich als der Prozess des Erwerbens neuer Fähigkeiten, neuer Informationen und neuen Wissens, während der Begriff Gedächtnis die Fähigkeit beschreibt, dieses angeeignete Wissen über einen gewissen Zeitraum abzuspeichern und wieder abzurufen. Gedächtnis bewirkt länger anhaltende Verhaltensänderungen in Lebewesen, basierend auf vorangegangene Erfahrungen (KANDEL E. et al., 2014; OKANO H. et al., 2000). Die Speicherung von Erinnerungen ist kein gradliniger Prozess; sie kann eher als Resultat vieler interaktiver Abläufe gesehen werden und sich über unterschiedlich lange Zeiträume abspielen. Sie beginnt mit der Wahrnehmung und dem unmittelbaren Erlernen. In der Folge können Informationen über das Kurzzeitgedächtnis und das mittelfristige Gedächtnis über Konsolidierung bis ins Langzeitgedächtnis gelangen. Im Langzeitgedächtnis werden Informationen weiterhin ständig bearbeitet, sie müssen aufrechterhalten, aktualisiert, im Zuge von Wiederherstellungsprozessen restabilisiert und mit weiteren Informationen kombiniert werden.

Angesichts verstärkter Forschung auf diesem Gebiet wurde ab 1970 verstärkt auf vereinfachende Tiermodelle zurückgegriffen. Hierbei wurden vermehrt Invertebraten eingesetzt und es stellte sich heraus, dass selbst Lebewesen mit einer relativ geringen Anzahl an Nervenzellen, wie *Drosophila* mit ungefähr 200.000 im Nervensystem, beachtenswerte Fähigkeiten zu lernen aufweisen. Sie verfügen über eine breite Spanne an Lernmustern, wie Habituation, Sensibilisierung, klassische oder operante Konditionierung, wobei diese je nachdem zu einem Kurz- oder Langzeitgedächtnis führen (KANDEL E. et al., 2014).

Zu den bekanntesten Lernparadigmen für *Drosophila* zählt die olfaktorische Konditionierung, bei der die Tiere über klassische oder operante Konditionierung Belohnungen und Bestrafungen mit einem Duftreiz assoziieren (QUINN W. et al., 1974; TULLY T. UND QUINN W., 1985). Im Verlauf dieser Experimente konnten unterschiedliche, distinkte Gedächtnisformen in *Drosophila* nachgewiesen und präzisiert werden (TULLY T. et al., 1994). Ein weiteres bedeutendes Lernparadigma für operante Konditionierung stellt die "Heat-Box" dar; in diesem Versuchsaufbau bilden die Tiere ein stabiles Ortsgedächtnis aus. Dieses Gedächtnis unterscheidet sich von dem olfaktorischen Gedächtnis anhand der dafür benötigten Neurotransmitter und der beteiligten Gehirnstruktur, da der Pilzkörper nicht benötigt wird (PUTZ G. UND HEISENBERG M., 2002; SITARAMAN D. et al., 2010). Ein visuelles Gedächtnis lässt sich im Flugsimulator beobachten, wobei die Fliege sich bestimmte Muster und Farben sehr gut merken kann (BREMBS B. UND HEISENBERG M., 2000). Im Rahmen dieser Arbeit wird das Lernparadigma der konditionierten Balzsuppression eingesetzt, bei dem männliche Fliegen ihr Balzverhalten vermindern, nachdem sie über längere Zeit von einem unrezeptiven Weibchen abgewiesen wurden (s. 1.7 Erlernte Balzkonditionierung).

Die Grundlage der Ausbildung eines Gedächtnisses sind neue synaptische Verknüpfungen und Veränderungen der synaptischen Transmission (OKANO H. et al., 2000). Am besten beschrieben sind die molekularen und biochemischen Vorgänge in der

Duftkonditionierung, bei der für die Fliegen ein Duft als konditionierter Stimulus mit einem Elektroschock als unkonditionierter Stimulus gepaart wird. Eine zentrale Rolle in diesem assoziativen Lernen spielt die cAMP-Signaltransduktionskaskade. Die entscheidenden Hinweise lieferten Experimente mit Mutanten, über deren Defekte in ihrem Lernverhalten sich die zentralen Komponenten der cAMP-Kaskade charakterisieren ließen. Das *dunce*-Gen (Isolierung der *dunce* Mutante 1976 von DUDAI Y. et al.) codiert eine Phosphodiesterase, die spezifisch cAMP mit einer hohen Affinität bindet und abbaut. Das *rut*-Gen (Isolierung der Mutante 1984 von LIVINGSTONE M. UND TEMPEL B.) codiert demgegenüber eine Ca^{2+} /Calmodulin-aktivierte Adenylatcyclase, die cAMP aufbaut. Weiterhin ließ sich die Proteinkinase A anhand von Mutanten mit Veränderungen ihrer Untereinheiten identifizieren (DAVIES R. et al., 1995). Da diese Gene sehr stark im Pilzkörper exprimiert werden und die Wiederherstellung der cAMP-Signalkaskade im Pilzkörper das Verhalten der Lernmutanten retten kann, lassen sich die Pilzkörper als Zentren im Gehirn von *Drosophila* beschreiben, die sensorische Informationen für Gedächtnisprozesse integrieren (WADDELL S. UND QUINN W., 2001). Das Modell des olfaktorischen Lernens beschreibt, dass bei diesem Vorgang ein Neuron der Pilzkörper sensorischen Eingang über Interneurone des antenno-glomerulären Trakts in den Pilzkörper-Calices erhält. Darüber hinaus erfolgt sensorischer Eingang über modulatorische (dorsal-paired-medial) Neurone, die bei dem Elektroschock das Neuropeptid AMN freisetzen. Das koinzidente Auftreten dieser beiden sensorischen Eingänge bedingt die Aktivierung der RUT-Adenylatcyclase, dies bewirkt eine Erhöhung des cAMP-Spiegels und damit verbunden eine Aktivierung der Proteinkinase A. Die Dauer dieser Aktivierung der Proteinkinase A (PKA) legt fest, ob ein Kurzzeit- oder ein Langzeitgedächtnis ausgebildet wird. Zur Bildung eines Langzeitgedächtnisses phosphorylieren die katalytischen Untereinheiten der PKA Transkriptionsfaktoren wie das cAMP-response-element-binding-protein (CREB). Dieses führt zu transkriptionsabhängigen synaptischen Veränderungen, die die Grundlage des Langzeitgedächtnisses bilden (WADDELL S. UND QUINN W., 2001; DUBNAU J. UND TULLY T., 1998).

1.6.3.2 Neuropeptid F in der Balzfrustration – Homolog zu dem humanen Neuropeptid Y

Neuropeptid Y (NPY) wurde 1982 erstmalig isoliert und sequenziert, es ist ein Protein bestehend aus 36 Aminosäuren, welches im zentralen Nervensystem breit exprimiert und evolutionär hochkonserviert ist (TATEMOTO K. et al., 1982). Es ist das am häufigsten vorkommende Peptid in Gehirn, besonders stark wird es in der Amygdala, dem Nucleus accumbens, verschiedenen hypothalaminergen Kernen, dem Cortex und dem Hippocampus exprimiert (ADRIAN T. et al., 1983). Aufgrund dieser konzentrierten Verteilung des Neuropeptides in Gehirnregionen, die für die Verarbeitung von Emotionen, emotionale Wertigkeiten und Erinnerungen zuständig sind, geriet Neuropeptid Y in den Fokus der Forschung, die mentale Störungen behandelt. Es zeigt sich, dass NPY und dessen Rezeptoren eine große Rolle in der Regulierung von Verhalten und physiologischer Antwort auf bestimmte, meist negativ behaftete, Emotionen spielen, beispielsweise Angst, Stress und

Schmerz und Einfluss nehmen auf Alkoholkonsum, Lernen und Gedächtnis, circadiane Rhythmen und Essverhalten (HEILIG M., 2004; REDROBE J. et al., 2004). Im Rahmen dieser Arbeit liegt das Interesse besonders auf der Auswirkung von Stress und Depression. Es ließ sich nachweisen, dass das NPY an der Wahrnehmung und dem Umgang mit Stress sowohl in Nagern als auch im Menschen beteiligt ist. Ein höherer Spiegel des Neuropeptids führt zu einer größeren Resistenz gegenüber Stress und Belastung und unter Stresseinfluss können bessere Leistungen erbracht werden. Dabei ließen sich Abhängigkeiten zwischen der Belastbarkeit im Menschen gegenüber Stress und Emotionen und der individuell-variierenden NPY-Expression nachweisen (ZHOU Z. et al., 2008). Individuen mit einer niedrigeren Expression an NPY weisen eine höhere Aktivität der Amygdala und damit verbunden stärkere Reaktionen auf Emotionen auf. Da Symptome wie Angstzustände und Depression häufig gleichzeitig auftreten, wurde die Bedeutung von NPY in der Depression untersucht. In den Tiermodellen der Depression zeigte sich, dass der Einsatz spezieller NPY-Präparate depressionsartige Verhaltensphänotypen nach "Chronic Mild Stress"- und "Learned Helplessness"-Paradigmen rückgängig machen kann. Hierbei wirken einzig Agonisten eines speziellen NPY-Rezeptors, des Y1-Rezeptors. Zudem ließ sich nachweisen, dass Behandlungen mit Antidepressiva wie SSRIs, Lithium oder elektrokonvulsive Therapie die NPY-Expression steigert und der NPY-Spiegel in den Tieren nach einer solchen Behandlung normalisiert ist (REDROBE J. et al., 2002; HUSUM H. et al., 2000). Obendrein belegen klinischen Studien, dass Patienten mit Depressionen im Vergleich zu gesunden Probanden über eine herabgesetzte Konzentration an NPY in ihrer cerebrospinalen Flüssigkeit verfügen (HEILIG M. et al., 2004).

Im Genom von *Drosophila* befindet sich eine Sequenz, die für ein Homolog des NPY in Säugern codiert, *Drosophila* Neuropeptid F (NPF). Sowohl die Sequenz des NPF als auch die seines Rezeptors NPFR1 sind evolutionär hochkonserviert in Struktur und Funktion zu dem Peptid in Säugern (BROWN M. et al., 1999; GARCZYNSKI S. et al., 2002). Anatomisch verzweigen sich die vier größten NPF-exprimierenden Neurone im Gehirn von *Drosophila* im dorsalen Protocerebrum und umgeben teilweise die Neuropile der Pilzkörper (NÄSSEL D. UND WEGENER C., 2011). Das Spektrum der Wirkungsweise von NPF und dem dazugehörige Rezeptor NPFR1 umfasst in Fliegen ihr Futtersuchverhalten, ihr Fressverhalten und ihr Motivationsverhalten bei der Futteraufnahme, Aggression, Sensitivität gegenüber Alkohol sowie ihre circadiane lokomotorische Aktivität (KIM W. et al., 2013). Auch in Bezug auf den Faktor Stress zeigt NPF eine Wirkung in *Drosophila*; das NPF-System ist ein guter Kandidat für die zentrale Regelung der Stressantwort in den Fliegen. Es wurde dokumentiert, dass NPF vorgehungerte Larven resistenter gegen äußere Stressfaktoren macht, dies führt dazu, dass ihr Verhalten zur Futterbeschaffung risikobehafteter ausfallen kann. Es wird vermutet, dass der NPF-Signalweg sich auf das Futtersuchverhalten über einen Anti-Stress-Mechanismus auswirkt. Für diese Theorie spricht zudem die Entdeckung, dass das NPF-Signalsystem direkt die Antwort von TRP-Kanälen auf stressreiche Stimuli unterdrücken kann. TRP-Kanäle vermitteln in *Drosophila* Aversionsverhalten gegenüber thermische, mechanische oder chemische Stressfaktoren, daher wird durch die Abschwächung dieser Kanalerregung die Toleranzschwelle gegenüber Stresserscheinungen erhöht (Xu J. et al., 2010). Eine weitere

zentrale Studie beschreibt, dass ein Zusammenhang zwischen dem NPF-Spiegel im Gehirn von *Drosophila* und sexueller Frustration besteht. Tiere weisen nach einer längeren Phase der sexuellen Deprivation durch verpaarte, unempfindliche Weibchen einen histologisch messbar abgesenkten Spiegel an NPF im Gehirn auf. Zudem konnte man im Verhalten der Tiere beobachten, dass ein andauernder Misserfolg in der Balz dazu führt, dass die Männchen in größeren Mengen Alkohol konsumieren als ihre sexuell erfolgreichen Artgenossen. Diese Verstärkung im Alkoholkonsum ließ sich durch eine Erhöhung ihres intrakraniellen NPF-Spiegels aufheben. Im Rahmen dieser Studie wird daher ein Modell vorgestellt, nachdem das NPF/NPFR-System auf neuronaler Ebene den Zustand des internen Belohnungssystems von *Drosophila* repräsentiert. Bestätigt wurde diese Annahme durch Versuchsreihen, in denen die Tiere die künstliche Aktivierung der NPF-Neurone in Lernassays als Belohnungsreiz bewerteten. Die Aktivierung der NPF-Neurone vermittelt demnach ein Belohnungssignal und kann die Reaktion der Tiere auf weitere zugeführte Belohnungsstimuli modulieren (SHOHAT-OPHIR G. et al., 2012). Anhand einer neuen Technik, bei der sich neuronale Aktivität mithilfe eines transkriptionalen Reporters des intrazellulären Calciumspiegels nachverfolgen lässt, konnte die Veränderung der NPF-Aktivität durch die Balzdeprivation in einer oberen Schicht des fächerförmigen Körpers – einer weiteren Gehirnstruktur des Zentralkomplexes in *Drosophila* – lokalisiert werden (GAO X. et al., 2015). Viele in *Drosophila* beschriebene Funktionen des NPF/NPFR-Systems zeigen Übereinstimmungen mit den Erkenntnissen zu Funktion und Regulierungsmechanismus des NPY aus Säugern und liefern Einsichten in die Interaktion zwischen sozialen Erfahrungen, Stress und dem Belohnungssystem.

1.7 Zielsetzung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit den beiden anthropomorphen Parametern Motivation und Depression in dem genetisch adressierbaren Modellorganismus *Drosophila*. Ausschlaggebend ist hierbei die Beobachtung, dass die natürliche Aktivität von *Drosophila* artifiziell durch äußere Einflüsse im Sinne dieser Parameter moduliert werden kann.

Daher wird im Rahmen dieser Arbeit zunächst die Aktivität und Motivation der Tiere bei Verabreichung attraktiver Stimuli olfaktorischer oder visueller Art bewertet, wobei als Maß die Kletteraktivität dient. Über die Auswertung der Kletterbemühungen der Tiere lassen sich direkte Rückschlüsse auf die Motivation der Tiere, die andere Seite zu erreichen, ziehen. Dabei wird der Einfluss von bestimmten Hirnstrukturen auf die Motivationssteuerung bei unterschiedlichen Sinnesreizungen untersucht, um im weitesten Sinne einem "limbischen System" in der Fliege auf die Spur zu kommen.

Ein besonderes Augenmerk dieser Arbeit richtet sich zudem auf den Parameter Depression. Hierbei werden die Tiere über wiederkehrende, für sie unkontrollierbare Stressreize in einen depressionsartigen Zustand verminderter Aktivität versetzt. Kontrolliert wird diese Aktivitätsminderung in unterschiedlichen Verhaltensparadigmen wie Lokomotion, Balz oder Klettern, um zu verdeutlichen, dass es sich hierbei um die Darstellung eines generellen, nachhaltigen Phänomens handelt. In einem nächsten Schritt werden Unterschiede zu dem bereits bekannten Phänotyp der konditionierten Balzfrustration ausgeführt, es lassen sich grundlegende Differenzen in biochemischen Prozessen, wie beispielsweise der cAMP-Kaskade, herausarbeiten.

Auf Basis dieser Erkenntnisse sollen die biochemischen Grundlagen der depressionsartigen Aktivitätsminderung in *Drosophila* genauer charakterisiert werden. Dies führt zu einer intensiven Auseinandersetzung mit dem Einfluss des serotonergen Systems auf den Aktivitätszustand der Tiere nach unkontrollierbarem Stress, wobei sowohl bestimmten serotonergen Neuronen als auch Rezeptoren eine wichtige Rolle zugeschrieben werden kann.

Im Zuge dieser biochemischen Analyse lässt sich die besondere Wirkung der Verabreichung von Saccharose auf das depressionsartige Verhalten akzentuieren und mit Serotonin in Verbindung bringen.

Ein Etappenziel der Arbeit ist daher die Etablierung eines neuen Verhaltensparadigmas, welches die Betrachtung eines depressionsartigen Verhaltensphänotyps ermöglicht. Auf dieser Basis gelingt es, Einblick in die diesem Verhalten zugrunde liegenden biochemischen Abläufe sowie deren pharmakologischen Behandlungsmöglichkeiten zu erhalten und es von dem in der sexuellen Deprivation erzeugten, assoziativ gelernten Frustrationsverhalten abzugrenzen.

2 Material und Methode

2.1 Material

2.1.1 Geräte

Tabelle 1: Verwendete Geräte

Gerät	Verwendung	Modell	Hersteller
Aquarium-Pumpe	Duftstrom Apfel-Hefe	M2K2	Schego
Binokular		M7	WILD Heerbrugg
Binokular		SZ61	Olympus
Feinwaage	Einwaage Chemikalien	2254	Sartorius
Funktionsgenerator	Frustrationsapparatur	3310B	Hewlett-Packard GmbH
Heizbad		WNB14	Memmert
Konfokalmikroskop	Antikörper-Histologie	SP6	Leica
Kühlblock		Edmund Bühler	TK108
Kühlblock		Fryka-Kältetechnik	TK300
Leuchtstoffröhre	Schnelle Phototaxis	Philips	TL 20W(33)
Kaltlichtquelle	Beleuchtung Apparatur	KL 1500	Schott Mainz
Magnetrührer	Ansatz Chemikalien	COMBIMAG RCH	Janke und Kunkel KG IKA Werk
Mikrotom	Paraffin-Histologie	1140/Autocut	Reichert-Jung
Oszilloskop	Frequenzkontrolle Frustration	TDS 210	Tektronix
Pipetten-Set	Antikörper-Färbungen		Eppendorf
Schüttler	Vibrations-Frustration	Type 4810	Brüel & Kjoer
Stoppuhr	Messung Balzzeit	SKT338N	Oregon Scientific
Thermoschrank	25°C/30°C-Schrank		Liebherr
UV-Lichtmikroskop	Autofluoreszenz- Paraffin-Histologie	BXF053	Olympus
UV-Lichtmikroskop	Analyse der Antikörper- Färbung	Axioplan	Zeiss
Wärmeschrank		U25	Memmert
Wärmeschrank	64°C Schrank Paraffin	T 6030	Heraeus Instruments
Zeitschaltuhr	Frustrationsapparatur	EMT2400G	Everflourish

2.1.2 Lösungen

PBS	3,8g/500ml NaCl 0,625g/500ml Na ₂ PO ₄ *H ₂ O 0,207g/500ml Na ₂ PO ₄ *H ₂ O
8% PFA/PBS	0,8g Formaldehyd 8ml ddH ₂ O 100µl 1N NaOH (<60°C) 100µl 1N HCL 1ml 10xPBS ddH ₂ O auf 10ml
4% PFA/2,0xPBT	500µl 8% PFA/PBS 200µl 10% Triton X-100 (Merck-)Stammlösung 250µl ddH ₂ O 50µl 10xPBS
4%PFA/0,2xPBT	500µl 8% PFA/PBS 20µl 10% Triton X-100 480µl PBS
PBT 0,3%	5ml 10xPBS 1,5ml 0,1% Triton X-100 (10% Stammlösung in ddH ₂ O)
Carnoy-Lösung	30 ml 99,8% Ethanol (vergällt) 15 ml 99,8% Chloroform 5 ml 90 % Eisessig

2.1.3 Antikörper

Primäre Antikörper

Tabelle 2: Verwendete primäre Antikörper

Antikörper	Tier	Firma	Verdünnung
Anti-GFP	chicken (IgY)	Aves	1:2000
Anti-Serotonin (5HT)	rabbit	Sigma	1:1000
Anti-Trio	mouse	DSHB	1:100
Anti-Fasciclin II	mouse	DSHB	1:100

Sekundäre Antikörper

Tabelle 3: Verwendete sekundäre Antikörper

Sekundärer Antikörper	Farbstoff	Firma	Verdünnung
Anti-chicken	Alexa Fluor 488	Invitrogen	1:1000
Anti-chicken	Alexa Fluor 488	Invitrogen	1:2000
Anti-rabbit	Cy3	Jackson/Dianova	1:1000
Anti-mouse	Cy3	Jackson/Dianova	1:1000

2.1.4 Medien/Lösungen

Standard-Futtermedium zur Fliegenzucht

Die Zuchtgläser werden mit einem Futterbrei befüllt, der aus Maisgries, Sojamehl, Malzextrakt, Zuckerrübensirup, Bierhefe, Bäckerhefe, Agar-Agar und Wasser besteht. Zusätzlich werden spezielle Pappstreifen, die mit Methyl-4-Hydroxybenzoat (Nipagin) und Hefesuspension beträufelt werden, in den Futterbrei gesteckt.

Apfelsaft-Hefe-Lösung	150 ml Apfelsaft (Vitafit naturtrüb) 20 g Frischhefe (Wieninger Hefe)
Saccharose-Lösung (5%)	2,5 g Saccharose/50 ml H ₂ O vermischt mit: <ul style="list-style-type: none"> • Lebensmittelfarbe (Schwartau (5ml/50ml)) • Patent blue V sodium salt
5-Hydroxy-L-Tryptophan-Lösung	(-)-5-Hydroxy-L-Tryptophan (1mg/ml) in <ul style="list-style-type: none"> • 5% Saccharose-Lösung • ddH₂O + Patentblau
α-Methyl-DL-Tryptophan-Lösung	500 µl ddH ₂ O/Patentblau + 500 µl /100mM α-Methyl-DL-Tryptophan-Lösung 500 µl 5%Sacc/Lebensmittelblau + 500 µl /100mM α-Methyl-DL-Tryptophan-Lösung
Naratriptan-Lösung	990 µl ddH ₂ O/Patentblau + 10 µl/10mM Naratriptan-Lösung
Tandospirone-Lösung	800 µl ddH ₂ O/Patentblau + 200 µl/2,5mM Tandospirone-Lösung (aufgelöst in 1:1 ddH ₂ O/EtOH)
8-Hydroxy-DPAT-Lösung	990 µl ddH ₂ O/Patentblau + 10 µl/10mM 8-OH-DPAT-Lösung

2.1.5 Chemikalien

5-Hydroxy-L-Tryptophan	Sigma CAS-Nr.: 4350-09-8 Best.Nr.: H9772
8-Hydroxy-DPAT Hydrobromid	Tocris CAS-Nr.: 76135-31-4 Best.Nr.: 0529
α -Methyl-DL-Tryptophan	Sigma Art: crystalline CAS-Nr.: 153-91-3 Best.Nr.: M8377
Chloroform	Sigma CAS-Nr.: 6766-3 Best.Nr.: C2432
Diethylether	Sigma CAS-Nr.: 60-29-7 Best.Nr.: 296082
Eiweißglycerin	Waldeck Best.Nr.: 3T-012
Entellan (Schnelleindeckmittel)	Merck Best.Nr.: 1079610100
Naratriptan Hydrochloride	Sigma CAS-Nr.: 143388-64-1 Best.Nr.: N1415
Hydroxyurea	Sigma Art: powder (98%) CAS-Nr.: 127-07-1 Best.Nr.: H8627
Patent blue V sodium salt	Sigma CAS-Nr.: 20262-76-4 Best.Nr.: 21605
Tandospirone	Sigma CAS-Nr.: 87760-53-0 Best.Nr.: T6704

Xylol

Roth
 CAS-Nr.: 1330-20-7
 Best.-Nr.: CN80

2.1.6 Fliegenstämme

Alle verwendeten Fliegenstämme, sowie transgene UAS- und Treiberlinien werden in **Tabelle 4**, **Tabelle 5** und **Tabelle 6** aufgeführt.

Tabelle 4: Verwendete Stämme

Linie	Chr.	Referenz	Herkunft
Wildtyp Canton S	WT	LINDSLEY D. AND E., 1968	BLOOMINGTON STOCK-NR: 1
<i>dnc</i> ¹	I	DUDAI Y. et al., 1976	HEISENBERG M., UNI WÜRZBURG
<i>rut</i> ¹	I	LEVIN L. et al., 1992	HEISENBERG M., UNI WÜRZBURG

Tabelle 5: Transgene UAS-Linien

Linie	Chr.	Referenz	Herkunft
P{UAS-TeTxLC.tnt}	II	SWEENEY et al., 1995	SCHOLZ H., UNI KÖLN
<i>w</i> [*] ;P{UAS- TrpA1(B).K}attP2/TM6B, <i>Tb</i> ¹	II	ROSENZWEIG M. et al., 2005	POECK B., UNI MAINZ
P{UAS-NaChBac}5/TM6B, <i>Tb</i> ¹	III	NITABACH M. et al.,2006	BLOOMINGTON STOCK-NR: 9468
P{UAS-NaChBac}2	III	NITABACH M. et al.,2006	BLOOMINGTON STOCK-NR: 9469
UAS- <i>npf</i> ^{cDNA}	II	WEN T. et al., 2005	SHEN P., UNIVERSITY OF GEORGIA
P{UAS-5-HT1B.Y}3	III	YUAN Q. et al., 2005	BLOOMINGTON STOCK-NR: 27633
P{UAS-5-HT1B.IR} "5-HT1B RNAi"	III	YUAN Q. et al., 2005	BLOOMINGTON STOCK-NR: 27632
P{TRiP.JF01852}attP2 "5-HT1A RNAi"	III	NI J. et al., 2014 WILLIAMS M. et al., 2014	BLOOMINGTON STOCK-NR: 25834 DONOR: RNAi PROJECT
P{UAS-mCD8::GFP}TM3/ <i>Sb</i>	III	LEE T. AND LUO L., 1999	BLOOMINGTON STOCK-NR: 5130
P{TubP-GAL80ts}20	II	MCGUIRE S. et al., 2003	BLOOMINGTON STOCK-NR: 7019
<i>TubP</i> >GAL80 ^{ts} UAS-TNT	II	REKOMBINANTE AUS P{UAS-TeTxLC.tnt} P{tubP-GAL80ts}	POECK B., UNI MAINZ

Tabelle 6: Transgene Treiberlinien

Linie	Chr.	Hauptexpressionsorte	Referenz	Herkunft
P{GawB}lilli ^{189Y}	II	Pk, Antennalloben, 2 horizontale Schichten des Fb, R3 des Eb, PI	RENN S. et al., 1999; ZARS T. et al., 2000	D. ARMSTRONG, UNI EDINBOURGH STOCK-NR: 30817
P{Mef2-GAL4.247} "mb247-GAL4"	III	α -, β -, γ -Loben Pk, Calyx Pk, mittlere Schicht FB, äußere Schicht EB	ZARS T. et al., 2000; TANAKA N. et al., 2008	HEISENBERG M., UNI WÜRZBURG STOCK-NR.:50742
P{GawB}Hr39 ^{c739}	II	α -, β -Loben Pk	YANG M. et al., 1995	BLOOMINGTON STOCK-NR.:7362
P{GawB}H24	III	γ -Loben Pk, Antennalloben, EB, optische Loben	MARTIN J. et al., 1998, Aso Y. et al., 2009,	TANIMOTO H., MPI MÜNCHEN STOCK-NR.: 51632
P{GawB}NP1131/ CyO	II	α' -, β' -Loben Pk, γ -Loben Pk, Calyx Pk, EB	TANAKA N. et al., 2008, MARTIN-PENA A., 2014	KYOTO STOCK CENTRE NR.: 103898
<i>Or83b</i> -GAL4	II	Antennalloben, olfaktorische Rezeptorneurone	NG M. ET AL., 2002; LARSSON M. et al., 2004	MIESENBOCK G., UNIVERSITY OF OXFORD
P{GawB}Cka ^{c305a}	II	α' -, β' -Loben Pk, EB, Antennalloben	ARMSTRONG J. et al., 2006	ARMSTRONG J., UNIVERSITY OF EDINBURGH STOCK-NR.:30829
P{Hn.493-GAL4} "TrH493-GAL4"	III	Serotonerge Neurone im PK	LEE P. et al., 2011	HIRSH J., UNIVERSITY OF VIRGINIA
<i>TrH</i> -GAL4	II	Muster der serotonergen Neurone im ZNS	SADAF S. et al., 2012	BIRMAN S., PARIS-TECH
P{GAL4-5-HTR1B.Y}3	III	Muster des Serotonin Rezeptors 5HT-1B	YUAN Q. et al., 2005	BLOOMINGTON STOCK-NR: 27637
P{GAL4-5-HTR1B.Y}2	II	Muster des Serotonin Rezeptors 5HT-1B	YUAN Q. et al., 2005	BLOOMINGTON STOCK-NR: 27636
5-HT-1A-GAL4/CyO	II	Muster des Serotonin Rezeptors 5HT-1A	GASQUE G. et al., 2013	RAO Y., IDG/M ^C GOVERN INSTITUTE, PEKING
P{NPF-GAL4.1}1	III	Neuropeptide F-sekretierende Neurone	WU Q. et al., 2003	BLOOMINGTON STOCK-NR: 25682
P{NPF-GAL4.1}2	II	Neuropeptide F-sekretierende Neurone	WU Q. et al., 2003	BLOOMINGTON STOCK-NR: 25681
P{tubP-GAL80 ^{ts} }	III	Temporär steuerbare Expressions-Zielbestimmung	MCGUIRE S. et al., 2003	BLOOMINGTON STOCK-NR: 7017

2.2 Methoden

2.2.1 Aufzucht und Haltung

Gehalten und aufgezogen werden die Fliegen in zylindrischen Kunststoffröhrchen, deren Durchmesser 3,5 cm und deren Höhe 8 cm beträgt. Diese werden zu ca. $\frac{1}{4}$ (bei Kreuzungen etwas weniger) mit dem Standard-Futtermedium (s. 2.1.4 Medien/Lösungen) befüllt und mit einem Saugpappstreifen versehen (B: 2cm; H: 4cm; T: 0,2 cm; Fa. K-TK e.K., Retzstadt), der zuvor mit Nipagin und Hefe beträufelt wurde. Verschlussen werden diese Gläschen mit Anti-Milben-Schaumstoffstopfen (Fa. K-TK e.K., Retzstadt); so soll ein Befall durch Parasiten verhindert werden. Die Tiere werden in Klimäräumen gehalten, in denen beständig 25°C sowie 60% Luftfeuchtigkeit herrschen und ein Hell-/Dunkelrhythmus von 10/14 Stunden eingestellt ist. Frisch geschlüpfte Tiere werden innerhalb weniger Tage in frische Aufzuchtsröhrchen überführt, um Überbevölkerung und Futtermangel zu vermeiden.

2.2.2 Kreuzungen

Für den Ansatz von Kreuzungen werden die benötigten Stämme ausgewählt und jeweils in ihren Futtergläsern durch die Zugabe von CO₂ betäubt. Nach vorher aufgestellten Kreuzungsschemata werden von einem Stamm unverpaarte Weibchen, bei dem anderen Stamm Männchen auf einem CO₂-Pad unter einem Binokular abgesammelt. Die Weibchen sind vier bis sechs Stunden nach dem Schlüpfen noch nicht rezeptiv, da vor allem ihre Cuticula noch nicht vollständig ausgehärtet ist (DAHMANN C., 2008). Die noch jungfräulichen Tiere lassen sich gut an dem sogenannten Meconium (Darminhalte der Larve) erkennen und daraufhin absondern. In diesem frühen Adultstadium ist die Cuticula-Färbung meist noch äußerst schwach, daher muss bei der geschlechtsspezifischen Auftrennung besonders auf die basalen Tarsen am ersten Beinpaar geachtet werden, die nur bei männlichen Tieren vorhanden sind.

Die abgesammelten weiblichen und männlichen Fliegen werden in einem Ansatzgläschen gekreuzt und nach fünf bis sieben Tagen in ein neues Gläschen gesetzt. Damit wird vermieden, dass eine Vermischung der parentalen Generation mit der nach ungefähr zehn Tagen (25°C) schlüpfenden F1-Generation stattfindet.

2.2.3 Vor- und Nachbereitungen der Versuche

Für etliche Verhaltensparadigmen (z.B. Kletterparadigma, Buridan'sches Paradigma) müssen die Versuchstiere flugunfähig gemacht werden. Dazu werden den Tieren zehn bis 24 Stunden vor dem entsprechenden Experiment die Flügel gekürzt. Die Tiere müssen zu diesem Zeitpunkt mindestens 24 Stunden alt sein, da erst dann davon ausgegangen werden kann, dass ihre Cuticula vollständig ausgehärtet ist. Das Kürzen der Flügel erfolgt unter

Kälteanästhesie bei 4°C auf einem Kühlblock. Die Flügel werden auf etwa ein Drittel ihrer ursprünglichen Länge mithilfe einer Iridektomieschere geschnitten. Hierbei wird besonders darauf geachtet, dass die Innervierung der Flügelgelenke nicht verletzt oder durchtrennt wird. Außerdem dürfen die Versuchstiere nicht länger als fünf Minuten gekühlt werden, da eine andauernde Absenkung von Körpertemperatur und Stoffwechsel zu neuronalen Schäden führen kann.

Um auszuschließen, dass die Fliegen aufgrund von Differenzen in ihrer Körpergröße unterschiedliches Kletterverhalten zeigen, werden den Tieren im Anschluss an den jeweiligen Versuch die Vorderbeine abgetrennt und deren Länge dokumentiert. Die Vorderbeine werden auf der Höhe des Trochanters abgetrennt und auf einem Objektträger fixiert. Die Längen von Tarsi und Tibiae werde mithilfe einer Schublehre über eine hundertfache Vergrößerung an einem Videobildschirm vermessen und je Tier addiert. So können die Vorderbeinlängen aller Tiere statistisch verglichen werden.

2.2.4 Verfütterung von Chemikalien

Zum direkten Nachweis des Einflusses des Neurotransmitters Serotonin auf das Verhalten von *Drosophila* wird sowohl eine Vorstufe des Neurotransmitters (5-HTP) als auch ein Synthese-Inhibitor (α -MTP) verfüttert.

Es wird Filterpapier (Rundfilter; Schleicher & Schuell, Ref.Nr.: 10331409) auf Bodengröße eines kleineren Aufbewahrungsgläschens für Fliegen zugeschnitten (\varnothing 3,5 cm) und in ein leeres Aufbewahrungsgläschen eingelegt. Den zu verfütternden Lösungen wird blaue Lebensmittelfarbe (Patent blue V oder Lebensmittelfarbe Schwartz) zugegeben, um die Lösungsaufnahme zu verfolgen und nachzuweisen. Mit einer Eppendorfpipette werden ungefähr 200 μ l der zu verfütternden Lösung auf das zugeschnittene Filterpapier pipettiert. Die Fliegen werden den Tag über vorgehungert und über Nacht in die kleinen Aufbewahrungsgläschen eingesetzt. Sie verbleiben 15 bis 16 Stunden auf der Lösung. Bei der Entnahme der Tiere wird kontrolliert, ob ihre Abdomen eine distinkte Blaufärbung aufweisen (weißer Pfeil, **Abbildung 7**).



Abbildung 7: Abdomenfärbung nach Lösungsverfütterung

Männliche *Drosophila* mit blau gefärbtem Abdomen (Kennzeichnung mit Pfeil) nach zwölf Stunden auf Saccharose-Medium mit Zusatz von Lebensmittelfarbe (obere Reihe) im Vergleich zu männlichen Tieren auf Futter ohne Lebensmittelfarb-Zugabe (untere Reihe)

2.2.5 Ablation der Pilzkörper

Es wurde eine Methode entwickelt, bei der in *Drosophila* die Entstehung der Pilzkörper gezielt unterdrückt werden kann, ohne dass dabei Veränderungen an anderen Hirnstrukturen hervorgerufen werden (DE BELLE J. UND HEISENBERG M., 1994). Grundlegend dafür ist, dass die Pilzkörper sich mit ihren 2500 intrinsischen Kenyonzellen pro Hirnhemisphäre in der *Drosophila*-Larve aus je vier Neuroblasten entwickeln. In den frisch geschlüpften Larven sind in den ersten fünf bis acht Stunden nur diese vier Neuroblasten, zusammen mit einem lateralen Neuroblasten, mitotisch aktiv (ITO K. UND HOTTA Y., 1992; PROKOP A. UND TECHNAU G., 1994). Wird den Larven in diesem Zeitfenster das Zytostatikum Hydroxyurea (HU) verfüttert, werden demnach nur die Neuroblasten ablatiert, die für die Ausbildung der Kenyonzellen verantwortlich sind. Die einzigen Beeinträchtigungen, die zusätzlich beobachtet werden können, ist einerseits eine Volumenreduktion der Antennalloben auf ca. 68% und andererseits eine Verlängerung der Entwicklungszeit um einen Tag (DE BELLE J. UND HEISENBERG M., 1994).

Zur Durchführung werden drei Tage alte Weibchen in Petrischalen (Ø 5,5 cm) gesetzt und für sechs Stunden bei 25°C auf dem Nährbrei belassen. Nach 16 Stunden lassen sich erste Larven von den Petrischalen entfernen. Nach gründlichem Säubern der Platten und damit Entfernen der vorhandenen Tiere, werden in einem Zeitfenster von einer Stunde frisch geschlüpfte Larven abgesammelt und in vorbereitete Gefäße mit 60mg/ml HU (gelöst in verflüssigter Hefe) eingesetzt. Parallel dazu werden Larven zur Kontrolle in ein Gefäß eingebracht, in dem sich lediglich verflüssigte Hefe befindet. Nach genau vier Stunden werden die Larven mithilfe einer Vakuum-Filtrierflasche aus dem Hefe-Brei ausgewaschen; dieser Behandlung werden sowohl die Tiere in der mit HU versetzten Schale als auch die Kontrolltiere unterzogen. Sie werden getrennt voneinander in Standard-Futtergläser überführt und in der Zuchtkammer bei 25°C aufgestellt.

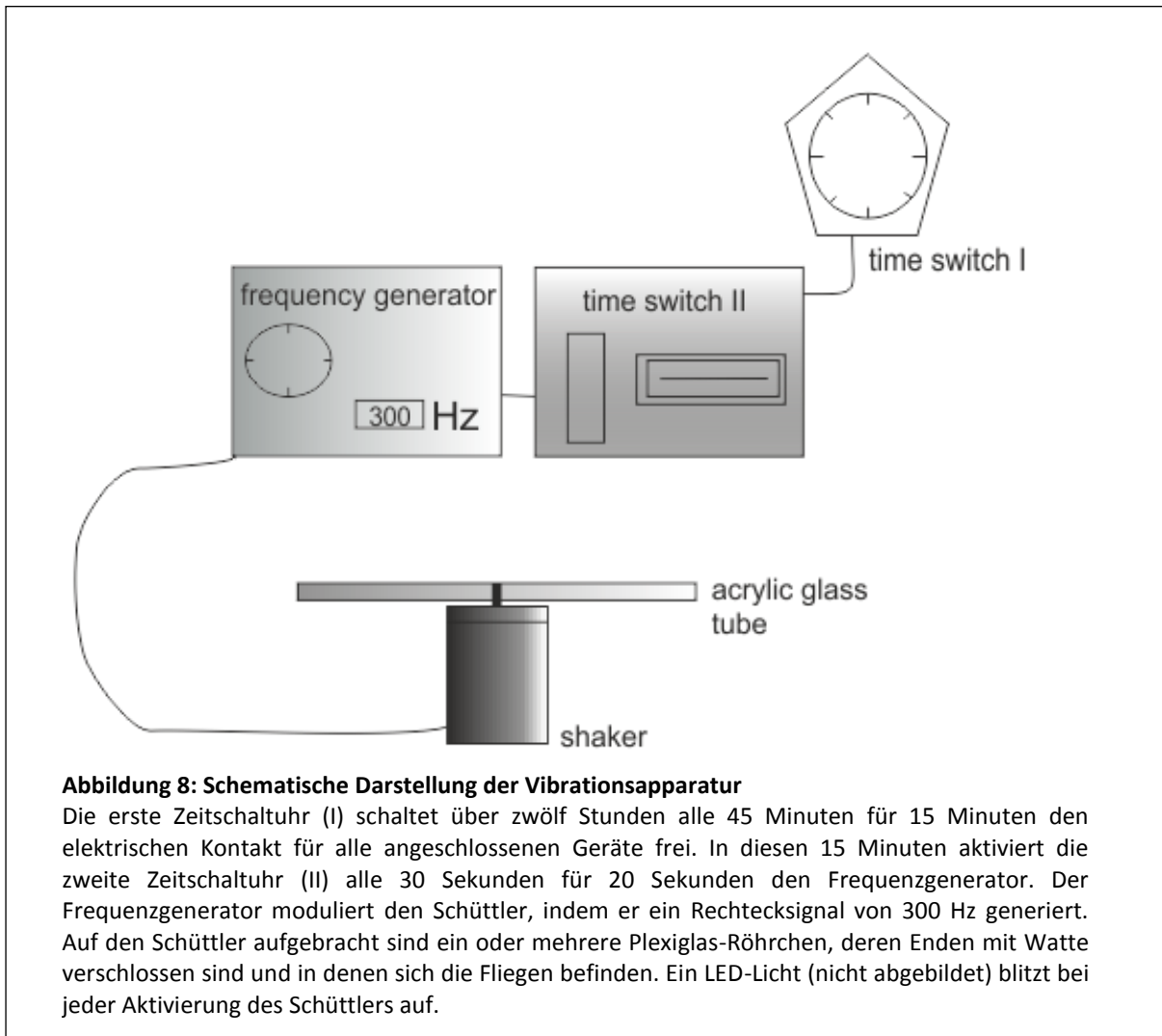
Nach zehn Tagen sind die *Drosophilae* entwickelt und bei den meisten Tieren sind die Pilzkörper stark reduziert, es sind größtenteils nur die embryonalen Kenyonzellen aufzufinden. In allen Fliegen wird durch Paraffin-Histologie (2.2.8.1) überprüft, ob die Verfütterung von HU zu einer erfolgreichen Ablation der Pilzkörper geführt hat.

2.2.6 Erzeugung eines depressionsartigen Zustands durch Vibrationen

Erlernte Hilflosigkeit wird in Tieren über den Einsatz von unkontrollierbaren Stressereignissen ausgelöst (OVERMIER J. UND SELIGMAN M., 1967). In *Drosophila* konnte YANG 2013 erlernte Hilflosigkeit nachweisen, erzeugt über elektrische Stromschläge im sogenannten "Idle-Experiment". In den Untersuchungen dieser Arbeit werden Vibrationen in einer für die Tiere unangenehmen Frequenz eingesetzt, um die Fliegen in einen depressionsartigen Zustand zu versetzen. Welche Frequenz von *Drosophila* als unangenehm wahrgenommen wird, wurde in Vorversuchen im Rahmen einer Diplomarbeit (RIES A., 2011) bestimmt. Hierbei wurde die Ausprägung einer von den Fliegen gezeigten Vermeidungsreaktion als Reaktion auf unterschiedliche Frequenzen beobachtet und notiert.

Durch diese Beobachtungen war es möglich, die Frequenz von 300 Hz als unangenehmen Reiz zu identifizieren.

Der Aufbau (**Abbildung 8**) besteht aus einem Schüttler, auf den sich über einen kleinen Podest-Aufbau mit entsprechender Halterung ein Plexiglas-Röhrchen aufbringen lässt. Das Plexiglas-Röhrchen ist 9,8 cm lang und hat einen Durchmesser von 0,4 cm. Über Gummibänder lassen sich weitere Plexiglas-Röhrchen derselben Größe zusätzlich auf dem Schüttler montieren. Die Vibrationen werden in allen Röhrchen in der gleichen Stärke übertragen. Diese zusätzliche Anbringung von Röhrchen macht es möglich, mehrere Versuchsgruppen parallel zu bearbeiten. Gesteuert wird der Schüttler über zwei hintereinander geschaltete Zeitschaltuhren, um sehr präzise Zeitintervalle zu erzeugen. Die erste Zeitschaltuhr gibt eine grobe Taktung vor, sie ist direkt mit der Steckdose verbunden und schaltet in einem Zeitraum von zwölf Stunden alle 45 Minuten den elektrischen Kontakt für alle weiteren Geräte ein, 15 Minuten später wird der Kontakt von ihr wieder unterbrochen. Mit ihr verbunden ist eine zweite Zeitschaltuhr, die für die feinere Taktung zuständig ist. Sie steuert einen Frequenzgenerator mit einer Taktung von 20:10 Sekunden. Diese Unterbrechung des Vibrationsreizes von zehn Sekunden in einem 20-Sekunden-Takt soll bewirken, dass die Fliegen über jeweils eine Vibrationseinheit von 15 Minuten nicht auf den Reiz adaptieren. Der Frequenzgenerator erzeugt bei jeder Aktivierung durch die Zeitschaltuhren periodische elektrische Signale in Form von Rechteckimpulsen. Diese werden mit der maximalen Amplitudenstellung von zehn an den Schüttler weitergeleitet. Über diese Schaltung ist garantiert, dass die Tiere immer in einem präzisen, gleichmäßigen Muster den unkontrollierbaren Vibrationsreizen ausgesetzt sind. Umgeben wird die gesamte Apparatur von einer Hartplastik-Manschette aus opakem Weißglas (\varnothing 19 cm). Die Tiere werden so nicht vom Tageslicht isoliert, sie wirkt aber leicht abdunkelnd und verhindert den Einfall direkter Lichtreize oder ablenkender Bewegungsreize von außen.



Es werden immer zehn bis zwanzig Tiere über einen Aspirator in ein Plexiglas-Röhrchen eingesetzt. Die Watte zum Verschluss an beiden Seiten des Röhrchens wird dabei soweit eingeschoben, dass eine Aufenthaltskammer mit einer Größe von ca. 1,5 cm (\varnothing 0,4 cm) entsteht. Diese künstlich-erzeugte Enge führt zu zusätzlichem sozialen Stress bei den Tieren und verstärkt somit das Stressereignis. Ebenfalls zur Verstärkung des Stresses dient ein LED-Lämpchen, das variabel an den Plexiglas-Röhrchen festgeheftet werden kann. Dieses ist mit der zweiten Zeitschaltuhr verbunden und gibt vor jedem Einsetzen der Vibration einen Lichtblitz ab, wodurch die Unausweichlichkeit des Ereignisses besonders hervorgehoben wird. Die Fliegen befinden sich insgesamt an fünf Versuchstagen in der Apparatur, an drei Tagen sind sie den Vibrationen für fünf bis sechs Stunden ausgesetzt, an den beiden anderen Tagen für zehn Stunden.

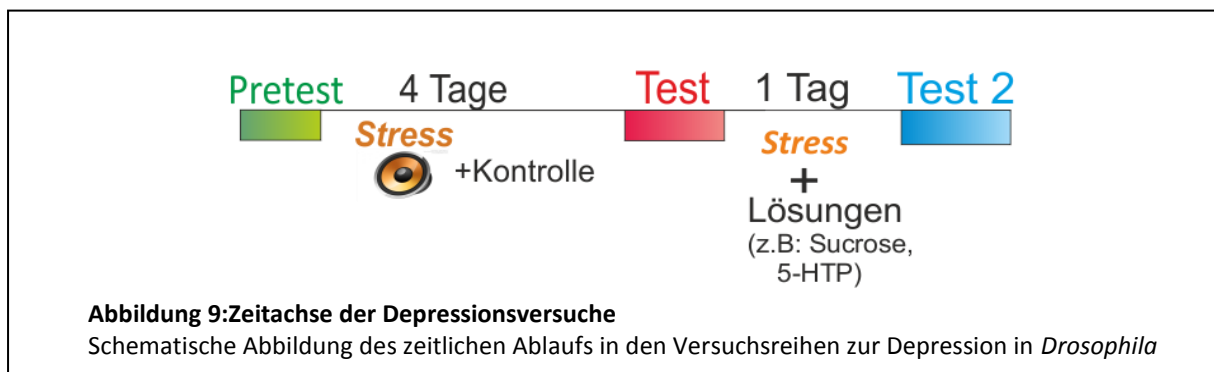
Parallel zu den Fliegen, die sich unter Stressbelastung befinden, werden weitere Fliegen in ähnlicher Anzahl in ein loses Plexiglas-Röhrchen eingebracht und so eine gleich große Aufenthaltskammer geschaffen. Diese Kontrolltiere sitzen über denselben Zeitraum in diesem Röhrchen, das auf Gummibändern gepolstert auf einem Tisch abgelegt wird. Sie sind damit ohne stresserzeugende Erschütterungen denselben Futter- und Platzbedingungen ausgesetzt.

2.2.6.1 Zeitachse in der Depression

Die Zugabe von Stress in Form von unausweichlichen Vibrationen erfolgt immer einem bestimmten Zeitschema entsprechend. Die Graphik der **Abbildung 9** befindet sich in unterschiedlichen Ansichten zur Verdeutlichung der Daten im Ergebnisteil stets über den Ergebnisgraphen; im Folgenden wird ihre Grundstruktur kurz erläutert.

Ziel des zeitlichen Aufbaus der Versuche ist es, über mehrere Tage die Tiere in einen depressionsartigen Zustand über Zugabe von unkontrollierbaren Stress zu versetzen und diesen Zustand in Form einer Aktivitätsminderung in bestimmten typischen Verhaltensweisen der Fliegen nachzuweisen. Bei einigen Verhaltensweisen – wie beispielsweise Laufverhalten oder Balz - reicht es aus, die Tiere über mehrere Tage dem Stress auszusetzen, sie im Anschluss aus der Apparatur zu entnehmen und im jeweiligen Paradigma zu testen. Die Aktivitätsminderung wird dann im Vergleich zu den Kontrolltieren (ohne Vibrationsstress) sichtbar.

Bei dem Kletterverhalten handelt es sich aber (wie in 1.6.2 der Einleitung **Seite 22** beschrieben) um ein sehr komplexes Verhalten. Daher gestaltet sich der Ablauf der Versuchsreihen etwas gestaffelter.



Die Fliegen werden an Tag 1 im naiven Zustand getestet (Pretest). Damit soll einerseits sichergestellt werden, dass die Tiere sich im Grundzustand ihres Kletterverhaltens ähneln und miteinander verglichen werden können. Klettern ist ein relativ variables Verhalten, das eng mit Körpergröße, Fitness und Motivationszustand jedes einzelnen Tieres verknüpft ist. Andererseits lassen sich bei diesem Vortest gezielt Tiere auswählen, die eine gewisse Anzahl an Kletterversuchen in ihrem Lauf aufweisen. Da der Frustrationszustand über eine Abnahme in der Kletteraktivität bemessen wird, ist es hilfreich, die Fliegen auszusondern, die schon in ihrem Grundzustand keine Kletteraktivität aufzeigen. Bei diesen Tieren kann man keine merkliche Änderung im Verhalten aufzeigen.

An den folgenden zwei Tagen werden die Tiere jeweils zehn Stunden in ihre entsprechenden Röhren eingesetzt, abends kommen die Fliegen in ihre Futtergläser und verbringen die Nacht ohne Einwirkung von außen.

An Tag 3 des Versuchsdurchlaufs befinden sich die Fliegen fünf bis sechs Stunden in der stresserzeugenden Apparatur beziehungsweise den entsprechenden Kontrollkammern. Im Anschluss daran wird ihre Aktivität im Kletterverhalten überprüft (Test 1). Der Test erfolgt zur selben Tageszeit wie der des ersten Tages, damit Schwankungen im Aktivitätsverhalten

der Tiere aufgrund ihrer circadianen Rhythmik ausgeschlossen werden können (ALLADA R. UND CHUNG B., 2010; STOLERU D. et al, 2004). Anschließend können die Fliegen auf ihr normales Futter zurückgesetzt werden. Bei pharmakologischen Tests werden die Tiere zu diesem Zeitpunkt in vorbereitete Gläschen eingebracht, an deren Boden sich ein Filterpapier mit der entsprechenden Testlösung befindet. Die Testtiere befinden sich zu diesem Zeitpunkt in einem hungrigen und durstigen Zustand, sodass die Aufnahme der angefärbten Testlösung innerhalb der nächsten zwölf Stunden gewährleistet wird. Um die Aufnahme der Testlösung zu überprüfen, werden bei Entnahme aus den Gläsern die Abdomen der *Drosophila* kontrolliert. Ein blaues Abdomen zeigt den positiven Nachweis (**Abbildung 7**).

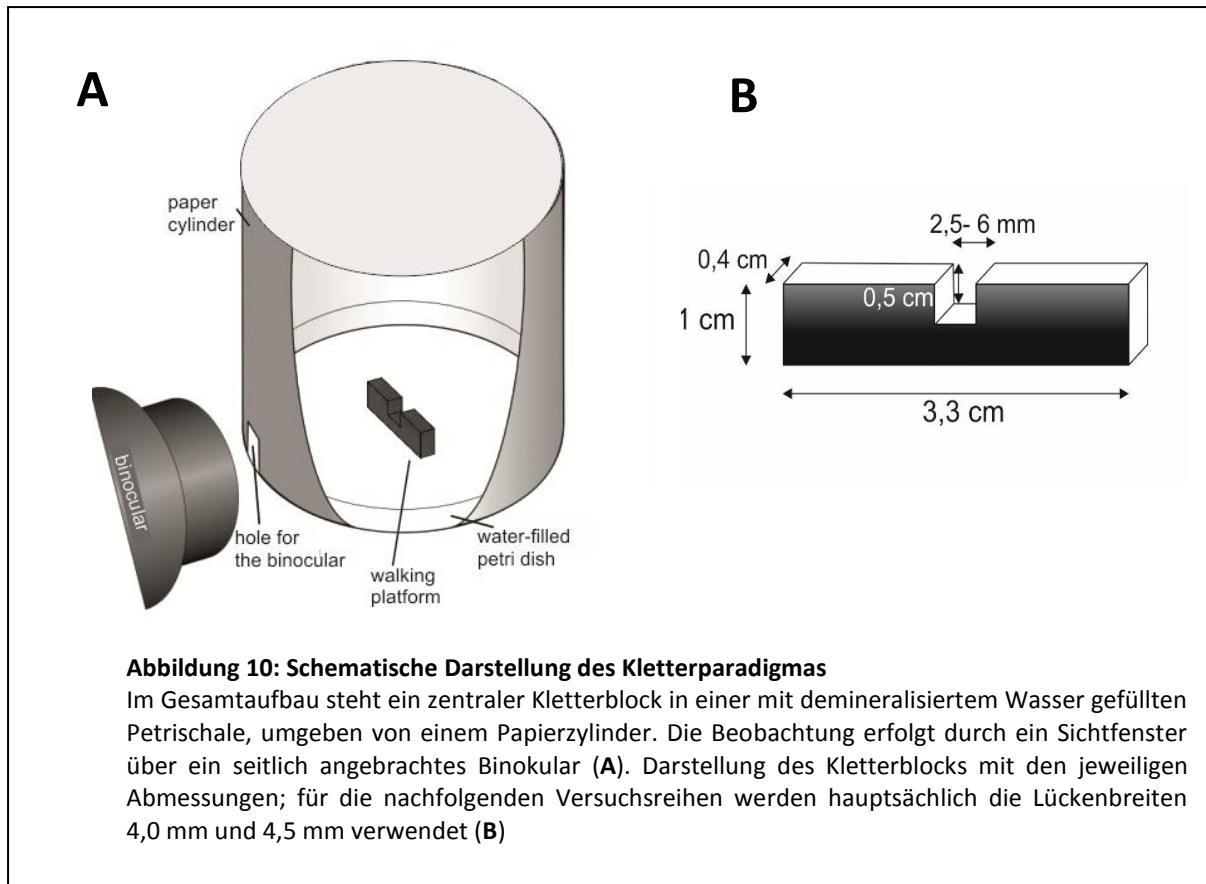
Dieser optionalen Verfütterung unterschiedlicher Substanzen schließt sich erneut eine Aufenthaltszeit in der Vibrations-Apparatur an. Wie am Vortag findet ein Test auf Kletteraktivität nach fünf bis sechs Stunden statt (Test 2). Hierbei kann direkt überprüft werden, ob die den Tieren verabreichten Substanzen Änderungen in ihrer Aktivität im Vergleich zum Vortag hervorrufen. Zum Abschluss der Experimente werden die Fliegen in ihre Futtergläschen gesetzt und auf 18°C gehalten, bis ihnen zur Bestimmung der Körpergröße die Vorderbeine abgenommen werden.

2.2.7 Verhaltensexperimente

2.2.7.1 Kletterparadigma

Zur Auswertung des Kletterverhaltens von *Drosophila* wurde das sogenannte Kletterparadigma von PICK UND STRAUSS (2005) etabliert und seither für Kletteranalysen eingesetzt. Mithilfe dieses Paradigmas kann für zehn Anläufe der Fliege auf die Lücke, ihr „Bein-über-Kopf“-Verhalten sowie die Überkletterung der Lücke beobachtet werden. Der Anteil der Anläufe mit Kletterversuch (Anläufe mit Bein-über-Kopf-Verhalten) charakterisiert die Klettermotivation und der Anteil an Überquerungen den Klettererfolg.

Im Zentrum des Paradigmas steht ein Block aus schwarzem Hartplastik (POM, B: 3,3 cm; H: 1 cm; T: 0,4 cm) auf einem Podest aus Metall. In den Block ist zentral eine Lücke mit definierter Breite eingefräst. Es liegt ein komplettes Set von Blöcken mit Lückenbreiten von 2,5 mm bis 6,0 mm mit einer Präzision von 0,1 mm vor; für jeden Versuch kann individuell die benötigte Lückenbreite eingesetzt werden (**Abbildung 10B**). Das Podest aus Metall (B: 5,4 cm; H: 0,4 cm; T: 2,4 cm) ist von einem 2-3 cm breiten Wassergraben umgeben. Den Aufbau umschließt eine zylindrische Papiermanschette, um zu verhindern, dass die Fliegen in ihrem Kletterverhalten durch Lichteinfall oder die Umgebung im Labor abgelenkt werden. In der Manschette befindet sich eine quadratische Aussparung (H: 2,1 cm; B: 3,6 cm) durch die eine Beobachtung der Fliegen mit einem ausgerichteten Binokular möglich ist (**Abbildung 10A**). Beleuchtet wird die Arena über eine Kaltlichtquelle mit punktuell ausrichtbarem Lichtleiter.



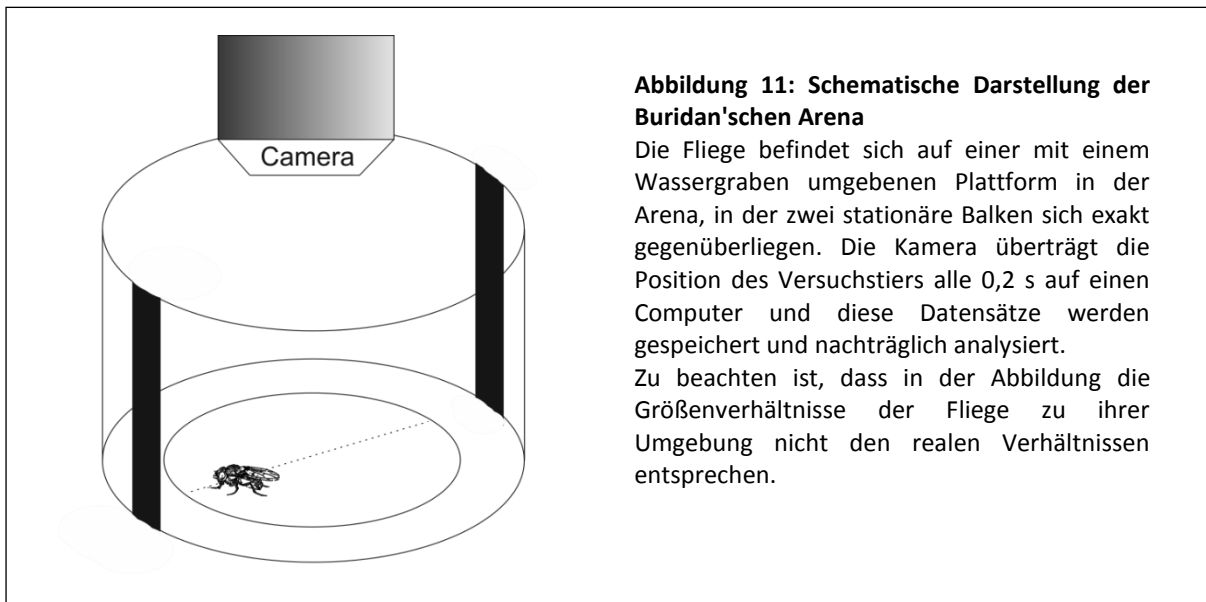
Zu Beginn des Versuchs wird die Fliege auf das Metallpodest platziert. Aufgrund ihrer negativen Geotaxis erklimmen die Fliegen den Hartplastikblock (HIRSCH J., 1959) und laufen auf die eingelassene Lücke zu. Beim Erreichen der Lücke werden die unterschiedlichen Verhalten protokolliert: Umkehren an der Lücke (U), Herablaufen in die Lücke (R), Überquerung der Lücke durch Klettern (X) und Absturz beim Versuch der Überkletterung (F). Zusätzlich wird notiert, ob das „Bein-über-Kopf“-Verhalten beim Erreichen der Lücke zu beobachten ist. Mit dieser speziellen Bewegung zeigt die Fliege an, dass sie einen Überquerungsversuch unternimmt. Das jeweilige Verhaltenskürzel wird bei dieser speziellen Bewegung mit einem + ergänzt. Pro Fliege werden die ersten zehn Anläufe ausgewertet, pro Stamm müssen mindestens zehn Tiere getestet werden. Alle Experimente finden unter konstanten Bedingungen in einer Umgebung von 21°C und 42% Luftfeuchtigkeit statt.

Im Anschluss an den Versuch werden den Tieren, wie in 2.2.3 beschrieben, die Vorderbeine abgetrennt und vermessen.

2.2.7.2 Buridan'sches Paradigma

1980 wurde ein Paradigma entwickelt, um das optische System der Fliege zu erforschen, ihre Objekt-Fixierung zu stimulieren und ihre Spontanpräferenz für bestimmte Objekte zu überprüfen (GÖTZ K., 1980). Das Buridan'sche Paradigma besteht aus einer runden, zentralen Laufplattform, umgeben von einem durchscheinenden Zylinder, der durch vier außen angebrachte ringförmige Neonröhren ausgeleuchtet wird (3000 Lux). Der Durchmesser der

Plattform beträgt 8,5 cm und sie ist von einem 4 cm breiten Wassergraben umgeben. Auf der Innenseite des 16 cm hohen Zylinders sind zwei schwarze Streifen mit 11° vertikalem und 54° horizontalem Sichtwinkel als Landmarken angebracht, die sich genau gegenüberliegen (**Abbildung 11**). Es wird jeweils eine einzelne Fliege mit gekürzten Flügeln auf die Laufplattform gesetzt. Eine wildtypische Fliege empfindet die Landmarken als attraktives Ziel, denn aufgrund ihrer negativen Geotaxis nimmt sie diese als scheinbare Fluchtmöglichkeit wahr. So läuft sie stundenlang zwischen den beiden unerreichbaren Landmarken hin und her (STRAUSS R. et al, 1992). Die Fliege läuft 15 Minuten in der Arena und ihr Lauf wird mit einer über der Arena montierten Kamera aufgenommen. Ein Computer zeichnet dies mit einer Abtastfrequenz von 5 Hz auf, dadurch können pro Fliege 4500 Messpunkte ausgewertet werden (STRAUSS R. UND PICHLER J., 1998).



Das Buridan'sche Paradigma kann so genutzt werden, um einerseits die Fähigkeit zur Objektfixation bei *Drosophila* zu überprüfen, andererseits kann die Qualität des Laufverhaltens der Fliegen analysiert werden (STRAUSS R. UND HEISENBERG M., 1993; BÜLTHOFF H. et al, 1982). Hierbei werden die Laufspuren der Fliegen anhand folgender Parameter erforscht:

- zurückgelegte Gesamtstrecke [cm]
- durchschnittliche Laufgeschwindigkeit [mm/s]
- Übergänge zwischen den beiden Landmarken [abs. Anzahl]
- Orientierungswinkel zu der angesteuerten Landmarke [°]
- Laufaktivität bezogen auf die Gesamtzeit in der Arena [%].

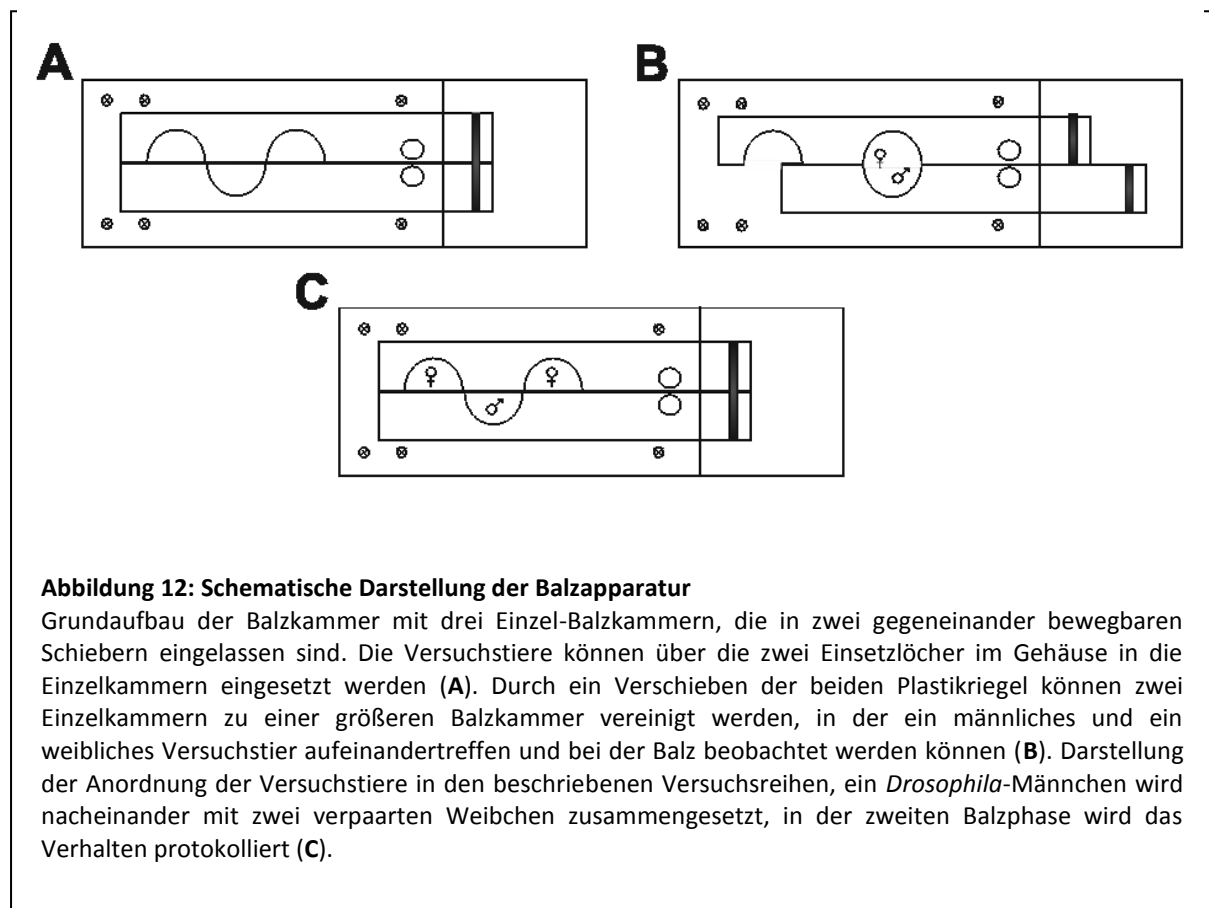
In jeder Versuchsreihe werden mindestens zehn Tiere einer Versuchsgruppe gemessen; dabei werden die Tiere der unterschiedlichen Gruppen immer alternierend gemessen, damit

keine Unterschiede in den Parametern aufgrund von Temperatur, Tageszeit, wetterbedingter Luftdrucklage oder Luftfeuchtigkeit auftritt.

2.2.7.3 Klassisches Balzparadigma

SIEGEL UND HALL etablierten 1979 ein Verfahren zur Konditionierung von *Drosophila melanogaster* in ihrem Balzverhalten, mit dem Kurz- und Langzeitgedächtnisleistungen - hervorgerufen durch Balzfrustration - überprüft werden können.

Das Balzverhalten männlicher *Drosophila* wird in Balzkammern aus Plexiglas beobachtet; jede Einzel-Balzkammer hat eine Höhe von 0,3 cm und einen Durchmesser von 0,75 cm. In einer kompletten Balzapparatur (B: 10 cm; H: 3 cm; T: 0,9 cm) befinden sich drei Balzkammern auf zwei gegeneinander bewegbaren Schiebern (**Abbildung 12A**). Die einzelnen Fliegen können sich so getrennt voneinander in Einzelkammern befinden, es können aber zwei Einzel-Balzkammern durch Verschieben zu einer größeren Balzkammer (B: 0,8 cm; H: 1,4 cm) vereinigt werden (**Abbildung 12B**).



Konditionierung der Frustration im Balzparadigma

Das Einsetzen der Versuchstiere erfolgt mit einem Aspirator über die Einsetzlöcher der Apparatur in jeweils getrennte Einzel-Balz-kammern. Der **Abbildung 12A** entsprechend werden ein bereits verpaartes Weibchen und das versuchsrelevante jungfräuliche Männchen in die Apparatur eingebracht. Nach einer kurzen Eingewöhnungszeit werden die Einzel-Balz-kammer des weiblichen Tieres und die des männlichen Tieres zu einer größeren Balz-kammer verbunden; mit dem Aufeinandertreffen der beiden Tiere wird die Stoppuhr gestartet. Nach 30 Minuten werden das Weibchen und das Männchen durch erneutes Verschieben wieder voneinander getrennt, die beiden Tiere werden durch die Einsetzlöcher wieder entnommen und das Männchen auf Futter gesetzt. Als Kontrolle wird parallel zu diesem Versuch in einer weiteren Balzapparatur ein Männchen alleine in einer vergrößerten Balz-kammer für 30 Minuten gehalten. Dieser Ablauf erfolgt für jedes Männchen zweimal am Tag über insgesamt fünf Tage. Bei jedem Versuchsdurchlauf wird ein neues verpaartes Weibchen eingesetzt.

Testphase der Frustration im Balzparadigma

Die Testphase wird durchgeführt wie 1999 von KAMYSHEV in seiner Ausführung zur konditionierten Reflex-Unterdrückung in der Balz beschrieben. Dazu werden drei Tiere in die Apparatur eingesetzt, zwei verpaarte Weibchen und das zu testende Männchen. Die Anordnung entspricht dabei der **Abbildung 12C**. Zuerst wird das Männchen wie in der Konditionierungsphase mit einem verpaarten Weibchen zusammengebracht und nach 30 Minuten wieder davon getrennt. Im Anschluss wird es aber nicht entnommen, sondern ohne Pause mit dem weiteren verpaarten Weibchen vereinigt. Hierbei handelt es sich um die Testphase, das Verhalten des Männchens wird über zehn Minuten genau beobachtet. Mit Hilfe von Stoppuhren wird sowohl die Latenzzeit bis zum Beginn des ersten Balzversuches als auch die Gesamtbalzzeit des Männchens ermittelt und notiert. Als Indikator für das männliche Balzverhalten dienen dabei die Flügelvibration und die gezielte Verfolgung des Weibchens.

Die Kontrolltiere, die in der Konditionierung 30 Minuten jeweils alleine in einer vergrößerten Balz-kammer verbracht haben, verbringen auch in der Testphase die ersten 30 Minuten separiert und werden dann zu dem verpaarten Weibchen geschoben und wie oben beschrieben beobachtet.

Männliche Tiere, die aus einer anderen Versuchsapparatur nur zur Testphase in die Balzapparatur eingesetzt werden, werden nach dem Einbringen direkt mit dem verpaarten Weibchen zusammengebracht und ihr Verhalten wird für zehn Minuten dokumentiert.

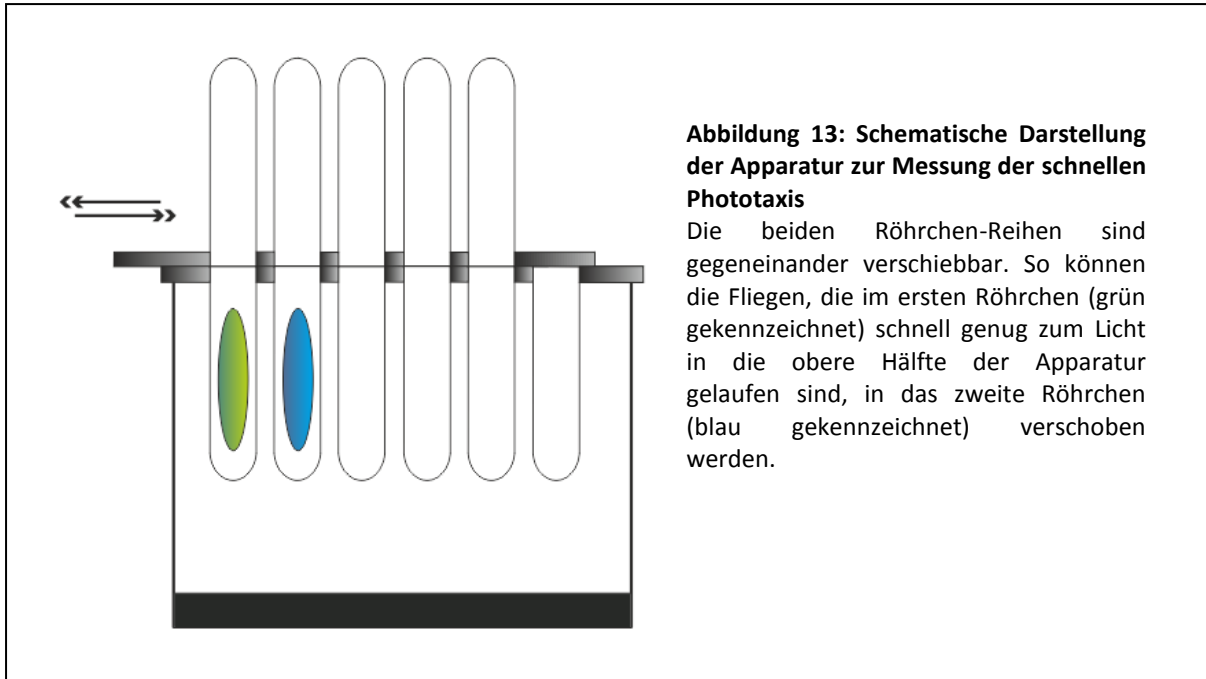
2.2.7.4 Schnelle Phototaxis

Zur Untersuchung der phototaktischen Reaktion von *Drosophila* erstellte BENZER 1967 eine spezielle Apparatur, die häufig als "Gegenstrom-Apparatur" beschrieben wird. Mithilfe eines

ausgeklügelten Röhrensystems gelang BENZER die Isolation von Mutanten mit abweichendem phototaktischem Verhalten. In späteren Versuchen wurde die Apparatur auch zur Detektion von Mutanten mit Diskrepanzen in der Laufgeschwindigkeit genutzt (POECK B. et al, 2008). Der Versuchsapparat besteht aus zwei gegeneinander verschiebbaren Röhrensystemen aus Plexiglas (**Abbildung 13**). Die Röhren haben alle eine Länge von 7,3 cm und sind im Abstand von einem Zentimeter nebeneinander angebracht. Die obere Reihe setzt sich aus sechs dieser Röhren, die untere aus fünf zusammen. Die Experimente erfolgen in einem abgedunkelten Raum auf einem Tisch, der mit schwarzem Stoff überdeckt ist. Der Stoff dient zum einen der Eindeutigkeit des Lichtgradienten und zum anderen der Vorbeugung von Reflexionen. Als einzige Lichtquelle liegt eine Leuchtstoffröhre in einem Abstand von ungefähr 70-80 cm von der Versuchsapparatur entfernt auf dem abgedeckten Tisch. Als Ausgangspunkt des Versuchs werden 20-50 Fliegen in das erste, untere Röhren eingefüllt und dieses wird daraufhin mit dem oberen Teil der Apparatur verschlossen. Im Folgenden werden die Fliegen auf den Boden des Röhrens geklopft. Während die Apparatur dann horizontal gerichtet hin zur Lichtquelle auf den Tisch gelegt wird, lässt sich das erste Röhren der oberen Reihe über das untere schieben. So entsteht eine 14,6 cm lange Röhre, in der den Fliegen sechs Sekunden Zeit gegeben wird, in die Richtung des Lichts zu laufen. Diese Zeitspanne weicht von den früheren Experimenten von BENZER ab, sie wurde 1993 von STRAUSS UND HEISENBERG definiert, um das Paradigma für die Messung der Laufgeschwindigkeit zu optimieren. Im Ablauf der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Experimente wurde die Zeitspanne nach Absprache erneut um zwei Sekunden verkürzt, um die Messung zu verfeinern. Nach Ablauf der vier Sekunden werden die Röhrensysteme gegeneinander verschoben, wodurch die Fliegen im oberen ersten Röhren in das zweite untere Röhren geklopft werden können. Die langsameren Fliegen verbleiben im ersten unteren Röhren. Dieser Ablauf wird fünfmal wiederholt, sodass sich am Ende des Versuchs nur die schnellsten Fliegen im sechsten Röhren befinden. Die Tiere aus den einzelnen Kompartimenten können unter Kälteanästhesie ausgezählt werden.

Die jeweilige Anzahl wird ausgewertet, indem den sechs Röhren der Apparatur in 20iger Schritten die Prozentwerte 0-100% zugeordnet werden. Die Fliegen in den einzelnen Röhren bekommen den Wert ihres Kompartiments zugeschrieben, woraus sich dann ein Mittelwert errechnen lässt.

Pro Versuchsdurchlauf werden 25-50 Fliegen gemessen, die Tiere sollten vor Beginn des Experiments mehrere Stunden vorgehungert werden.

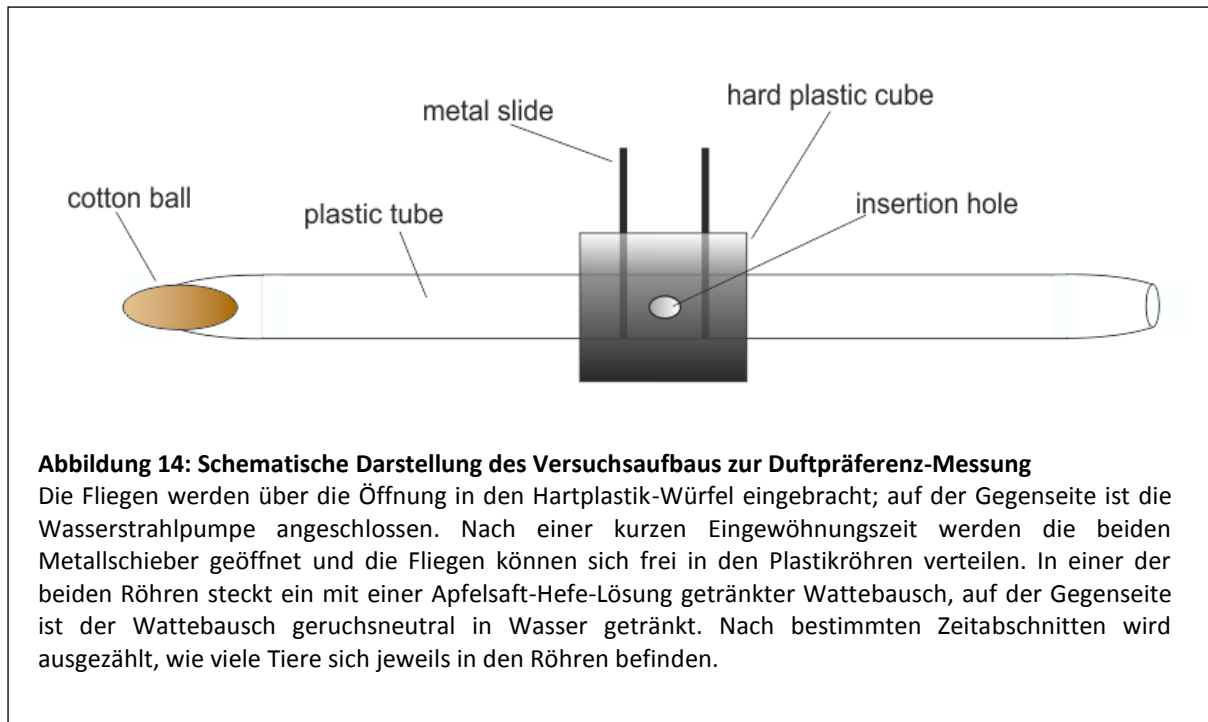


2.2.7.5 Duftpräferenz Paradigma

Um ihre Umwelt möglichst genau wahrnehmen zu können und Futterquellen auszumachen, muss *Drosophila* sich an Geruchsreizen sowohl im Flug als auch beim Laufen orientieren. Die Tiere bewerten dabei unterschiedliche Eigenschaften des Duftes, wie beispielsweise die Intensität oder den hedonischen Wert. Die Duftinformationen werden dabei von den Antennalloben über Projektionsneurone in höhere Verarbeitungszentren wie Calyx der Pilzkörper und laterales Horn geleitet (STRUTZ A. et al., 2014). Da bei nachfolgenden Versuchen die synaptische Transmission in definierten Loben der Pilzkörper blockiert wird, muss zunächst überprüft werden, ob Tiere mit nur beeinträchtigt funktionsfähigen oder sogar vollständig ablatierten Pilzkörpern noch auf attraktive Duftreize reagieren. Ansonsten könnte ihr verändertes Verhalten in Bezug auf den dargebotenen anziehenden Duft einzig auf den Verlust ihres Geruchssinns zurückgeführt werden. Um dies auszuschließen, werden Tieren die Pilzkörper ablatiert (2.2.5) und anschließend auf ihre Duftwahrnehmung nach einer Phase des Vorhungerns überprüft.

Ihre Duftpräferenz lässt sich in einer speziell angefertigten Apparatur überprüfen. Diese befindet sich in einem komplett abgedunkelten Raum und wird über Rotlicht beleuchtet, damit die Tiere einzig ihrem Geruchssinn folgen. Die Apparatur besteht aus einem Hartplastik-Würfel (Plexiglas, B: 2,9 cm; H: 3,4 cm; T: 3,4 cm), der an seiner Rückseite mit einer Wasserstrahlpumpe verbunden ist. An seiner Vorderseite befindet sich eine kreisrunde Öffnung, die mit einem Plastikstopfen verschlossen wird. Links und rechts am Würfel lässt sich durch ein Schraubgewinde jeweils ein Plastikröhrchen eindrehen (L: 11 cm; Ø 1,5 cm). Die Plastikröhrchen laufen distal konisch zu und weisen an ihrem distalen Ende eine Öffnung von 0,8 cm auf. Die Röhren lassen sich durch zwei Metallschieber von dem

zentralen Wüfelement abtrennen, so entsteht eine kleine zentrale Kammer (B: 1 cm; H: 1,5 cm; T: 1,5 cm) (**Abbildung 14**).



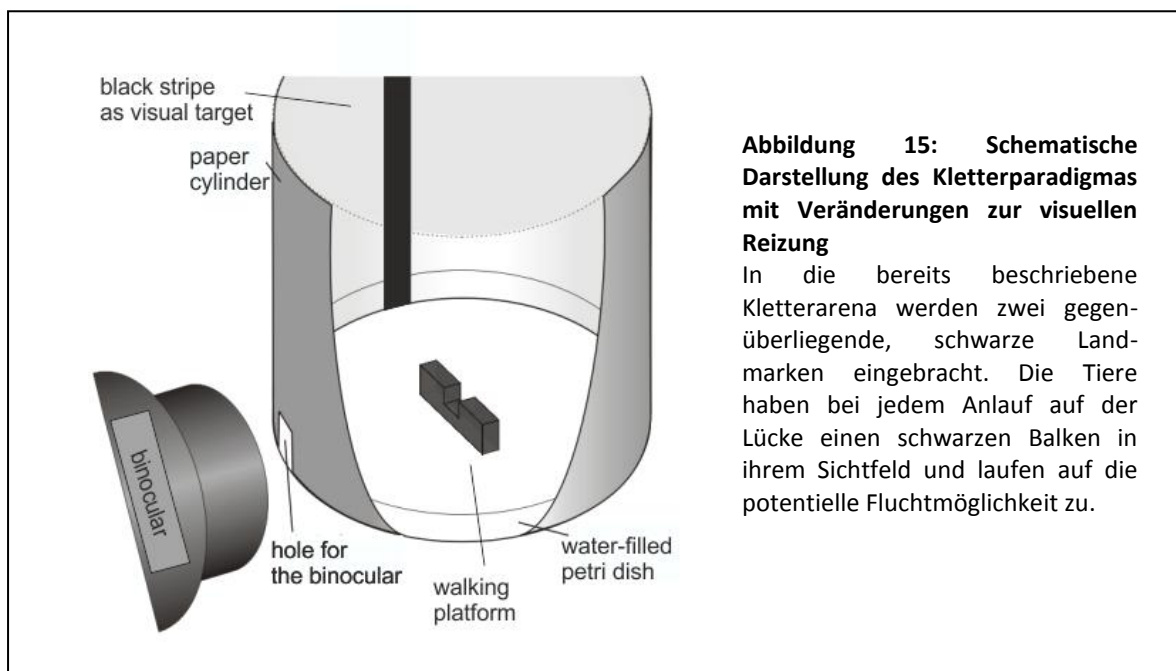
Zur Versuchsvorbereitung werden die distalen Öffnungen der Röhren jeweils mit einem Wattebausch verschlossen. Dieser ist entweder mit Wasser oder mit einem Apfelsaft-Hefe-Gemisch getränkt. Die Röhren sind durch Buchstaben markiert, sodass immer in dasselbe Röhrchen der geruchsintensive Wattebausch eingesetzt wird. Im nächsten Schritt werden die Metallschieber geschlossen und eine definierte Anzahl vorgehungerner Fliegen über die Öffnung an der Vorderseite in den Würfel eingesetzt. Die Aufenthaltskammer wird durch den Plastikstopfen verschlossen und die Wasserstrahlpumpe aktiviert. Da sie ständig zentral Luft aus der Apparatur zieht, wird verhindert, dass sich der Apfelsaft-Hefe-Duft gleichmäßig in der Apparatur verteilt. So entsteht ein Duftgradient in der Röhre, in der sich der mit Saft getränkte Wattebausch befindet, während die entgegengesetzte Röhre weitestgehend geruchsneutral bleibt. Nach ein paar Minuten wird durch ein gleichzeitiges Öffnen beider Metallschieber die Aufenthaltskammer der Fliegen mit den beiden Röhren verbunden, sodass sie sich ungehindert auf beiden Seiten verteilen können. Zu Beginn der Öffnung der Kammer wird eine Stoppuhr aktiviert und nach bestimmten Zeitintervallen (Minute 1; 2; 3; 4; 5; 8; 10; 15; 20) die Verteilung der Tiere in beiden Röhren ausgezählt und die jeweilige Anzahl notiert. Nach Ablauf der 20 Minuten werden die Metallschieber wieder eingesetzt, die Röhren abgenommen und die sich darin befindenden Fliegen entfernt. Für anschließende histologische Kontrollen des eventuell induzierten Strukturdefektes im Gehirn werden sie übergangsweise auf Futter gesetzt.

2.2.7.6 Modifikationen des Kletterparadigmas

Zur Aufklärung der Fragen, ob sich *Drosophila* durch äußerlich applizierte Reize zu einer vermehrten Kletteraktivität motivieren lassen und durch welche Gehirnareale diese Motivation gesteuert wird, muss das Kletterparadigma für die Experimente mit den entsprechenden Reizen aufgerüstet werden. Es gibt zwei äußerlich applizierbare Reize, die sich räumlich und temporär steuern lassen. Die Fliegen werden einerseits visuell, andererseits olfaktorisch stimuliert.

Einfluss visueller Reize im Kletterparadigma

Der visuelle Motivationsreiz besteht aus zwei schwarzen Landmarken, die sich an der Innenseite der Papiermanschette anbringen lassen. Zwei schwarze Streifen (L: 12 cm; H: 0,7 cm) werden genau gegenüberliegend an der Manschette angeheftet und so zwei Landmarken für die Tiere erzeugt (**Abbildung 15**). Die Fliege hat dadurch bei jedem Anlauf an die Lücke eine Landmarke in ihrem visuellen Feld und läuft direkt auf diesen visuellen Reiz zu. Die Attraktivität von schwarzen Landmarken auf *Drosophila* wurde in der Erklärung der Buridan'schen Arena erörtert (2.2.7.2 Buridan'sches Paradigma, **S. 45**).



Einfluss olfaktorischer Reize im Kletterparadigma

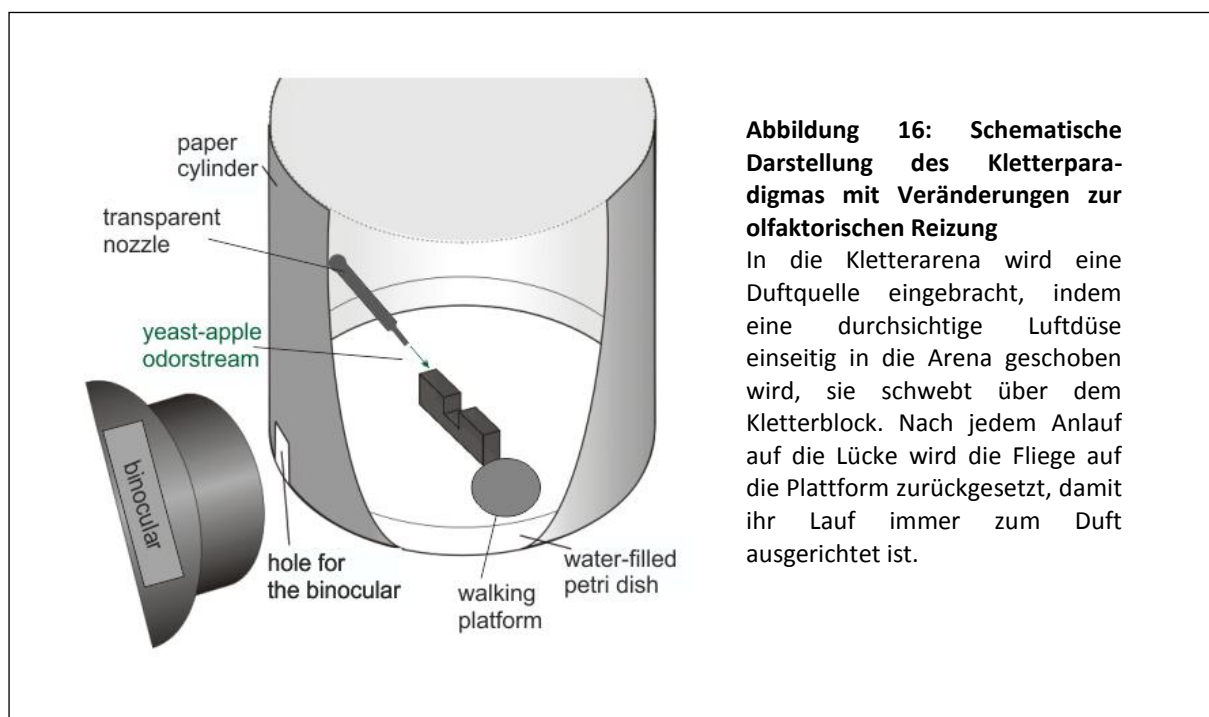
Eine olfaktorische Reizung von *Drosophila* wird über die gezielte Verabreichung von bevorzugtem Futterduft erzeugt. Der Futterduft besteht aus den miteinander vermischten Komponenten: Apfelsaft und Hefe. Dieser Duft wird verwendet, da er ein breites Spektrum an Duftkomponenten bietet und somit die olfaktorischen Neurone in *Drosophila* besonders anregt. Zusätzlich ist bekannt, dass Apfelsaft und -wein auf Fliegen sehr anziehend wirken,

weshalb sie oft in olfaktorischen Experimenten verwendet werden (SEMMEHACK J. UND WANG J., 2009). Die Hefe wird unter ständiger Bewegung auf dem Magnetrührer im Apfelsaft gelöst; zur besseren Lösung wird die Flüssigkeit leicht erwärmt.

Bei jedem Anlauf an die Lücke soll den Fliegen ein sanfter Duftstrom entgegenkommen, sodass für sie der Eindruck entsteht, direkt auf eine Futterquelle zuzulaufen. Um diesen Effekt hervorzurufen, wird auf Höhe der Oberkante des Kletterblockes ein kleines Loch in die Papiermanschette eingefügt. Durch dieses Loch lässt sich eine feine, transparente Pipettenspitze als Luftdüse so in die Arena einschieben, dass ihre Öffnung genau über einer Seite des Kletterblockes schwebt (**Abbildung 16**). Da die Pipettenspitze transparent ist, stellt sie keine zusätzliche visuelle Attraktion dar. Angeschlossen an die Pipettenspitze ist ein feiner Schlauch, der die Arena mit einer Waschflasche verbindet, in welcher die Apfelsaft-Hefe-Suspension eingefüllt ist. Die Waschflasche wiederum ist mit einer Aquariumspumpe verbunden, mit deren Hilfe der Duft in die Arena eingegeben werden kann. Über eine Schlauchklemme lässt sich die Stärke des Luftstroms regulieren. In zu starker Form beeinflusst er das Kletterverhalten der Tiere auf negative Weise, sie müssten Kraft aufwenden, um gegen dieses Hindernis anzukommen und würden ihr Verhalten dahingehend ändern. Tritt dieser Fall ein, lässt es sich leicht erkennen, denn die Fliegen weichen aus, verlassen den Kletterblock oder beginnen sich zu ducken. Daraufhin muss der Luftstrom sofort schwächer reguliert werden.

Der Fliege wird nur von einer Seite ein attraktiver Luftstrom angeboten, ihre Bewegung soll stets in Richtung des Reizes ausgerichtet sein. Daher wird eine kleine runde Metallplattform (\varnothing 2,4 cm) an die Gegenseite des Kletterblockes gelegt, auf welche die Fliege nach jedem Anlauf an die Lücke wieder zurückgesetzt wird. So wird gewährleistet, dass die Fliege bei jedem Anlauf in die Richtung der potentiellen Futterquelle läuft.

Bei der entsprechenden Kontrollgruppe wird eine zweite Waschflasche verwendet, in der sich lediglich destilliertes Wasser befindet, damit die Tiere keinem Duftstimulus ausgesetzt sind, der Luftstrom jedoch weiterhin vorhanden ist.



Zeitlicher Ablauf der Versuche mit visuellen oder olfaktorischen Reizen

Die Versuche auf Beeinflussung des Kletterverhaltens von *Drosophila* mit olfaktorischen oder visuellen Reizen werden nach dem identischen Schema durchgeführt.

Am Tag 1 werden die Tiere auch hierbei in naivem Zustand getestet ohne Einwirkung von äußerlich zugeführten attraktiven Reizen. Der Sinn besteht darin, Tiere ohne Kletterverhalten auszusondern. Andererseits kann hiermit überprüft werden, ob sich die Tiere in der Test- und Kontrollgruppe in ihrem Verhalten ähneln. Darüber hinaus ist diese doppelte Messung wichtig, um einen direkten statistischen Vergleich des Verhaltens der einzelnen Tiere mit und ohne Duftreiz auswerten zu können.

Die Tiere werden nach dem ersten Kletterdurchlauf in kleinere Einzel-Futtergläser separiert, die jeweils durch Beschriftung der Unterseite nummeriert werden. 14 Stunden vor der erneuten Testung werden die Fliegen in ebenfalls nummerierte Einzelgläser überführt, in den sich jedoch kein Futter befindet, sondern nur wassergetränkte Papiertücher.

Der zweite Testlauf erfolgt am nächsten Tag zur gleichen Tageszeit, um eine Beeinflussung des Verhaltens der Tiere durch ihre circadiane Rhythmik auszuschließen. Die Tiere werden - da die Nummerierung nicht sichtbar notiert ist - blind in Test- und Kontrollgruppe aufgeteilt. Bei der Kontrollgruppe sind die Testbedingungen identisch zu dem Ablauf am Vortag. In der Testgruppe erfolgt die Zufügung des entsprechenden Reizes (Landmarke oder Duft) und es kann direkt getestet werden, ob die Zugabe eines Reizes das Verhalten der Tiere moduliert.

2.2.8 Histologie

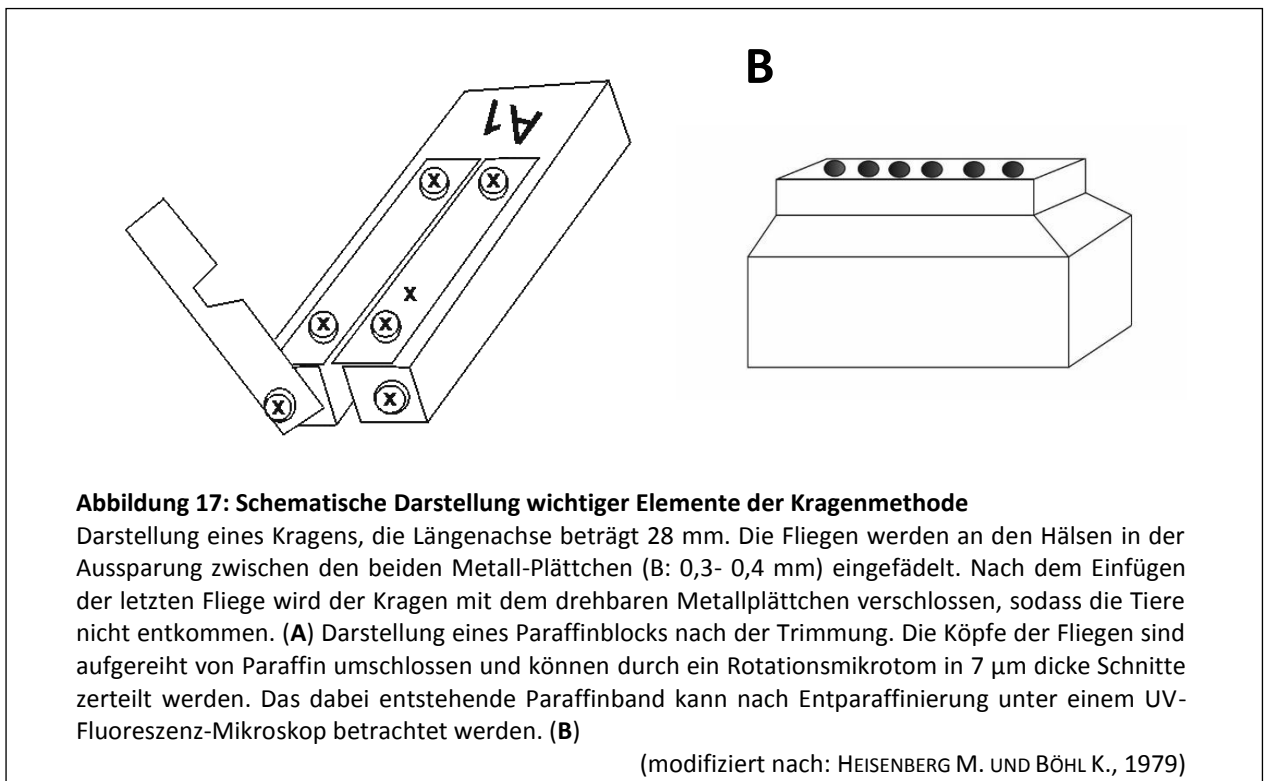
Zur Analyse der unterschiedlichen Gehirnstrukturen in *Drosophila* und zur Messung der Verteilung von Neurotransmittern bestehen zwei Möglichkeiten, neuroanatomische Präparate anzufertigen. Beide Arten wurden für diese Versuchsreihen benötigt, daher folgt eine eingehende Beschreibung beider Techniken.

2.2.8.1 Autofluoreszenz-Paraffinschnitte

Anhand der Methode der Paraffinschnitte lassen sich sehr genau strukturelle Defekte im Gehirn von *Drosophila* untersuchen. Mithilfe der von dem Augenfarbstoff bedingten Autofluoreszenz sind markante Hirnstrukturen, wie Pilzkörper oder Untereinheiten des Zentralkomplexes, unter dem Mikroskop gut erkennbar. So können anatomische Veränderungen in Gehirnen überprüft werden. Strukturmutanten und HU behandelte Fliegen (2.2.5 Ablation der Pilzkörper, S. 40) werden daher immer diesem Verfahren unterzogen, um ihren anatomischen Phänotyp zu überprüfen.

HEISENBERG UND BÖHL entwickelten 1979 eine Methode, bei der sich bis zu 20 Fliegenköpfe gleichzeitig analysieren lassen. Bei der sogenannten Kragenmethode werden Fliegen unter Kälteanästhesie mit einer Dumont-Feinpinzette in der Nähe des Flügelansatzes angehoben und am Hals in einen bereitgelegten Kragen aufgefädelt (**Abbildung 17A**). Die

Position jeder aufgereihter Fliege mit ihrem entsprechenden Genotyp wird auf einem Kragenprotokoll schriftlich festgehalten. Zur späteren Orientierung wird stets eine Markerfliege auf einer deutlichen Position mit eingereiht. Nachdem die Positionierung der Fliegen auf dem Kragen erfolgt ist, wird dieser für vier Stunden in eine frisch angesetzte Carnoy-Lösung gelegt. Darauf folgen drei Schritte in Ethanol, zuerst zweimal je 30 Minuten in 99,8%igem Ethanol, danach einmal 60 Minuten in Ethanol trocken. Durch diese Schritte soll den Präparaten das verbleibende Wasser entzogen werden. Zuletzt wird der Kragen für 12 bis 24 Stunden in Methylbenzoat überführt, so werden verbleibende Wasserreste und auch der Alkohol beseitigt, zudem werden Proteine und Nukleinsäuren im Gewebe schonend denaturiert (ROMEIS B., 1968). Um das Methylbenzoat anschließend zu verdrängen und durch Paraffin zu ersetzen, werden die Präparate zuerst für 60 Minuten in ein 1:1-Methylbenzoat-Paraffin-Gemisch bei 64°C übertragen. Anschließend werden die Krägen acht Mal für je 20 Minuten bei gleichbleibender Temperatur von 64°C in reines Paraffin gelegt. Als letzter Schritt werden die Krägen in eine Silikonform eingelegt und in flüssiges Paraffin eingegossen. So entstehen Blöcke, die über 12 Stunden aushärten. Nach 12 Stunden kann mit einer Rasierklinge der Kragen abgesprengt und getrimmt werden, sodass nur die Fliegenköpfe im Paraffin fixiert bleiben (**Abbildung 17B**). Die präparierten Paraffinblöcke werden durch ein Rotationsmikrotom in 7 µm dünne Frontalschnitte zerlegt. Das Paraffin bildet dabei ein Band, in dem die Hirnschnitte eingebettet sind. Dieses Paraffinband lässt sich auf einem mit Eiweißglycerin beschichteten Objektträger auf einer Wasserschicht platzieren, die dann verdampft; danach wird zwei Mal je 30 Minuten in Xylol entparaffiniert. Zur Betrachtung und Lagerung erfolgt die Eindeckelung mit Entellan. Die entstandenen Präparate können unter dem UV-Fluoreszenzmikroskop begutachtet und analysiert werden.



2.2.8.2 *Whole-mount* Präparation und immunhistochemische Färbung von adulten *Drosophila* Gehirnen

Zur Präparation des Gehirns adulter *Drosophila* werden die Tiere mit CO₂ betäubt, in 99,8%igem Ethanol gereinigt und anschließend mithilfe zweier Dumont-Feinpinzetten in eiskaltem PBS (Phosphate Buffered Saline) präpariert. Hierbei wird der Kopf der Fliege abgetrennt und ihr Rüssel entfernt. An dieser Stelle lässt sich die Kopfkapsel öffnen und zusammen mit den am Gehirn angehängten Luftsäcken ebenfalls abtrennen. Dadurch wird das Gehirn freigelegt und solange präpariert, bis jegliche Tracheen und nicht zugehörige Gewebespuren entfernt sind. Sobald dieser Schritt abgeschlossen ist, wird es über zwei Stunden auf Eis mit einem 4%igen Paraformaldehyd-PBS-Gemisch fixiert. Die Fixierung wird eine Stunde in einem 4%igen Paraformaldehyd-0,2%-PBT-Gemisch bei Raumtemperatur weitergeführt. Daran schließen sich mehrere Waschschrte in 0,3%igem PBT an, zuerst enger getaktet vier Mal fünf Minuten, dann drei Mal zehn Minuten unter ständiger Bewegung auf einem Schüttler. Da eine Färbung des Hirngewebes mittels Antikörper erreicht werden soll, muss das Gewebe permeabel gemacht werden, damit der Antikörper möglichst weit eindringen und tiefliegende Strukturen erreichen kann. Dafür wird das Gehirn 60 Minuten bei Raumtemperatur in 1,0%igem PBT inkubiert. Beim nächsten Schritt soll verhindert werden, dass es zu einer unspezifischen Proteinbindung des zu untersuchenden Antikörpers im Gewebe kommt. Dafür erfolgt das Blockieren freier Bindestellen bei Raumtemperatur über 60 Minuten mit einem Pferdeserum-PBT-Gemisch. Nach der Vorbereitung des Präparats können die primären Antikörper mit individuell optimierter Verdünnung in 5%igem Pferdeserum-PBT-Gemisch auf das Gewebe pipettiert werden und 48 Stunden bei 4°C verbleiben. Nach dieser Inkubationszeit werden die primären Antikörper wieder abgenommen und das Gewebe sorgfältig mit 0,3%igem PBT bei Raumtemperatur gewaschen (2x5 Minuten; 6x20 Minuten). Nach einem erneuten Blockieren freiliegender, unspezifischer Bindestellen mit 5%igem Pferdeserum-PBT-Gemisch erfolgt die Zugabe der sekundären Antikörper in ihrer vorher festgelegten Verdünnung. Mit den sekundären Antikörpern wird das Präparat 24 Stunden inkubiert. Zum Abschluss wird der sekundäre Antikörper entfernt und die Präparate zeitlich genau wie nach dem ersten Antikörper intensiv mit 0,3%igem PBT gewaschen. Zusätzlich folgen den bekannten Waschschrten noch zwei Waschschrte je fünf Minuten in PBS, um sie auf das 50%ige Glycerin-PBS-Gemisch vorzubereiten, in dem sie eingedeckelt werden und das in der Folge direkt auf die Präparate gegeben wird. In der Glycerin-PBS-Lösung verbleibt das Präparat 16-20 Stunden, bevor es vorsichtig auf einen Objektträger aufgebracht und in Glycergel eingebettet fixiert wird. Ob die Färbung grundsätzlich erfolgreich war, lässt sich in einer Übersicht an einem UV-Lichtmikroskop erkennen. Die genaue Auswertung erfolgt dann mittels eines konfokalen Mikroskops der Firma Leica (SP6) und der Software LAS AF Lite.

2.2.9 Statistik

Die erste Auswertung der Rohdaten wird mit der Software *Microsoft Office (Excel) 2010* durchgeführt.

Alle statistischen Auswertungen erfolgten mittels der Software *Statistica 8.0* und *Statistica 10.0* von *StatSoft*. Die Daten werden mit dem KOLMOGOROV-SMIRNOV-Test oder dem SHAPIRO-WILK-Test auf Normalverteilung geprüft, dabei wird ein Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ gewählt.

Liegt eine Normalverteilung der Daten vor, wird der STUDENT'SCHE t-Test angewendet, um die Datensätze auf signifikante Unterschiede zu überprüfen. Handelt es sich um nicht-normalverteilte Daten, wird entweder der WILCOXON-MATCHED-PAIRS-Test, der MANN-WHITNEY-RANK-SUM-Test oder der KRUSKAL-WALLIS-Test angewendet. Ausschlaggebend für die Wahl des Tests ist die Abhängigkeit der Daten untereinander. Werden Datensätze an zwei unterschiedlichen Tagen von denselben Tieren erhoben und sind diese Datensätze dabei einwandfrei den Einzelindividuen zuordenbar, ist der WILCOXON-MATCHED-PAIRS-Test geeignet, um auf signifikante Abweichungen zu prüfen. Werden dagegen zwei unabhängige Datensätze zur selben Zeit alternierend erhoben, lassen sie sich mit dem MANN-WHITNEY-RANK-SUM-Test auf statistische Abweichungen vergleichen. Besteht kein direkter zeitlicher Zusammenhang zwischen den Datensätzen und sind es mehrere gemessene Datensätze, werden sie mithilfe des KRUSKAL-WALLIS-TESTS überprüft; er stellt die Erweiterung des MANN-WHITNEY-RANK-SUM-TESTS dar. Dieser Test ist eine Alternative zum ein-faktoriellen ANOVA, der bei normalverteilten Daten angewendet wird. Der KRUSKAL-WALLIS-Test überprüft die Datenreihen im Rahmen einer Varianzanalyse und berechnet die post-hoc-Wahrscheinlichkeiten eines zweiseitigen Signifikanztests der Mediane. Die jeweiligen Wahrscheinlichkeiten lassen sich als p-Werte ablesen. Im KRUSKAL-WALLIS-Test wird die Berechnung der multiplen Vergleiche der Werte für jedes Paar von Gruppen direkt post-hoc korrigiert. Anschließende Tests sind mehr notwendig.

Besteht das Ziel darin, Datensätze jeweils gegen ein vorher definiertes Zufallsniveau zu testen, wird bei normalverteilten Daten der EINSEITIGE-T (ONE-SAMPLE-T) -Test und bei nicht-normalverteilten Daten der VORZEICHEN (SIGN)-Test verwendet.

In allen aufgeführten Abbildungen erfolgt die Kennzeichnung und Darstellung der Signifikanzen zwischen Datensätzen durch Sternchen. Dies gestaltet sich wie folgt:

nicht signifikant $p \geq 0,05 = \text{n.s.}$; signifikant $p < 0,05 = *$; hoch signifikant $p < 0,01 = **$;
höchst signifikant $p < 0,001 = ***$.

Zu jeder gezeigten Abbildung findet sich der angewandte statistische Test mit p-Werten und weiteren Angaben im Anhang unter 7.2 Statistische Auswertung der Ergebnisse, **S.VI**.

3 Ergebnisse

Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen sich in zwei separate, umfangreiche Themengebiete unterteilen. Die erhobenen Daten werden daher in zwei Hauptabschnitten thematisch untergliedert dargestellt.

Im ersten Teil werden die Ergebnisse zur Beeinflussung des Kletterverhaltens unter visueller und olfaktorischer Reizzuführung abgebildet. Es stand die Frage im Vordergrund, ob die natürliche Motivation der Fliegen eine Lücke zu überklettern, erhöht werden kann. Daran anschließend werden weiterführende Versuchsreihen zur Hirnkartierung der beobachteten Verhaltenswirkung dargestellt.

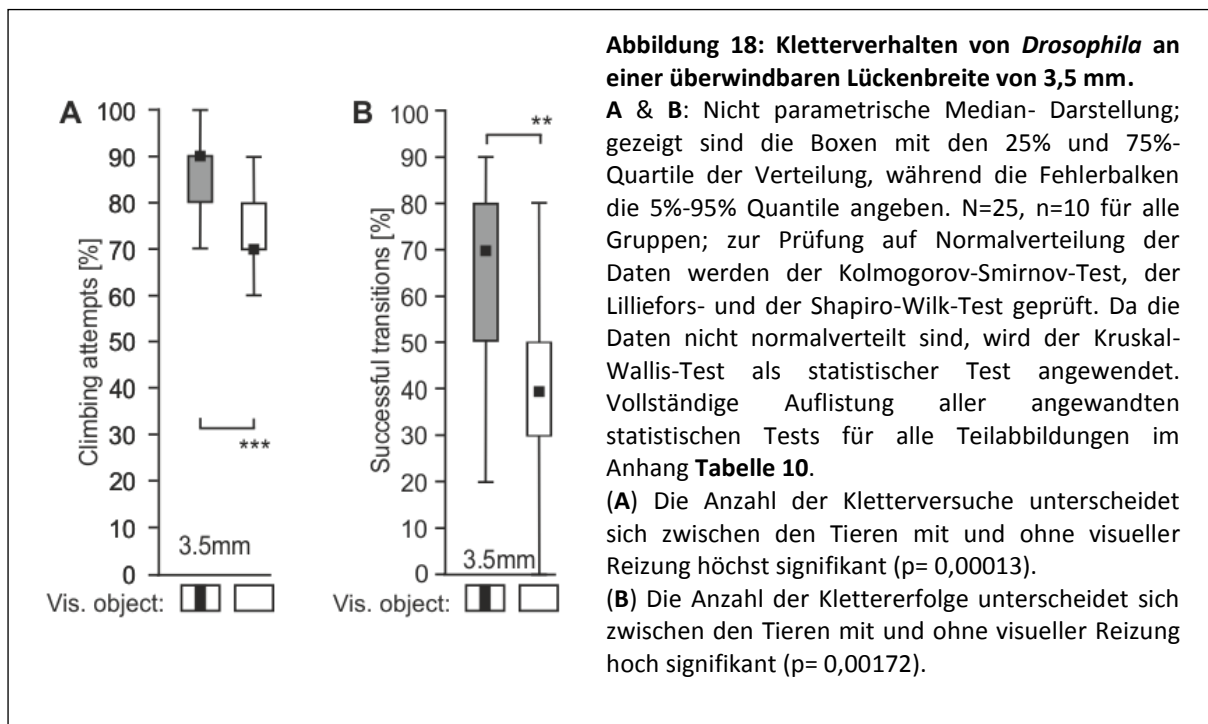
Im zweiten Teil werden die Ergebnisse des neu eingeführten Paradigmas zur Erzeugung eines depressionsähnlichen Zustands in *Drosophila melanogaster* aufgezeigt. In diesen Versuchsreihen wird ebenfalls hauptsächlich das Kletterverhalten der Tiere als Aktivitätsindikator ausgewertet, da sich anhand dieses Bewegungsablaufs direkt Entscheidungen der Fliegen beobachten lassen. Hier stand die Frage im Vordergrund, ob sich die natürliche Motivation auch verringern lässt. Zusätzlich wird das depressionsähnliche Verhalten der Fliegen auf bestimmte Aktivitätsmerkmale hin in weiteren Verhaltensparadigmen geprüft, umfassend Analogien zu der humanen Depression verglichen und die biochemische Grundlagen des Verhaltensphänotyps untersucht.

3.1 Beeinflussung des Kletterverhaltens durch externe Reize

Im Rahmen dieser Versuchsreihen werden Reize eingesetzt, die von *Drosophila* als attraktiv empfunden werden, einerseits visuelle Landmarken und andererseits Futterduft. Bei jeweils zehn Anläufen pro Fliege an eine Lücke wird die Anzahl der positiven Entscheidungen der Fliege gezählt, die Lücke zu überklettern. Eindeutig beobachtbar ist diese Entscheidung im Verhalten der Tiere über das "Bein-über-Kopf"-Verhalten (PICK S. UND STRAUSS R., 2005). Der eigentliche Klettererfolg wird nur selten in die Datenanalyse mit einbezogen, da den Fliegen meistens eine Lücke in der Arena präsentiert wird, bei der die Gegenseite gerade nicht mehr erreichbar ist (4,5 mm). Ziel der Versuche ist die Aufklärung der Fragestellung, ob es bei *Drosophila* zu einer Verstärkung ihres Kletterverhaltens bei von außen zugeführten, positiven Reizen auf der gegenüberliegenden Seite der Lücke kommt. Dies ließe sich als Motivationssteigerung beschreiben, die andere Seite der Lücke mit mehr Beharrlichkeit erreichen zu wollen.

3.1.1 Einfluss visueller, externer Reize

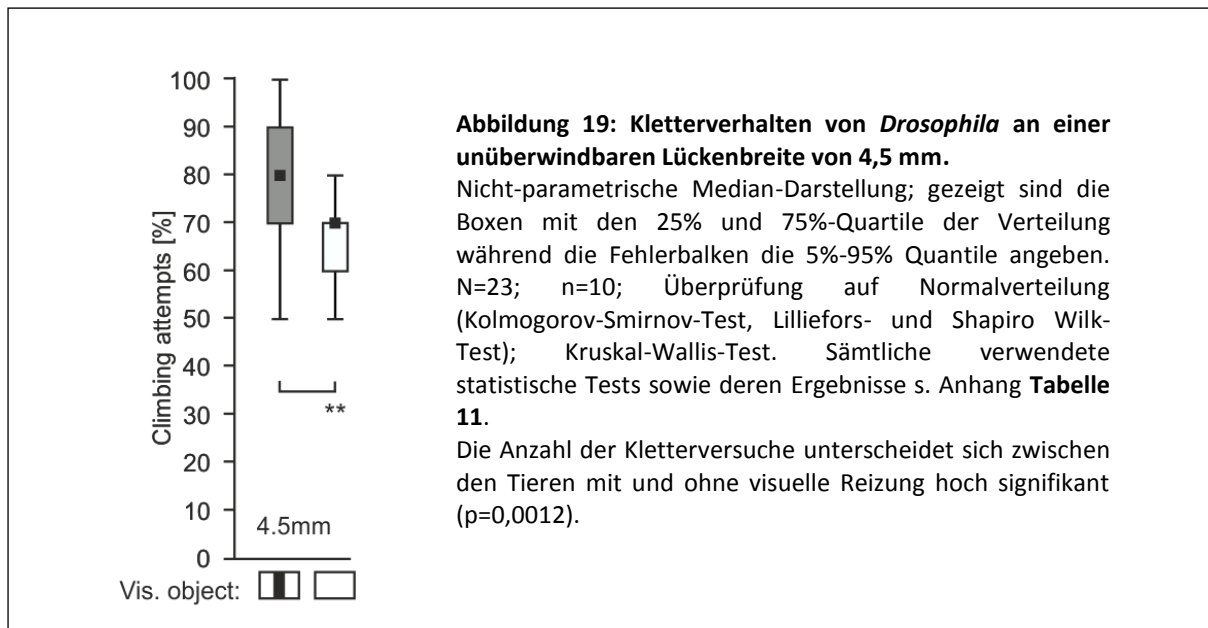
Die Darbietung eines visuellen Reizes erfolgt über die Anbringung zweier Landmarken in der Kletterarena der Fliegen (Beschreibung: 2.2.7.6 Mat. & Methode, **S.52**), damit eine Ähnlichkeit zu der Buridan'schen Arena entsteht. Befindet sich am Horizont ein schwarzer, vertikaler Streifen auf weißem Grund, wird in der Fliege vermutlich der Eindruck erzeugt, eine Fluchtmöglichkeit vor sich zu haben; im Laufen strebt sie unablässig darauf zu (STRAUSS R. UND PICHLER J., 1998). Der Einfluss dieser Balken soll im Folgenden anhand des Kletterverhaltens betrachtet werden.



Im Vorfeld dieser Versuchsreihe war bereits bekannt, dass es gelingt, bei den Fliegen eine starke Zunahme ihrer Klettermotivation durch die Zugabe von äußeren Reizen in visueller Form hervorzurufen (RIES A., 2011). Im Rahmen der dabei durchgeführten Experimente, konnte eine Zunahme der Aktivität an unterschiedlichen Lückenbreiten von 3,5 mm bis 5,5 mm gezeigt werden. Erst ab einer Lückenbreite von 6,0 mm verschwand dieser Effekt.

Die Lückenbreite von 3,5 mm ist für erste Einschätzungen im Kletterverhalten interessant, da sich zwei Parameter auswerten lassen: Die Fliegen müssen einerseits ein "Bein-über-Kopf"-Verhalten für eine erfolgreiche Überquerung vollbringen, andererseits lassen sich zusätzlich die Daten der erfolgreichen Überkletterungen verwerten. Daher werden im Rahmen dieser Arbeit vorweg die Fliegen an dieser Lückenbreite erneut betrachtet und die Ergebnisse vorheriger Versuchsreihen reproduziert (RIES A., 2011), um eine solide Basis für weiterführende Versuchsreihe zu schaffen. Es ist wiederum eine signifikante Zunahme, sowohl in den Kletterversuchen als auch in den erfolgreichen Überquerungen zu beobachten. Laufen die Tiere auf eine Landmarke zu, steigt die Anzahl ihrer Kletterversuche um 20% und in ihren Klettererfolgen steigern sie sich sogar um 30%.

Zur Quantifizierung und genaueren Betrachtung dieses Effekts der Motivationssteigerung im Klettern wird in einem nächsten Versuch den Tieren eine Lücke präsentiert, auf der sie gerade nicht mehr die Gegenseite erreichen können.

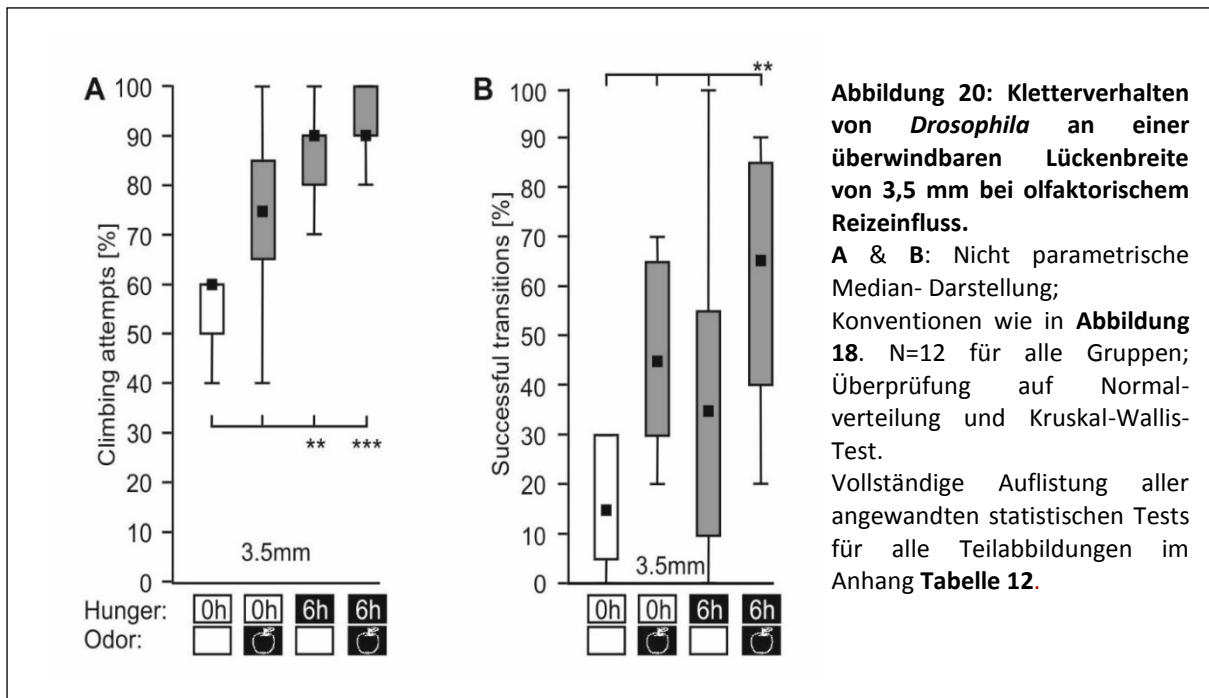


An der Lückenbreite von 4,5 mm steigern die Tiere die Aktivität ihres Kletterverhaltens ebenfalls um 10% (**Abbildung 19**). In der Gruppe der Tiere, die eine Landmarke als visuellen Anreiz erhalten, liegt der Median der Kletterversuche bei 80 %; dies ist ein verhältnismäßig hoher Wert für eine Lückenbreite von 4,5 mm. Die erhobenen Datensätze an der unüberwindbaren Lückenbreite bekräftigen somit die beobachteten Ergebnisse an der 3,5 mm Lücke. In allen Kletterversuchen dieser Arbeit könnte eventuell die Gefahr bestehen, zufällig für eine Versuchsgruppe aktivere Tiere auszuwählen und damit einen Motivationseffekt künstlich zu beeinflussen. Um diese Beeinträchtigung der Daten auszuschließen, wird immer die Grund-Kletteraktivität aller Tiere am Vortag der Versuche getestet, so kann überprüft werden, dass alle Tiere grundsätzlich unter ähnlichen Voraussetzungen gemessen werden. Zusätzlich lassen sich die Messungen durch eine Nummerierung den einzelnen Tieren zuordnen und bei einem statistisch Vergleich paarweise auswerten. Dieses Verfahren stellt sie grundsätzlich die Stichhaftigkeit der Daten sicher und erhöht ihre Messgenauigkeit.

3.1.2 Einfluss olfaktorischer, externer Reize

Die Applikation eines olfaktorischen Anreizes erfolgt über eine Luftzuleitung über eine Waschflasche befüllt mit Apfelsaft-Hefe-Lösung. Die Tiere laufen dabei im Gegensatz zu dem visuellen Aufbau stets in eine Richtung, immer auf die versteckte Düse mit dem Futterduft oder die Kontrollluft am Steg nach der Lücke zu. Nach jedem Lauf werden sie für einen erneuten Anlauf wieder in ihre Ausgangsposition zurückgesetzt. Bei der Reizung über Futterlockstoffe darf nicht der innere Sättigungszustand der Tiere aus dem Auge gelassen

werden; er stellt einen zusätzlich wichtigen Parameter dar. Es ist bekannt, dass Hunger die Aktivität im Verhalten von *Drosophila* beeinflusst (JOHNSON E. et al., 2010). Daher ist die Versuchsreihe um diese Komponente erweitert, es gibt jeweils eine Gruppe von Tieren im Hungerzustand und eine gesättigte Gruppe. Um einen ausreichenden Hungerzustand zu erzeugen, werden die Tiere 12 Stunden vorgehungert.



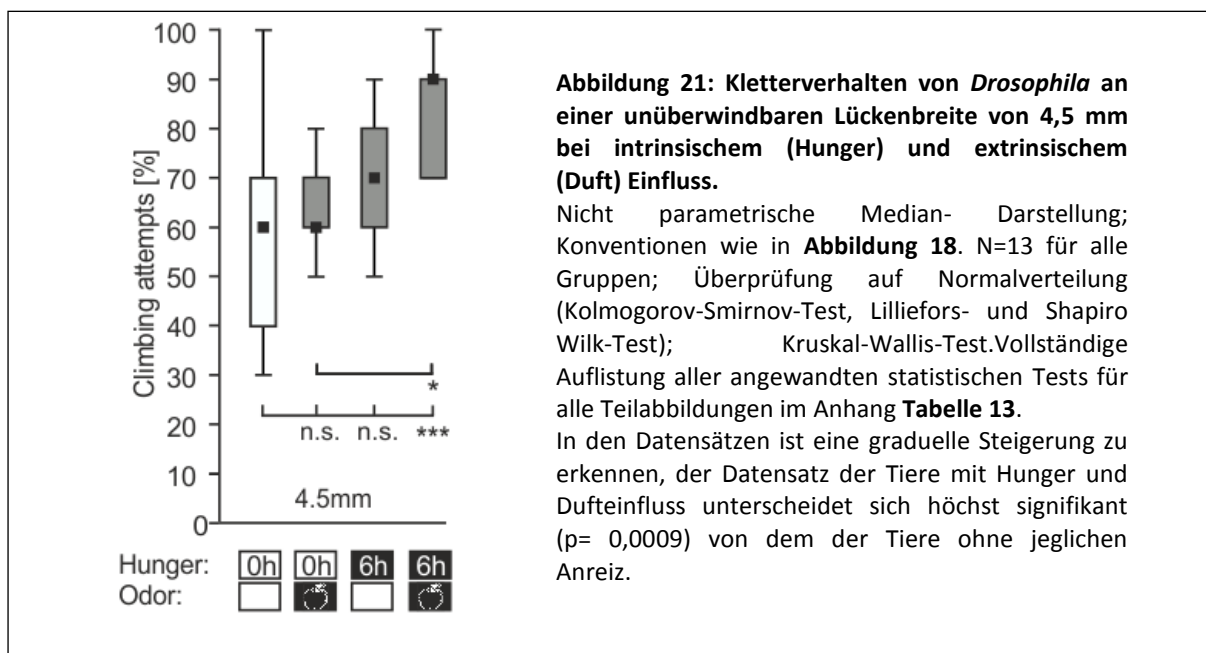
Es ist eine graduelle Steigerung in den Daten der Kletterversuche in **Abbildung 20A** erkennbar. Die sattten Tiere ohne Duft einfluss (Kontrollluft) zeigen den gängigen Basiswert für gezeigte Kletteranstrengungen bei dieser Lückenbreite. Gibt man sattten Tieren einen Duftreiz als Ansporn hinzu, zeigen sie 10% mehr Kletterversuche. Es ist bei ihrem Datensatz keine signifikante Steigerung in ihrer Kletterinitiation im Vergleich zu den Tieren ohne Duftreiz zu erkennen. Vorgehungerte Tiere dagegen sind in ihrem Grundzustand schon aktiver und zeigen aufgrund eines verstärkten Explorationsverhaltens zur Erhöhung ihres Erfolgs in der Futtersuche auch eine verstärkte Kletteraktivität. Dies wird sichtbar durch eine Erhöhung ihrer Kletterversuche im Vergleich zu den sattten Tieren um 30%. Eine zusätzliche Steigerung der Kletterbemühungen wird deutlich bei den Tieren, bei denen Hunger und Futterduft kombiniert sind. Ihre Kletterversuche unterscheiden sich höchst signifikant von denen der sattten Tiere ohne Duftreiz. Der Median ihrer Kletterbemühungen liegt zwar – ähnlich dem der vorgehungerten Tiere ohne Duftreiz – bei einem Wert von 90%, die Streuung der Daten ist aber deutlich auf die Spanne der Werte zwischen 90 und 100 Prozent begrenzt (**Abbildung 20A**).

Bei der Betrachtung der Klettererfolge (**Abbildung 20B**) zeigen die Daten eine ähnliche Grundtendenz wie die der Kletterversuche; in der detaillierten Einzelbetrachtung lassen sich aber Unterschiede ausmachen. Der Überquerungserfolg der Tiere mit Duftreiz oder Hunger unterscheidet sich zwar tendenziell von den Werten der Tiere ohne jegliche Reizeinflüsse, signifikante Abstufungen treten aber nicht auf. Auffallend im Vergleich zu den

Datensätzen der Kletterversuche ist, dass die gesättigten Tiere mit Duftanreiz eine höhere Erfolgsquote in ihren Klettererfolgen aufweisen als die vorgehungerten Tiere. Die vorgehungerten Tiere ohne Futterduft liegen bei oberflächlicher Betrachtung in den Klettererfolgen 10% niedriger als die gesättigten Tiere mit Duftzufuhr. Zu beachten ist allerdings die außergewöhnlich breite Streuung des Datensatzes der gehungerten Tiere; ihre Werte streuen in der gesamten Wertespanne von 0-100%, dies macht eine zuverlässige Aussage in diesem konkreten Vergleich schwer.

Eine Gemeinsamkeit in der Beobachtungen bei Kletterversuchen und Klettererfolgen liegt aber in dem Punkt, dass eine Kombination der Reize Duft und Hunger jeweils eine starke Verhaltenssteigerung auslösen. Die Tiere, die sowohl vorgehungert sind und gleichzeitig einem attraktiven Duft entgegenklettern, zeigen einen hoch signifikant vergrößerten Klettererfolg. Ihr Erfolgswert von 70% hebt sich auffällig von den anderen Datensätzen ab.

Gleichermaßen wie bei der visuellen Reizung soll auch bei der olfaktorischen Reizzuführung der Effekt an einer vergrößerten, nicht überwindbaren Lückenbreite überprüft werden.

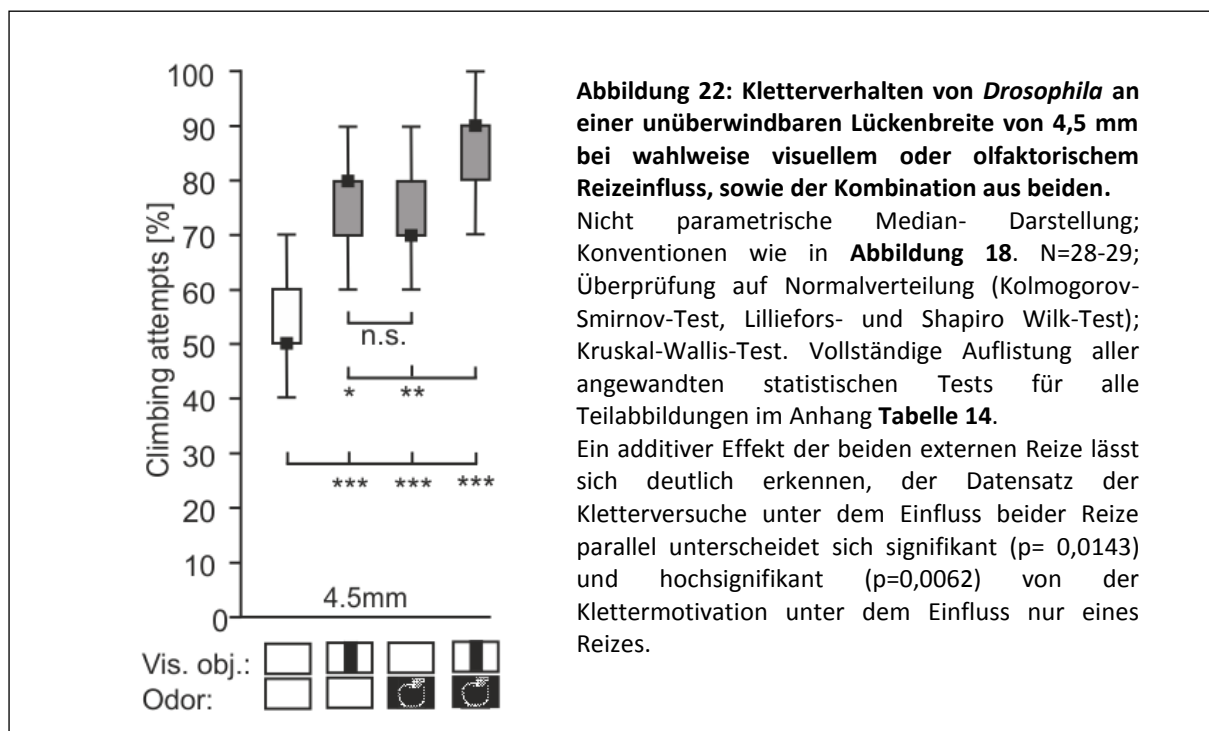


In der **Abbildung 21** lässt sich das gleiche Ergebnis erkennen, wie es bei Duftreizung bereits in den Kletterversuchen an der Lückenbreite von 3,5 mm auftrat. Die Fliegen ohne externen Anreiz - in Form von Futterduft - oder internen zusätzlichen Antrieb - in Form von Hunger - zeigen einen Grundwert von 60% in ihren Kletterbemühungen. Ein Einbringen der Reize in separierter Form bewirkt jeweils eine tendenzielle Zunahme in ihren Kletterversuchen, allerdings reicht Hunger als interner Reiz (im Gegensatz zur 3,5 mm Lücke) nicht mehr für eine signifikante Intensivierung ihrer Bemühungen. Erst die Kombination aus Anregung durch externen und internen Reiz führt schließlich zu einem höchst signifikanten Anstieg ihrer Kletterbemühungen gegenüber ihrem Grundwert. Der Median, der in dem Datensatz

der Tiere mit Hunger und Duftzugabe bei einem Wert von 90% liegt, unterscheidet sich ebenfalls signifikant von dem Wert der Kletterversuche der Fliegengruppe ohne Vorhunger. Dadurch lässt sich ein gradueller statistischer Unterschied zwischen den beiden singulären Reizen (nur Duft versus nur Hunger) erkennen, selbst wenn sie sich im direkten Vergleich nicht statistisch voneinander unterscheiden. Insgesamt untermauern auch in der olfaktorischen Reizung die Ergebnisse an der um einen Millimeter breiteren Lücke das Resultat, das sich schon an der 3,5 mm Lücke sowohl in Kletterversuchen als auch in erfolgreichen Überquerungen gezeigt hat.

3.1.3 Einfluss durch die Kombination aus olfaktorischem und visuellem Reiz

In einem weiteren Schritt lassen sich die beiden Einflüsse miteinander kombinieren; olfaktorischer und visueller Reiz werden dabei den Tieren einer Gruppe parallel dargeboten. In diesem Fall werden alle getesteten Tiere vorgehungert, damit der interne Zustand der Fliegen auf einem ähnlichen Ausgangsniveau liegt.



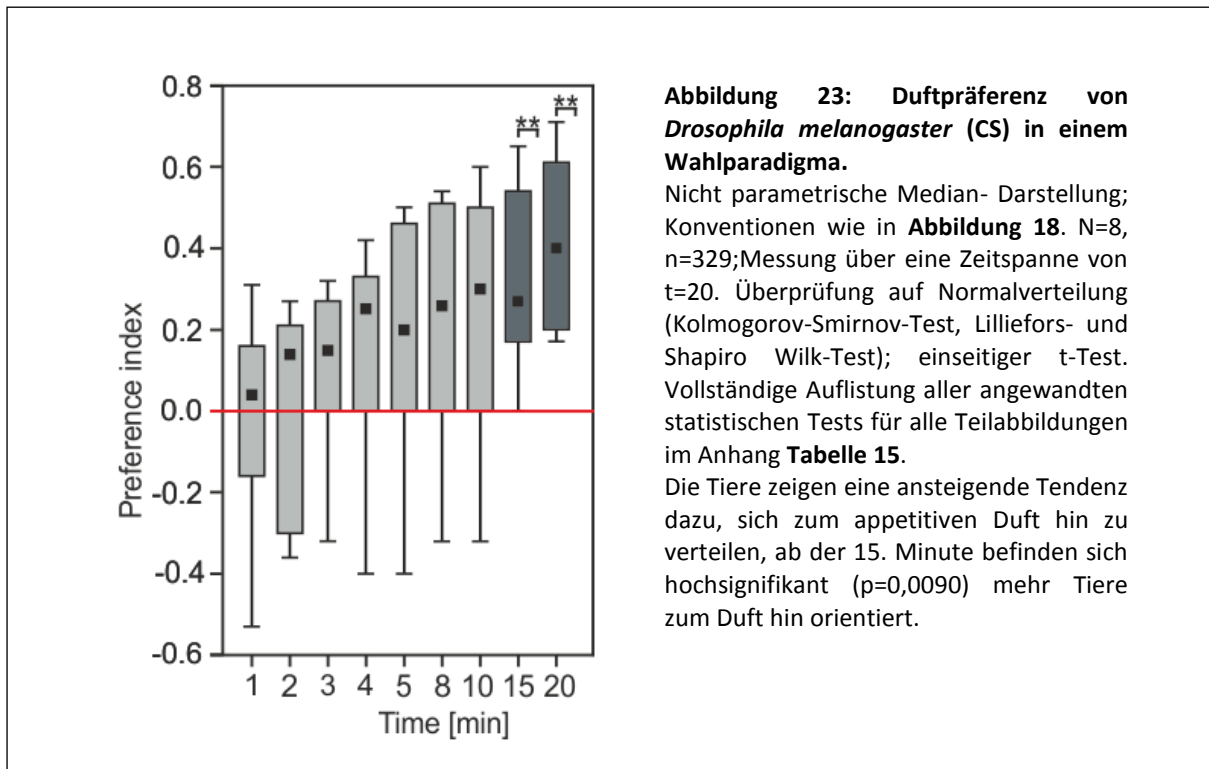
In den Kletteranstrengungen bei Zugabe unterschiedlicher Kombinationen von externen Reizen lässt sich eine klare Abstufung der Klettermotivation erkennen (**Abbildung 22**). Grundsätzlich zeigen alle Tiere sehr stark erhöhte Kletterbemühungen auf, wenn sie einen externen Reiz zugeführt bekommen, gegenüber den Tieren, die ohne lockenden Reiz in der Kletterarena laufen. Sobald ein externer Reiz zugegeben wird, äußert sich dies in einem erheblichen Anstieg ihrer Kletteranstrengungen um 20 bis 30%. Dabei unterscheidet sich die Häufigkeit der Kletterinitiation bei den Tieren, die entweder nur einen olfaktorisch oder einen visuell anziehenden Reiz geboten bekommen, nicht signifikant voneinander; beide Reizungen bewirken separiert zugeführt einen vergleichbar starken Effekt. Erheblich

verschieden von den beiden singulären Reizungen ist wiederum der Effekt, der bei einer Kombination der beiden Reizkomponenten auftritt, wenn also die Tiere sowohl Duft als auch Landmarke bemerken. Der Median der Anläufe mit Kletterversuch liegt bei 90%, ihre Kletterversuche steigern sich daher gegenüber dem Grundaktivitätswert um 40%. Infolgedessen unterschieden sie sich in ihren Kletterbemühungen auch merklich von den Fliegen, die nur eine Reizung erfahren hatten.

Die Wirkung einer Kombination unterschiedlicher Kletteranreize in der Kletterarena spiegelt sich deutlich in der Steigerung der Kletterbemühungen von *Drosophila* wider.

3.1.4 Quantifizierung des Einflusses der Pilzkörper auf das Duftpräferenzverhalten von *Drosophila melanogaster*

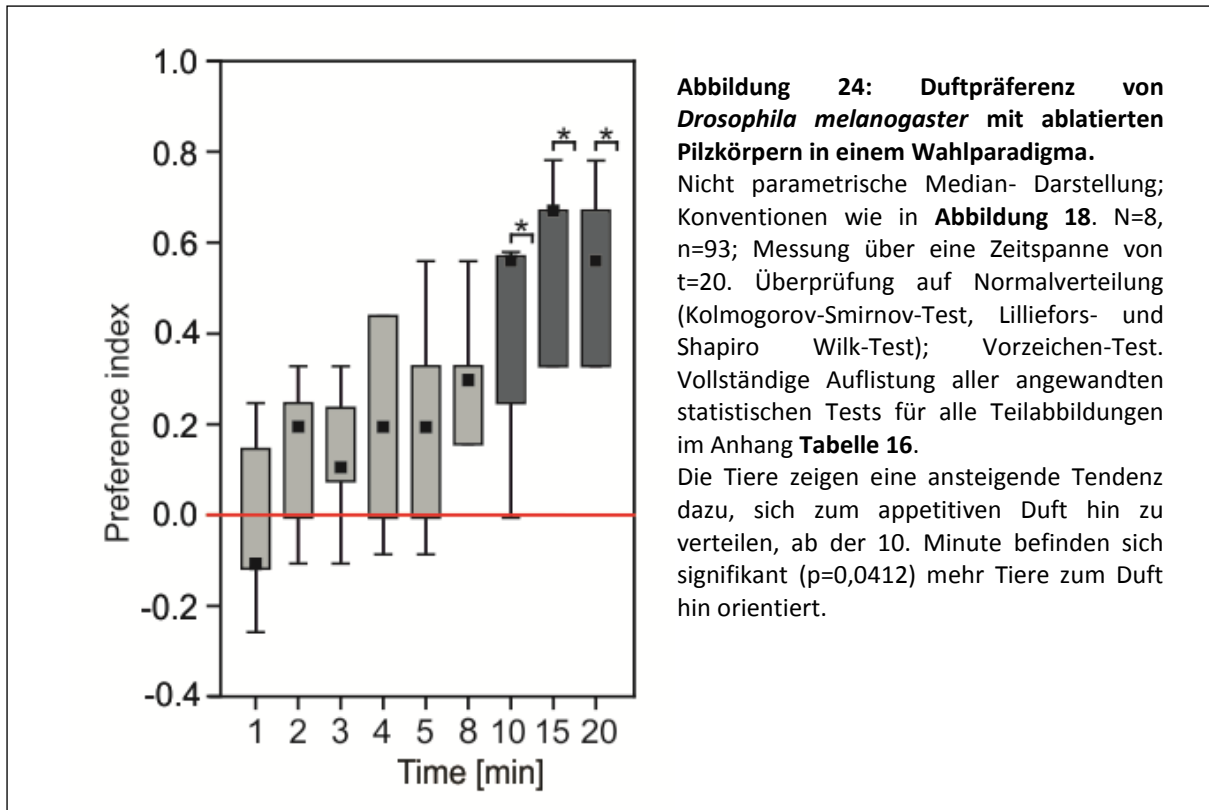
Im Rahmen der Untersuchung zur Beeinflussung der Kletteranstrengungen in *Drosophila melanogaster* besteht der oben beschriebene, olfaktorisch-anziehende Reiz aus einem Apfelsaft-Hefe-Duftgemisch. Nachdem sich der motivierende Einfluss dieses appetitiven Duftes auf die Fliegen darstellen lässt, soll in einem weiteren Schritt die Steuerung der Motivationszunahme auf struktureller Ebene im Gehirn der Tiere untersucht werden. In diesem Kontext ist die Gehirnstruktur des Pilzkörpers von Interesse, da bekannt ist, dass der Pilzkörper in anderen Verhaltenskontexten, wie beispielsweise dem Flugsimulator, Einfluss auf die spontanen Entscheidungen bei *Drosophila* hat (WU Z. UND GUO A., 2011). Da der Pilzkörper aber auch an der Duftprozessierung in *Drosophila* beteiligt ist (LEI Z. et al., 2013), muss überprüft werden, ob die Fliegen bei einer Manipulation dieser Gehirnstruktur den Futterduft beständig wahrnehmen können und ob sie ihn dabei auch als angenehm bewerten. Zu diesem Zweck werden die Fliegen über einen definierten Zeitraum in ein Wahlparadigma eingesetzt. Ähnlich wie in der Tully-Apparatur (TULLY T. UND QUINN W., 1985) stehen den Fliegen zwei Aufenthaltskammern zur Wahl, in eine Kammer wird der Futterduft eingeleitet, die andere Kammer ist geruchsneutral (**Abbildung 14**). Die Tiere können über einen gewissen Zeitraum ihren Aufenthaltsraum frei bestimmen und sich je nach ihrer Vorliebe zum Duft hin oder von ihm weg orientieren. Anhand ihrer Verteilung lässt sich ablesen, ob sie den Duft einerseits wahrnehmen können und ihn andererseits auch präferieren.



Über einen festgelegten Beobachtungszeitraum von 20 Minuten lässt sich eine zunehmende Positionsverlagerung der Fliegen in Richtung des Duftes erkennen (**Abbildung 23**). Zu beachten ist hierbei, dass die Fliegen nicht einzeln, sondern in Gruppen von 15-50 Tieren in die Apparatur eingesetzt werden (s. 2.2.7.5 Mat. und Methode, **S.50**). Dies erlaubt es, eine möglichst große Anzahl an Tieren zu messen.

In der ersten Minute nach Einsetzen der Fliegen lässt sich noch keine Präferenz beobachten, der Median ihrer Daten liegt annähernd bei null. In Minute zwei ist eine große Streuung in ihren Werten zu erkennen; dies lässt auf eine breite Verteilung der Tiere in dem Versuchsaufbau schließen. Ab Minute drei beginnt eine Tendenz in der Verteilung der Daten sichtbar zu werden. Die Werte des Präferenzindex der einzelnen Gruppen werden positiv, das bedeutet, dass die Verteilung der Fliegen sich auf die Seite der Apparatur verlagert, auf der der Apfelsaft-Hefe-Duft von ihnen perzipiert werden kann. Diese zum Duft hin orientierte Aufenthaltswahrscheinlichkeit bleibt von Minute drei an bis zu Minute zehn kontinuierlich bestehen. Ab der fünfzehnten Minute befinden sich hoch signifikant mehr Fliegen in dem Röhrchen mit Apfelsaft-Hefe-Duft und bis zum Ende des Beobachtungszeitraums verändern sie ihre Position nicht mehr.

Es lässt sich daher festhalten, dass sich ab der fünfzehnten Minute eine Mehrheit der Fliegen zum Futterduft hin orientiert und damit konstant hoch signifikant mehr Fliegen in dem entsprechenden Röhrchen zu finden sind. Eine zufällige Verteilung der Tiere ist damit ausgeschlossen und die Erwartung bestätigt sich, dass wildtypische *Drosophila* den Apfelsaft-Hefe-Duft als anziehend wahrnehmen.



Bei den Tieren, bei denen die Pilzkörper mittels einer Verfütterung von Hydroxyurea (HU) ablatiert wurden (s. 2.2.5 Mat. & Methode, **S.40**), erfolgt über denselben Beobachtungszeitraum wie zuvor bei den Wildtypfliegen eine Testung ihres Duftpräferenzverhaltens (**Abbildung 24**). Analog zu den vorherigen Messungen werden die Fliegen nicht einzeln in die Apparatur gesetzt, sondern in Gruppen von neun bis 21 Tieren. Die Größe der getesteten Gruppen ist jeweils reduziert im Vergleich zu den Gruppen der wildtypischen Fliegen, bedingt durch die schwierigere Aufzucht der Tiere. Das Verfahren zur Ablation der Pilzkörper mit Verfütterung von HU und vielen Waschschritten senkt die Überlebensrate der Tiere, dennoch ist der Datensatz von ausreichender Größe, um aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen.

Es gibt ebenfalls als direkte Kontrolle eine Gruppe von Tieren, die im gleichen Maße den Waschschrritten unterworfen wird, aber keine Verfütterung von HU erfährt. Die Schlüpfquote war in dieser Gruppe sehr niedrig, weshalb keine auswertbaren Ergebnisse zu betrachten sind. Da sich die HU-behandelten Tiere allerdings nicht von den wildtypischen in ihrem Verhalten unterscheiden, ist ein direkter Vergleich zwischen den HU- und den wildtypischen Tieren möglich.

In der ersten Minute liegt die Aufenthaltswahrscheinlichkeit der HU-behandelten Fliegen tendenziell leicht im negativen Bereich, ab der zweiten Minute wird aber schon eine deutliche Verschiebung in den positiven Wertebereich deutlich, ähnlich wie bei den wildtypischen Fliegen verlagern auch die Fliegen mit den künstlich in ihrer Ausbildung unterdrückten Pilzkörpern ihre Position in das Duft-Röhrchen. Dies bedeutet, dass diese Fliegen ebenfalls verstärkt die Seite der Apparatur präferieren, in der sich der Apfelsaft-Hefe-Futterduft befindet. Über die gesamte Zeitspanne kommt es zu einer graduellen Zunahme der Anzahl der Tiere in dem positiven Duft-Bereich. Ab der zehnten Minute befinden sich signifikant mehr Tiere in dem bedufteten Röhrchen. Diese signifikant vom Zufallsniveau verschiedene Verteilung bleibt bis zum Ende der Aufzeichnungen (Minute 20) konstant; es lässt sich analog zu den wildtypischen Fliegen eine zufällige Verteilung ausschließen. Trotz reduzierter Pilzkörper können die Fliegen dementsprechend den Duft wahrnehmen und als angenehm und verlockend bewerten. Eine annähernd intakte Duftbewertung ließ sich erwarten, da das laterale Horn im Gehirn von *Drosophila* einen direkten Eingang mit Duftinformationen von den Antennalloben erfährt und eine angeborene Reizbewertung vornimmt. Das laterale Horn bedingt intuitive Entscheidungen, hin zu attraktiven Duftquellen (STRUTZ A. et al., 2014).

3.1.4.1 Überprüfung der Pilzkörper-Ablation durch neuroanatomische Präparate

Zur Bestätigung, dass das angewandte Verfahren zur Ablation der Pilzkörper wirkungsvoll ist und bei allen Tieren erfolgreich die Entwicklung der Pilzkörper unterdrückt wurde, werden in Anschluss an die durchgeführten Testreihen neuroanatomische Präparate der Fliegengehirne nach der Kragenmethode (s. 2.2.8.1 Mat. & Methode, **S.54**) angefertigt. Es werden alle Tiere überprüft, die in der Apparatur getestet wurden. Nur so lässt sich ausschließen, dass sich Tiere in den Versuchsgruppen befunden haben, bei denen die Pilzkörperausbildung in zu geringen Ausmaß unterdrückt wurde und die daher eine Verfälschung der Verhaltensergebnisse bedingt hätten.

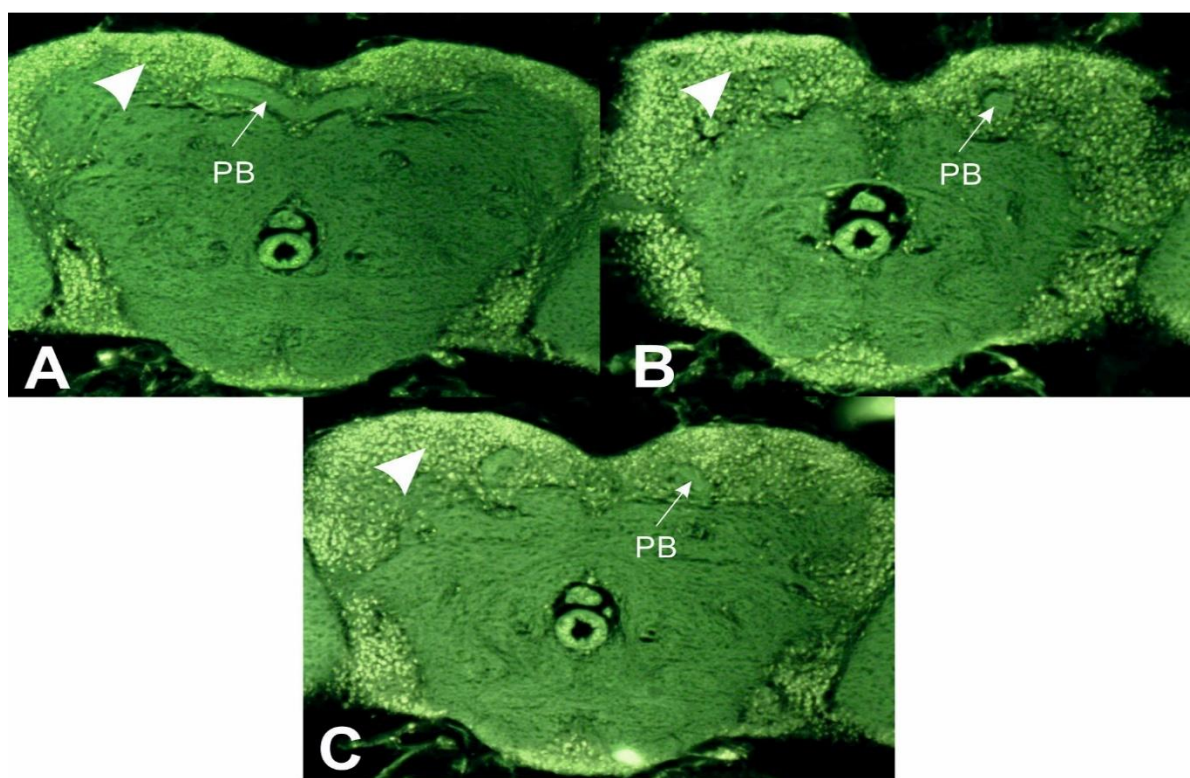


Abbildung 25: Frontale Paraffinschnitte durch die Gehirne männlicher CS Fliegen mit ablatierten Pilzkörpern.

In den Schnitten (Dicke: 7 μm) wirken aufgrund des Farbstoffs der Komplexaugen die neuropilen Strukturen grün, während die Zellkörper hellgrün bis gelb gefärbt erscheinen. Die Photographien wurden unter dem Fluoreszenz-Mikroskop erstellt.

Die Protocerebralbrücke (PB) ist deutlich zu erkennen, sie ist in allen gezeigten Ebenen des Schnittpräparates vorhanden. Die Schnittebene verläuft von **A** nach **C** caudal, daher ist die Protocerebralbrücke nur in einer Ebene vollständig zu erkennen (**A**) in den beiden weiteren Ebenen sind ihre caudalen Anteile sichtbar (**B** & **C**). Das Areal, in dem sich die Calices der Pilzkörper bei unbehandelten Fliegen befinden würden, ist in allen Schnittebenen auf einer Seite mit einer weißen Pfeilspitze gekennzeichnet.

Die Schnitte stammen von Objektträger Nr. 61, 16.09.2011

Die neuroanatomischen Präparate zeigen bei näherer Betrachtung deutlich, dass die Behandlung der Fliegen mit Hydroxyurea die Ausbildung der Pilzkörper reduziert hat. In dem beispielhaft ausgewählten Präparat aus **Abbildung 42**. lässt sich die Protocerebralbrücke durch mehrere Ebenen gut erkennen. Diese Gehirnstruktur dient in allen Präparaten als Orientierungshilfe zur Lokalisierung der Calices der Pilzkörper, da diese beiden Strukturen auf gleicher frontaler Ebene im Gehirn liegen. Alle Ebenen, über die sich die Protocerebralbrücke in den Paraffinschnitten erstreckt, werden dokumentiert, um sicherzustellen, dass ein Präparat nicht leicht schräg geschnitten wurde und daher nur scheinbar keine Pilzkörper zu sehen sind. Die Calices der Pilzkörper liegen immer dorsal im Verhältnis zur Protocerebralbrücke im Gewebe, beidseitig leicht lateral verschoben. Dies ist in **Abbildung 26** sehr gut zu erkennen. In dem Präparat der wildtypischen, männlichen Tiere mit unbehandelten Pilzkörpern sind die Calices als ovale Strukturen nicht zu übersehen. Sie lassen sich in allen dargestellten Schnittebenen gut ausmachen.

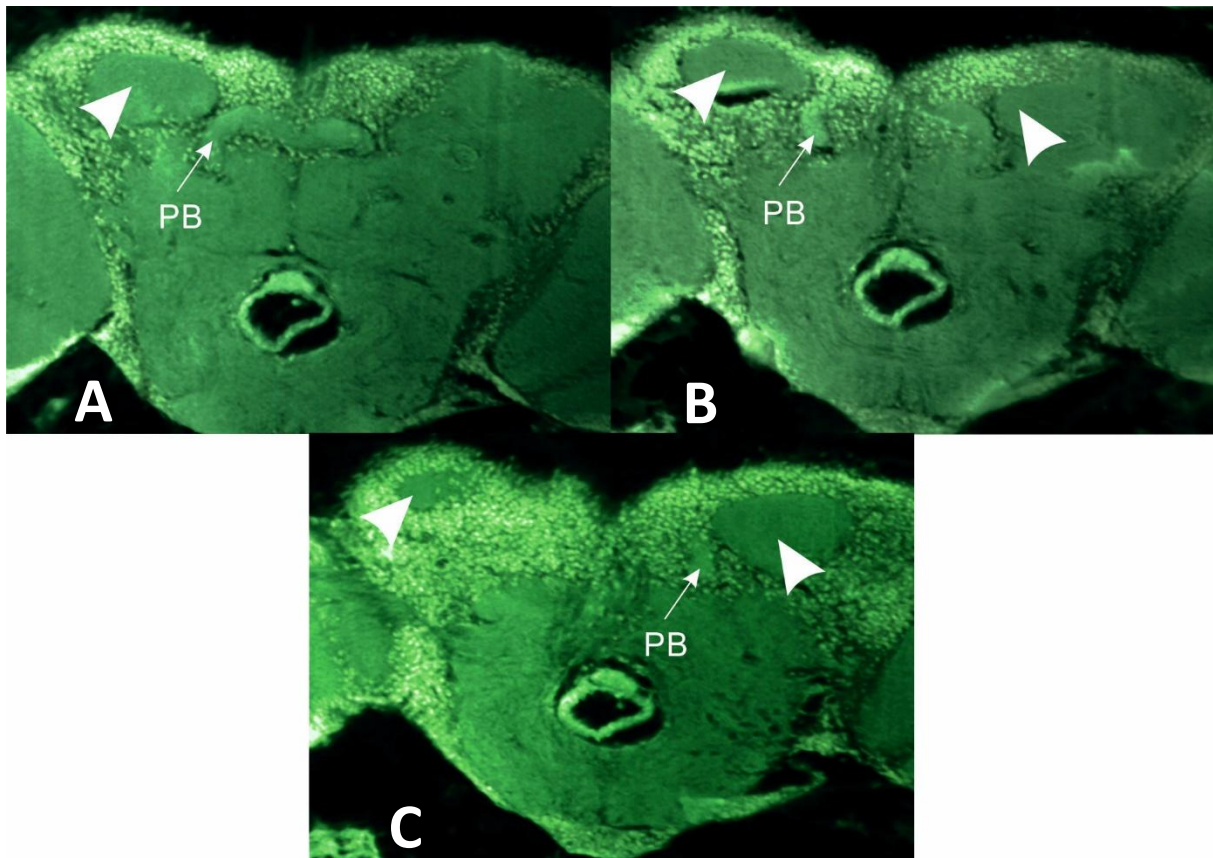


Abbildung 26: Frontale Paraffinschnitte durch die Gehirne männlicher CS Fliegen mit intakten Pilzkörpern.

Die Aufnahmen entsprechen von den Einstellungen der **Abbildung 25**.

Die Protocerebralbrücke ist in allen Schnittebenen deutlich zu sehen, sie ist wiederum nur in dem proximalen Schnitt (**A**) vollständig abgebildet. In den beiden weiteren Ebenen sind ihre caudalen Anteile noch sichtbar (**B** & **C**). Die Calices der Pilzkörper sind auf allen Schnittebenen mit weißen Pfeilspitzen gekennzeichnet. In der proximalen Ebene (**A**) ist nur einseitig ein Calyx zu sehen, der des gegenüberliegenden Pilzkörpers taucht erst in den caudaleren Ebenen auf und ist vollständig in Ebene **C** zu betrachten.

Die Schnitte stammen von Objektträger Nr. 115, 16.09.2011

3.1.5 Rolle der Pilzkörper beim Beeinflussen des Kletterverhaltens durch externe, motivierende Reize

Da sich in den Duftpräferenzanalysen anschaulich ablesen lässt, dass die Anziehungskraft des Futterduftes in *Drosophila* trotz Ablation der Pilzkörper bestehen bleibt, können im Anschluss Versuche durchgeführt werden, in denen die synaptische Weiterleitung im Pilzkörper manipuliert wird.

3.1.5.1 Modulation des motivierenden Einflusses von externen, olfaktorischen Reizen durch distinkte Pilzkörper-Loben in *Drosophila*

Um den Einfluss der Pilzkörper auf die Motivationsausprägung zu betrachten, werden in einigen Tieren jeweils bestimmte Gruppen von Kenyonzellen der Pilzkörper blockiert. Dies ist möglich durch den Einsatz beschriebener GAL4-Treiber-Linien, die Kenyonzellen unterschiedlicher Pilzkörperloben adressieren (Aso Y. et al., 2009). Die Blockade erfolgt durch eine GAL4-gelenkte Expression von Tetanustoxin (TNT) (SWEENEY S. et al., 1995). TNT verhindert – in den über die GAL4-Treiber definierten Neuronen der Loben – die Ausschüttung der synaptischen Vesikel und in Folge dessen, die chemische synaptische Weiterleitung. Mit Hilfe dieser genetischen Manipulation lässt sich überprüfen, ob bestimmte Kompartimente des Pilzkörpers auf den durch einen attraktiven olfaktorischen Anreiz bedingten Anstieg der Klettermotivation einen Einfluss haben.

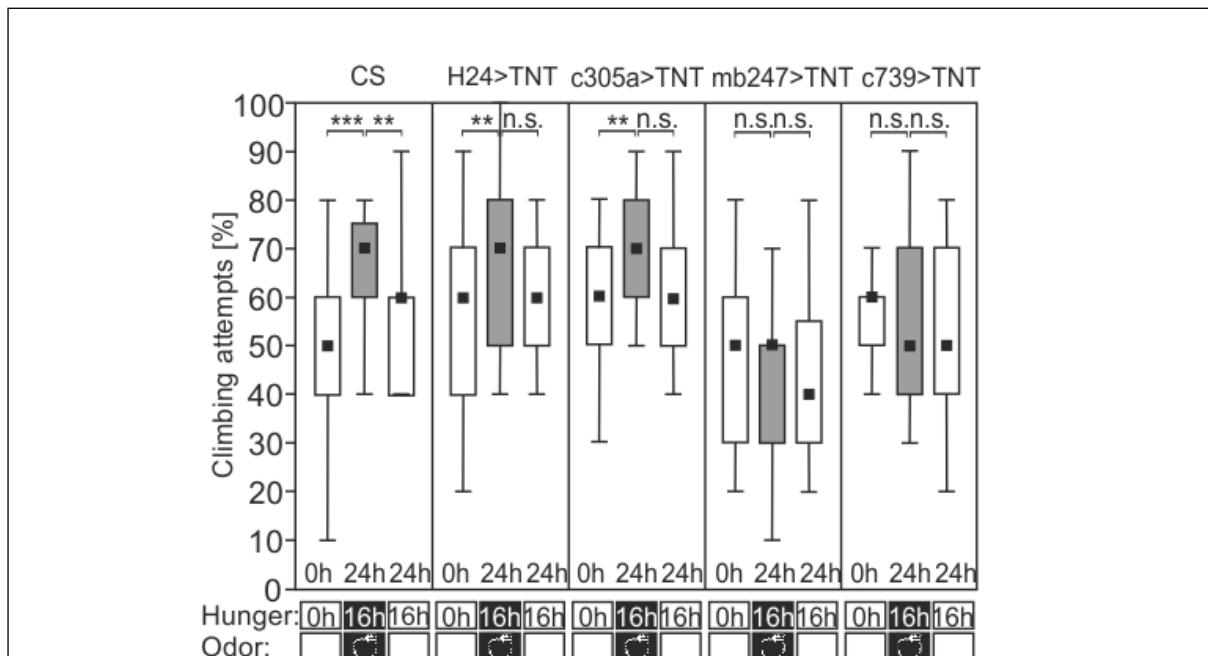


Abbildung 27: Klettermotivation unter Dufteinfluss an der 4,5 mm Lücke bei Inhibition der chemischen neuronalen Transmission in unterschiedlichen Loben der Pilzkörper.

Nicht parametrische Median- Darstellung; Konventionen wie in **Abbildung 18**. N(satt)=47/49/41/42/47; N(Test nach 24 h gehungert)= 20-27; Überprüfung auf Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test, Lilliefors- und Shapiro Wilk-Test); Wilcoxon-Test (satt gegen hungrig mit Duft), Mann-Whitney U-Test (gehungert mit gegen gehungert ohne Duft). Vollständige Auflistung aller angewandten statistischen Tests für alle Teilabbildungen im Anhang **Tabelle 17**.

Bei den Tieren mit *mb247>TNT* und *c739>TNT* tritt kein signifikanter Unterschied zwischen den Datensätzen von Tag 1 und den Datensätzen des Laufs mit zugeführtem Duftreiz auf. Die vergleichbaren Datensätze der wildtypischen CS Fliegen zeigen dagegen einen höchstsignifikanten Unterschied ($p=0,0005$), die der *H24>TNT* Tiere und der *c305a>*Tiere einen hoch und höchst signifikanten Unterschied ($p=0,0022$ und $p=0,0003$).

Die einzelnen Kreuzungen und der Wildstamm CS sind in **Abbildung 27** nebeneinander abgebildet. Alle Tiere werden zunächst im sattten Zustand getestet und dann für einen zweiten Test nach 24 Stunden für 16 Stunden vorgehungert. Im zweiten Test 24 Stunden

später werden jeweils die Hälfte der Fliegen eines Genotyps dann mit dem attraktiven Duft und die andere Hälfte mit reiner Luft getestet. Als Vergleichsexperiment sind an erster Stelle die Daten der wildtypischen CS Fliegen aufgetragen. Die statistische Testung erfolgt aber innerhalb eines Genotyps und zwar gepaart zwischen satten und gehungerten Fliegen mit Duftreizgabe, sowie ungepaart zwischen vorgehungerten Fliegen mit und ohne Duftreizgabe. Es lässt sich deutlich erkennen, dass die wildtypischen Tiere bei einem zweiten Test nach 24 Stunden, falls ein externer Duftreiz zugegeben wird, höchst signifikant mehr Kletterversuche zeigen als in der Testung am Vortag. In ähnlichem Maße zeigen sie signifikant mehr Kletterversuche als die Tiere, die zum gleichen Zeitpunkt keine Duftreizung erfahren (exakte p-Werte aller Daten sind zur Verdeutlichung in **Tabelle 7** aufgeführt).

Sowohl die Tiere, in denen TNT die synaptische Weiterleitung der γ -Loben des Pilzkörpers (*H24-GAL4*) unterdrückt, als auch die Tiere, in denen dies in den α' -/ β' -Loben der Pilzkörpers (*c305a-GAL4*) geschieht, verhalten sich wildtypisch. Es tritt jeweils zwischen der ersten Testung und dem erneuten Test nach 24 Stunden mit Duftzugabe wie bei den CS-Tieren eine hoch bis höchst signifikante Steigerung der Kletterbemühungen auf. Ein einziger Unterschied im Verhalten lässt sich bei den Tieren, in denen TNT im Muster der Treiberlinien *H24-GAL4* (γ -Loben) und *c305a-GAL4* (α' -/ β' -Loben) getrieben wird, beobachten. Bei ihnen lässt sich kein Unterschied in den Kletteranstrengungen zwischen Tieren mit und ohne Duft am zweiten Testtag auszumachen. Die Daten sind trotzdem direkt vergleichbar mit denen der Wildtypfliegen, da der Anstieg der Klettermotivation vom ersten zum zweiten Tag für diese Untersuchung der entscheidende Parameter ist.

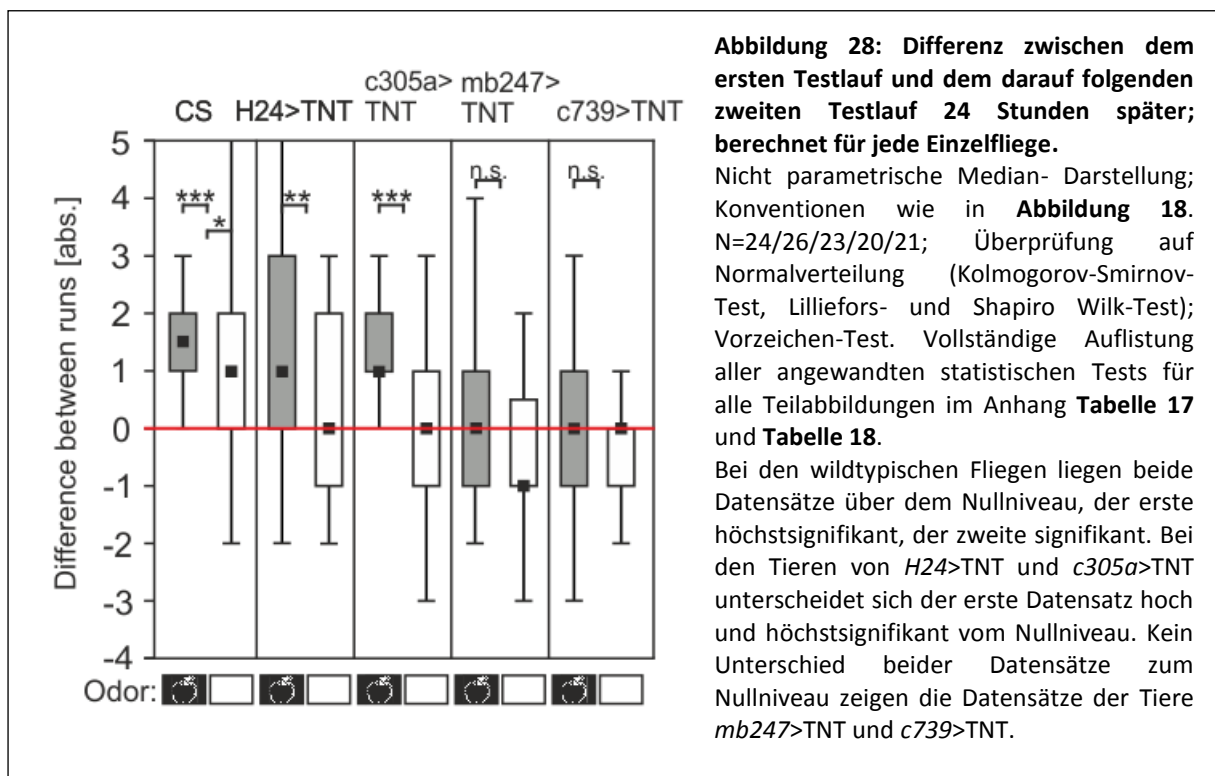
Die Fliegen, in denen die synaptische Transmission der α -/ β -, und γ -Loben (*mb247-GAL4* in **Abbildung 27**) blockiert ist, zeigen keine Differenz in ihren Datensätzen im Vergleich zum Test am Vortag, egal ob mit oder ohne Duftzugabe. Der gleiche Effekt zeigt sich bei den Tieren, bei denen die synaptische Transmission nur in den α -/ β -Loben unterbrochen ist (*c739-GAL4* in **Abbildung 27**). Sie zeigen ebenfalls nach 24 Stunden keine erhöhte Klettermotivation, ganz gleich, ob sie auf angenehmen Futterduft zulaufen oder nicht.

Tabelle 7: p-Werte der statistischen Tests jeweils innerhalb eines Genotyps für Daten des zweiten Versuchstags, 16 Stunden gehungerten Tiere mit Duftgabe aus **Abbildung 27**.

Genotyp	N	Test gegen Lauf 1 ohne Reiz p Wilcoxon Matched Pairs	Test gegen Lauf nach 24 h ohne Duftgabe p Mann-Whitney-U
CS nach 24 h + Duft	24	0,0005	0,0038
H24>TNT nach 24 h + Duft	27	0,0022	0,1967
c305a>TNT nach 24 h + Duft	23	0,0003	0,0592
mb247>TNT nach 24 h + Duft	21	0,8203	0,9486

Genotyp		Test gegen Lauf 1 ohne Reiz	Test gegen Lauf nach 24 h ohne Duftgabe
c739>TNT <i>nach 24 h + Duft</i>	21	0,6982	0,5010

Um diese Ergebnisse noch einmal zu veranschaulichen, wird für jede einzelne Fliege eine Differenz zwischen den Kletterinitiationen ihrer beiden Läufe gebildet. Hierbei wird jeweils die Anzahl ihrer Kletterversuche im ersten Testlauf von der Anzahl im zweiten Test nach 24 Stunden abgezogen. Liegt der Wert der berechneten Differenz im positiven Bereich, so hat eine Fliege mehr Kletterversuche im zweiten Versuchsdurchlauf gezeigt. Entspricht der Differenzwert dagegen einem Wert von null, war keine Veränderung in Kletterverhalten der Fliege zu beobachten. Bei einem Wert, der sich im negativen Wertbereich befindet, nahm die Kletterbereitschaft der Fliege im zweiten Durchlauf ab.



Durch die Berechnung der Differenz zwischen den beiden Läufen im Abstand von 24 Stunden bezogen auf jede einzelne Fliege (**Abbildung 28**), lässt sich das Ergebnis aus **Abbildung 27** besonders gut veranschaulichen. Es ist deutlich zu erkennen, dass die berechneten Differenzwerte der Fliegen, bei denen die Transmission der α -/ β - und γ -Loben (*mb247>TNT*) oder auch einzig, die der α -/ β -Loben (*c739>TNT*) verhindert ist, keine Verschiebung ihrer Werte in den positiven Bereich aufweisen. Sie zeigen bei keinem der beiden Läufe nach 24 Stunden eine Steigerung in ihren Kletterbemühungen, unabhängig davon, ob sie einen anregenden Duft als Lockmittel angeboten bekommen oder erneut dieselben Konditionen wie am Vortag erleben.

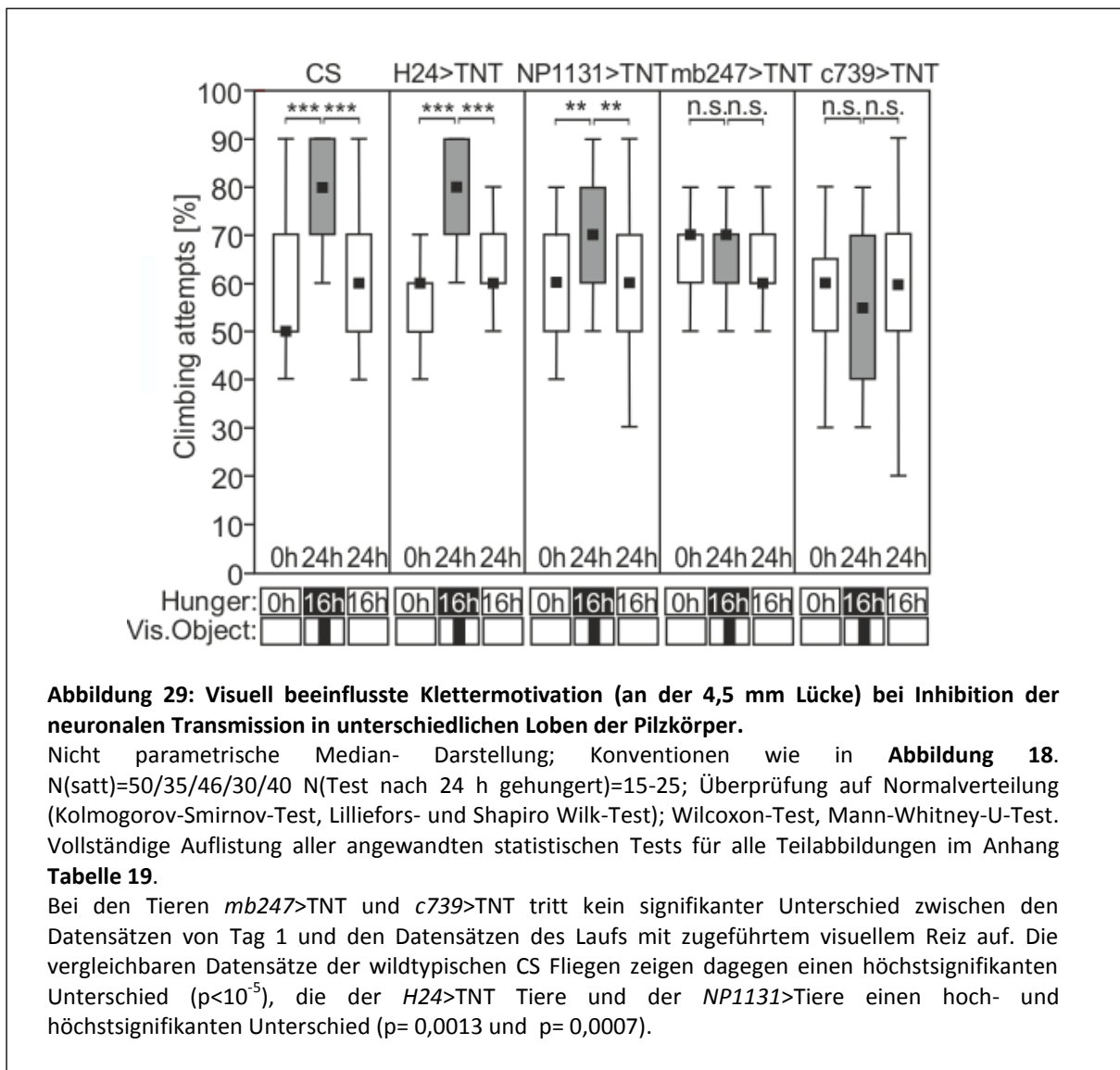
Die wildtypischen Fliegen dagegen zeigen nach 24 Stunden generell eine signifikante Steigerung ihres Kletterverhaltens; bei einer zusätzlichen Präsentation eines attraktiven Duftes verlagern sich ihre Werte höchst signifikant in den positiven Wertebereich. Die Tiere, bei denen der synaptische Ausgang aus den γ -Loben ($H24>TNT$) oder den α' -/ β' -Loben ($c305\alpha>TNT$) blockiert wird, zeigen bei den gleichen Bedingungen wie am Vortag keine Veränderung in ihrem Kletterverhalten. Sobald der Zusatz eines Duftes als Lockstoff eingesetzt wird, schnellt ihre Klettermotivation nach oben; sie zeigen damit dieselbe Motivationssteigerung bei Futterduft wie die Wildtypfliegen.

Daraus folgt, dass für eine Duft-induzierte Verstärkung der Klettermotivation die Kenyonzellen der α -/ β -Loben benötigt werden. Die kongenitale Duftpräferenz ist davon unbeeinflusst, da sie vom lateralen Horn gesteuert wird.

3.1.5.2 Modulation des motivierenden Einflusses von externen, visuellen Reizen durch distinkte der Pilzkörper-Loben in *Drosophila*

Im nächsten Schritt soll untersucht werden, ob bestimmte Gruppen von Kenyonzellen der Pilzkörper auch die Motivationsveränderung bei Präsentation von visuellen Stimuli in Form von Landmarken entscheidend beeinflussen. Neben dieser generellen Fragestellung nach einem Einfluss der Pilzkörper im visuellen Motivationsverhalten ist hierbei besonders interessant, ob dabei eventuell dieselben Gruppen von Kenyonzellen eine motivationsbedingte Verhaltensmodulierung bedingen wie für Düfte.

Daher werden im Anschluss an die Betrachtung der Duft-induzierten Zunahme der Klettermotivation in einem nächsten Schritt Tiere aus den gleichen Kreuzungen eingesetzt, um diesmal die visuell induzierte Steigerung der Kletterbemühungen zu betrachten. Wie zuvor werden alle Tiere im sattten Zustand ohne Landmarke gemessen und dann 24 Stunden später nach 16 Stunden hungern aufgeteilt. Die Hälfte der Fliegen jedes Genotyps wird nun mit einer Landmarke gemessen, die andere Hälfte ohne diese attraktive Landmarke. Eine Abänderung gibt es einzig in der Verwendung einer GAL4-Treiberlinie. Es betrifft die Linie, die in dem vorherigen Versuch die α' -/ β' -Loben ($c305\alpha-GAL4$) adressiert. Da die Tiere aus der Kreuzung $c305\alpha>TNT$ nicht gerade ausgerichtet auf die Landmarken zulaufen, können sie nicht in ihrem Kletterverhalten zu der Landmarke beobachtet werden. Daher wird ersatzweise die Treiberlinie $NP1131-GAL4$ eingeführt (Aso Y. et al., 2009).



In den Ergebnissen zur visuell-ausgelösten Motivation (**Abbildung 29**) lassen sich deutliche Parallelen zu den Daten der olfaktorisch bedingten Klettermotivation erkennen. Die wildtypischen CS Fliegen zeigen die schon zuvor beobachtete Reaktion; es kommt bei ihnen zu einem deutlichen Anstieg in der Anzahl ihrer Kletterversuche bei der Zugabe des visuellen Anreizes in der Arena. Die Daten ihrer Kletterversuche unterscheiden sich sowohl von denen des Vortags, als auch von denen ohne Reizzugabe höchst signifikant (Daten siehe **Tabelle 8**). Die Tiere der Kreuzung *H24>TNT* (γ -Loben) zeigen ein phänotypisch-identisches Verhalten, ebenso wie die Tiere, bei denen TNT im Expressionsmuster der GAL4-Linie *NP1131* (α' -/ β' -Loben) getrieben wird.

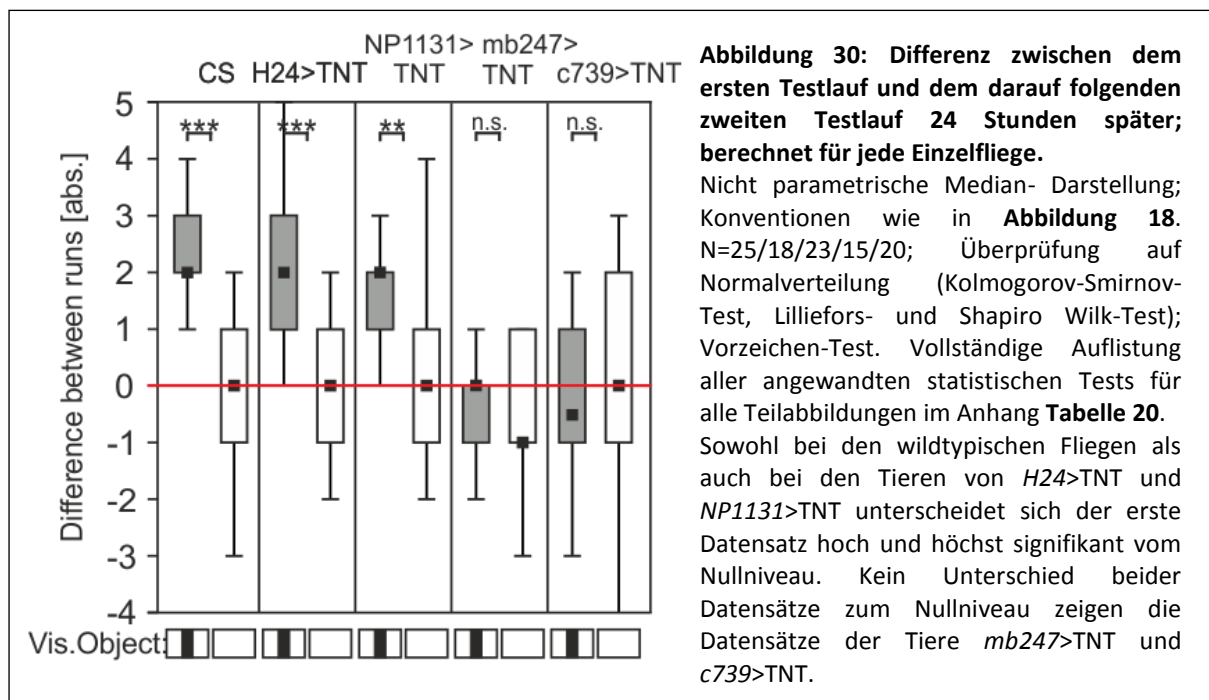
Ist jedoch die synaptische Transmission der α -/ β - und γ -Loben (*mb247-GAL4* in **Abbildung 29**) unterbrochen, so ist ein Anstieg in den Kletterbemühungen auch bei visuellen Anreizen nicht mehr vorhanden. Die Tiere zeigen keinen Unterschied in ihrem Kletterverhalten, ungeachtet der Umgebung, in der sie sich befinden.

Daher lässt sich die Steuerung einer motivationsbedingten Kletterzunahme bei visuellen Anreizen ebenfalls auf die Verarbeitung in den α -/ β -Loben (*c739>TNT*) eingrenzen.

Tabelle 8: p-Werte der statistischen Tests jeweils innerhalb eines Genotyps für Daten des zweiten Versuchstags, 16 Stunden gehungerten Tiere mit Landmarke (LM) aus **Abbildung 29**.

Genotyp	N	Test gegen Lauf 1 ohne Reiz p Wilcoxon Matched Pairs	Test gegen Lauf nach 24 h ohne LM p Mann-Whitney-U
CS <i>nach 24 h + LM</i>	25	<10 ⁻⁵	<10 ⁻⁵
H24>TNT <i>nach 24 h + LM</i>	17	0,0007	0,0001
NP1131>TNT <i>nach 24 h + LM</i>	23	0,0013	0,0061
mb247>TNT <i>nach 24 h + LM</i>	15	0,2603	0,4610
c739>TNT <i>nach 24 h + LM</i>	20	0,1873	0,4450

Um auch die Ergebnisse dieses Versuchs veranschaulicht darzustellen, wird wie in **Abbildung 28** die Differenz zwischen den Läufen des ersten Tags und den Anläufen 24 Stunden später jeweils mit und ohne Duft gebildet.



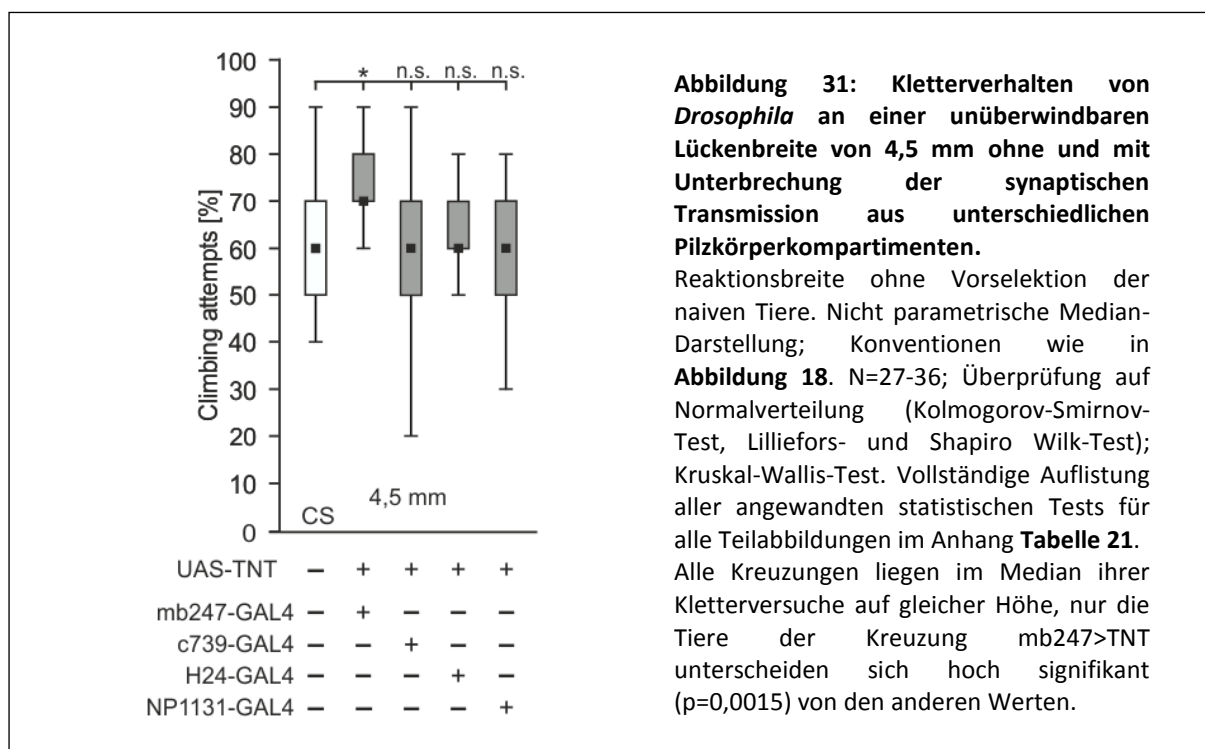
Wie schon in den Versuchen mit Duftzuführung, dient die Darstellung der Differenzbeträge der Kletterversuche der beiden Läufe einer Verdeutlichung des Einflusses eines attraktiven visuellen Reizes auf die Klettermotivation der Fliegen (**Abbildung 30**). Am wildtypischen Verhalten ist eindeutig abzulesen, wie entscheidend die Landmarken die Bemühungen der Fliegen steigern. Während der Differenzbetrag der beiden Läufe ohne visuellen Anreiz an den Folgetagen null beträgt, verschiebt er sich bei Einbringen der Landmarken in die Arena höchst signifikant in den positiven Wertebereich. Ein nahezu identisches Bild liefern die

Tiere, in denen TNT entweder in den α' -/ β' -Loben (*NP1131>TNT*) oder in den γ -Loben (*H24>TNT*) exprimiert wird, ihr Verhalten ist wildtypisch.

Besonders auffällig ist aber auch in dieser Darstellung die Veränderung der Werte bei den Tieren, in denen entweder α -/ β - und γ -Loben (*mb247>TNT*) oder einzig die α -/ β -Loben (*c739>TNT*) blockiert sind. Bei ihnen steigen die Differenzbeträge nicht über das Nullniveau, sondern liegen tendenziell sogar im negativen Wertebereich.

Es kann daraus gefolgert werden, dass visuelle und olfaktorische Motivationsreize in denselben, den α -/ β -Kompartimenten der Pilzkörper verarbeitet werden.

Zusätzlich werden Tiere der verwendeten Kreuzungen auf Unterschiede in ihrem grundsätzlichen Kletterverhalten ohne äußere Einflüsse untersucht, da in den Testreihen zu **Abbildung 27** und **Abbildung 29** an dem ersten Versuchstag, Tiere mit stark abweichenden Kletterdaten ausgeschlossen wurden, um eine starke Datenstreuung zu vermeiden. Es ist aber interessant, einen Gesamtüberblick über die gesamte Reaktionsbreite zu bekommen, da es zu Unterschieden in der grundsätzlichen Klettermotivation zwischen den Kreuzungen hätte kommen können. Um wiederum Abweichungen, die einzig aufgrund einer Veränderung in der Körpergröße – als Folge des Heterosis-Effekts – auftreten können, erkennen zu können, wird die wildtypische Kontrollgruppe mit einer GAL4-Treiberlinie zurückgekreuzt (**Abbildung 31**).



Insgesamt ist keine generelle Tendenz in den Daten der Tiere, die aus einer Kreuzung mit UAS-TNT hervorgehen, zu vermehrtem oder vermindertem Kletterverhalten zu erkennen (**Abbildung 31**). Einzig bei den Tieren der Kreuzung *mb247>TNT* liegen die Anzahl der gezeigten Kletterversuche hoch signifikant höher als Daten der wildtypischen Tiere und denen der anderen Kreuzungen. Dies wirkt sich aber nicht nachteilig auf die Interpretation

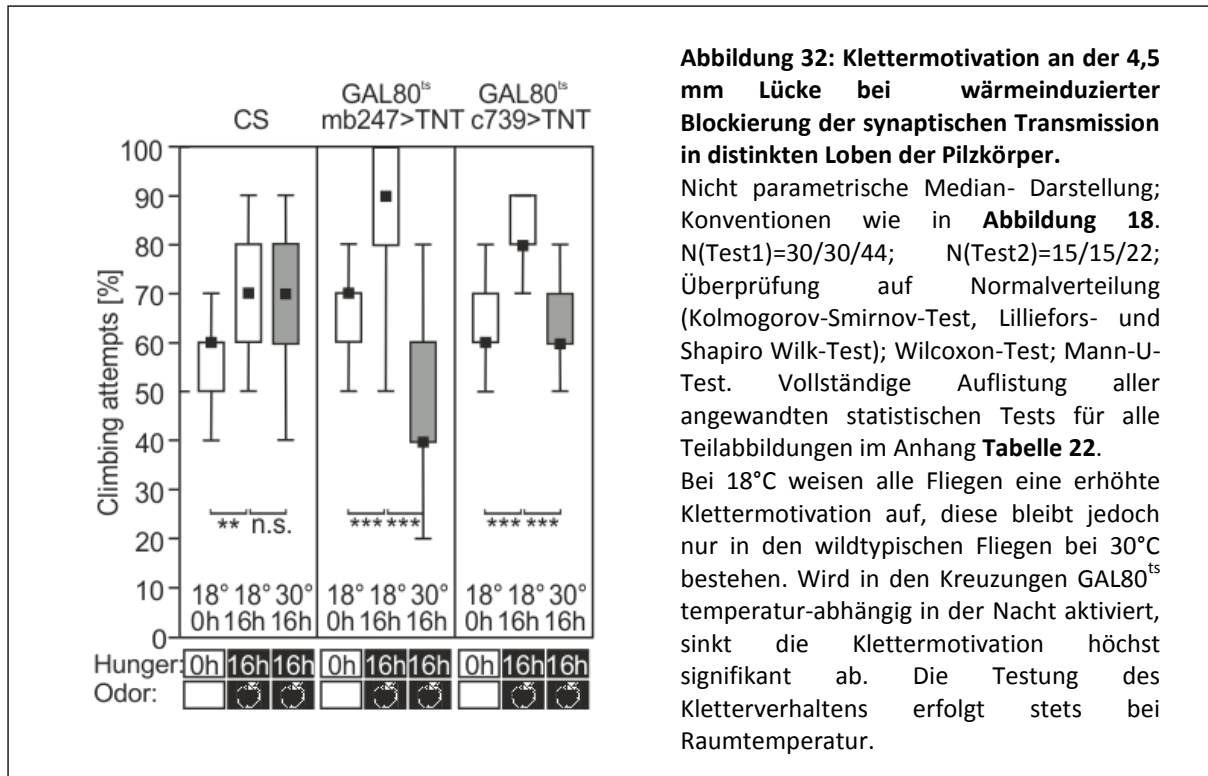
der vorherigen Versuche mit olfaktorischer oder visueller Stimulierung aus, da diese Tiere entgegen dieser Erhöhung ihres allgemeinen Kletterverhaltens, keine Steigerung ihrer Bemühungen bei Reizzugabe zeigen. Daher kann eine Verfälschung der Datensätze in den Versuchsreihen durch verstärkte Kletterbemühungen im Grundverhalten ausgeschlossen werden.

3.1.5.3 Konditionale Unterbrechung der der chemischen Ausgangssynapsen von Pilzkörperneuronen

In den bisherigen Versuchsreihen zur Beeinflussung des Kletterverhaltens durch externe Anreize kann gewebsspezifisch über das UAS/GAL4-System ein Einfluss der α -/ β -Loben der Pilzkörper beobachtet werden. In weiteren Versuchen soll nun die zeitliche Komponente der Genexpression betrachtet werden. Durch den Einbezug dieses Zeit-Parameters lässt sich analysieren, ob die Blockade der synaptischen Transmission dieser Pilzkörperloben entwicklungsbedingt zu einem veränderten Verhalten führt.

Mittels eines Temperaturschalters kann festgelegt werden, zu welchem Zeitpunkt durch eine Expression von TNT die synaptische Transmitterfreisetzung der adressierten Pilzkörperloben unterbrochen wird (McGUIRE S. et al., 2003). Die Hauptkomponente dieses Temperatur-schalters ist GAL80^{ts}, welche durch vorhergehende Kreuzungen mit TNT gekoppelt wurde. Das dabei entstandene Produkt kann demnach bei entsprechender Temperatur aktiv werden und exprimiert dann in den durch GAL4 festgelegten Neuronen der Pilzkörper.

Ab einer Temperaturschwelle bei 25°C wird TNT wie in den Kreuzungen der vorhergehenden Versuche exprimiert (**Abbildung 27** und **Abbildung 29**), nicht jedoch bei Temperaturen bis 18°C. Mithilfe dieses Mechanismus lässt sich überprüfen, ob die akute Blockade der synaptischen Weiterleitung im Pilzkörper die Klettermotivation unterbinden kann. Die Expression wird in der Nacht von Tag 3 auf Tag 4 des Adultstadiums (zwischen Test 1 und Tests 2 nach 24 h) bei 30°C induziert und die Versuche anschließend wieder bei Raumtemperatur durchgeführt.



Für die Daten in **Abbildung 32** wurde zunächst die Kletterinitiation aller Tiere satt, ohne Duftgabe und TNT-Induktion gemessen. Dann wurde in der Hälfte der Tiere jedes Genotyps über Nacht bei 30°C TNT induziert und 16 Stunden vorgehungert, wohingegen in der anderen Hälfte TNT nicht induziert, aber 16 Stunden vorgehungert wurde. Die statistische Testung erfolgt innerhalb eines Genotyps und zwar gepaart zwischen sattten Tieren ohne TNT-Induktion und gehungerten Fliegen ohne TNT-Induktion, sowie ungepaart zwischen vorgehungerten Fliegen mit und ohne TNT-Induktion.

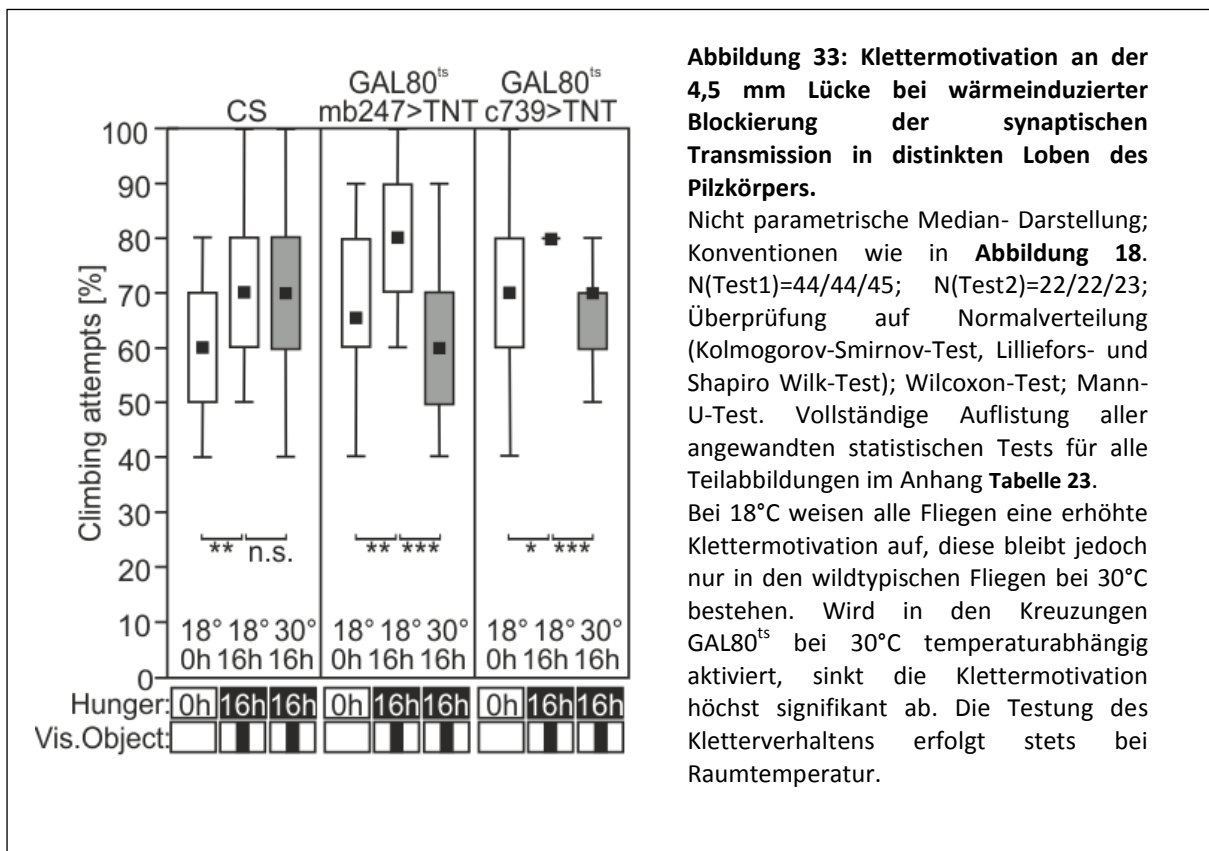
Die **Abbildung 32** zeigt deutlich, dass bei den Tieren das Ausbleiben der motivationsinduzierten Anstrengung nicht entwicklungsbedingt, sondern durch den akuten Ausfall der Kenyonzellausgänge der α -/ β -Loben bedingt ist. Liegt die Temperatur bei Einstrom des Duftes unter dem Schwellenwert (<18°C), ab dem GAL80^{ts} aktiviert wird, weisen alle Fliegen einen wildtypischen Phänotyp auf. Die Daten der Tieren des Genotyps *mb247> GAL80^{ts} TNT* als auch *c739> GAL80^{ts} TNT* entsprechen den Daten der wildtypischen Fliegen. Während der Experimente werden die Tiere aller Gruppen durchmischt getestet, um auszuschließen zu können, dass die Temperaturerhöhung alleine ausreicht, eine Verhaltensänderung in den Tieren hervorzurufen. Die Daten der wildtypischen Fliegen beweisen, dass eine Temperaturveränderung über Nacht alleine keinen Effekt auf das Kletterverhalten hat, denn es gibt bei ihnen keinen temperaturabhängigen Unterschied im Kletterverhalten bei Duftzufuhr.

Im Gegensatz dazu sind ausgeprägte Unterschiede in den Daten der Tiere zu erkennen, bei denen es durch die Inkubation über Nacht bei 30°C zu einer Aktivierung von GAL80^{ts} in den Neuronen der α -/ β -Loben kommt. Nach einer temperaturinduzierten Blockade der chemischen synaptischen Transmission durch TNT zeigen die Tiere dieser

Kreuzungen (*c739*> GAL80^{ts} TNT und *mb247*> GAL80^{ts}TNT) keine verstärkten Kletterversuche trotz appetitiven Futterdufts.

So lässt sich konkret zeigen, dass die akute, nicht die entwicklungsbedingte Inhibition der synaptischen Transmission in den α -/ β -Loben der Pilzkörper eine motivationsbedingte Verhaltenssteigerung bei Futterduft auslöscht.

Darüber hinaus ist es natürlich interessant zu betrachten, ob sich die Ergebnisse mit dem visuellen Motivationsreiz Landmarke in identischer Manier wiederholen lassen. Die Grundvoraussetzungen des Versuchs sind dementsprechend die gleichen, nur werden den Fliegen am Folgetag nach Inkubation bei unterschiedlichen Temperaturen statt Futterduft die Landmarken präsentiert.

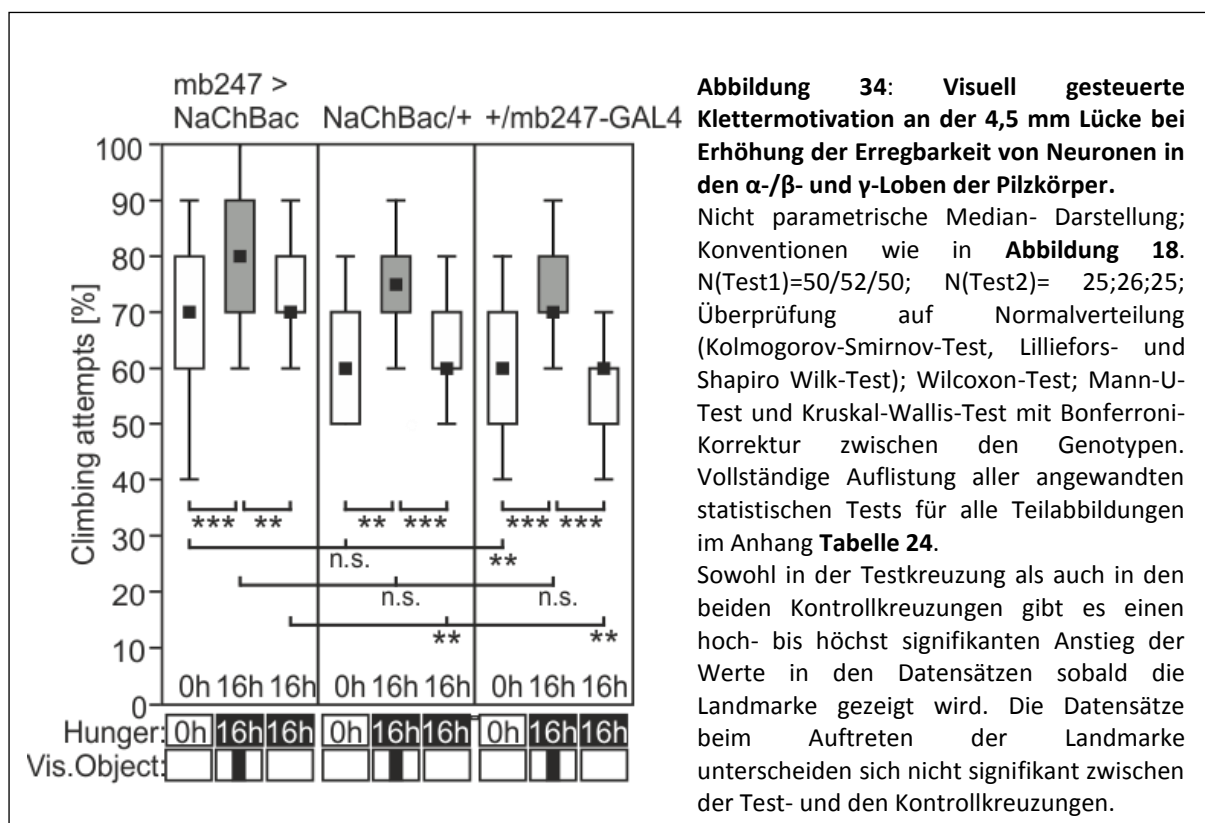


Die Ergebnisse bleiben bei Austausch des anziehenden Reizes zu der vorhergehenden Versuchsreihe in **Abbildung 32** beständig. In den wildtypischen Daten lässt sich der gleiche visuell bedingte Anstieg in der Klettermotivation erkennen, wie er auch duftinduziert auftritt (**Abbildung 33**). Ebenfalls ist in den wildtypischen Daten die Zunahme an Kletterversuchen gänzlich unabhängig von der Induktionstemperatur von 30°C für die Hälfte der Fliegen über Nacht. Bei 18°C ist dieser Motivationsanstieg in allen Genotypen zu beobachten, aber infolge einer temperaturbedingten Expression von TNT sinken die Kletterversuche in den beiden Kreuzungsgruppen (*mb247*>GAL80^{ts}TNT und *c739*>GAL80^{ts}TNT) auch bei den visuellen Anreizen höchst signifikant ab. Sobald die synaptische Transmission in den α -/ β -Loben der Pilzkörper unterbrochen wird, zeigen die Tiere kein gesteigertes Kletterverhalten mehr bei einem visuellen Zielreiz.

Die Verhaltensänderungen, die durch die beiden alternativen, extern-zugeführten, anziehenden Reize ausgelöst werden, werden demnach entwicklungsunabhängig von derselben Neuronengruppe gesteuert.

3.1.5.4 Aktivierung von Pilzkörperneuronen

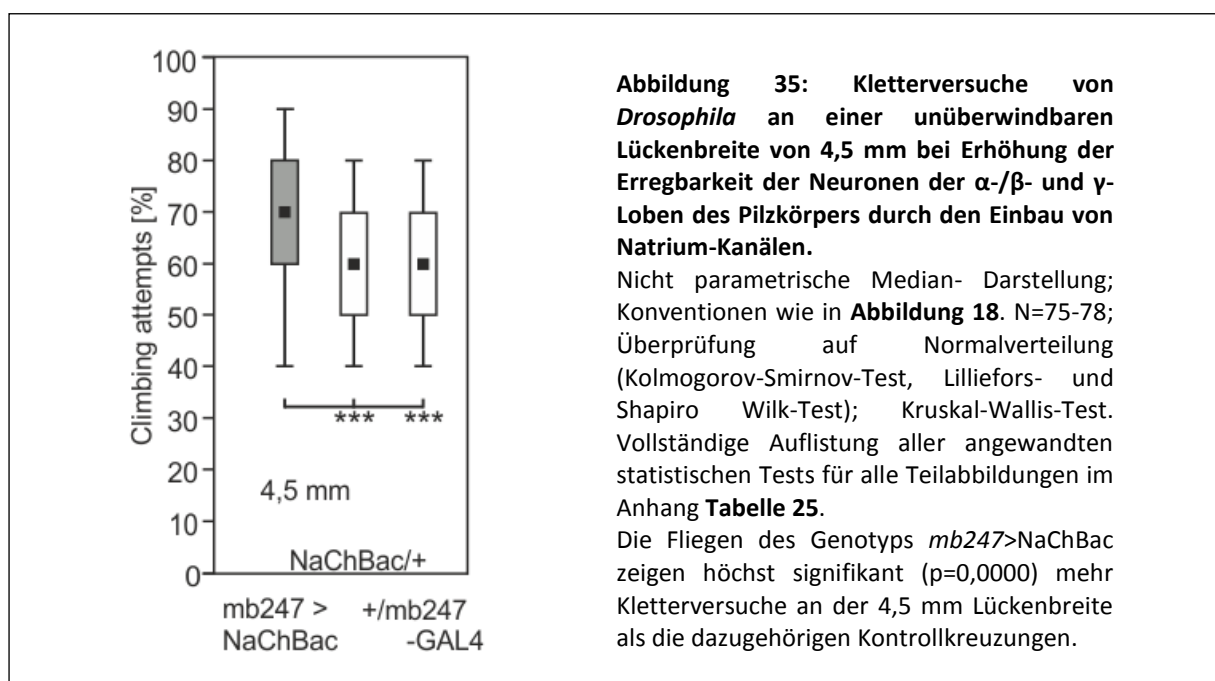
Weiterführend stellt sich die Frage, wie sich – anstatt der bisherigen Blockade der chemischen Transmission – eine künstliche Aktivierung der Neurone in den betrachteten Pilzkörperloben auf die Klettermotivation auswirken könnte. Eingesetzt wird ein bakterieller Natrium-Kanal (NaChBac), der bei künstlichen Einbau in Neurone von *Drosophila* zu Hyper-Exzitation führt (HODGE J., 2009). Kommt es zu einer künstlich herbeigeführten Expression dieses Natrium-Kanals in *Drosophila*, senkt er in den betroffenen Neuronen die Erregbarkeitsschwelle der Zellmembranen. Selbst bei einer schwachen Depolarisation der Membran öffnen die Natrium-Kanäle, erlauben somit einen zusätzlichen Einstrom von Natrium-Ionen und lösen so eine niedrigschwellige Rückkopplungsschleife aus (NITABACH M. et al., 2006). Dies bedingt die verstärkte Aktivierung der Neurone bei schwachen Reizen. Es wird – wie bereits in vorhergehenden Versuchen – die GAL4-Linie *mb247-GAL4* verwendet, um das Neuronenmuster der α -, β -, γ -Loben in den Pilzkörpern zu adressieren.



Bei Betrachtung der Ergebnisse des Genotyps *mb247*>NaChBac im Vergleich zu den beiden Kontrollkreuzungen an der 4,5 mm Lücke gibt es auf den ersten Blick keine markanten Unterschiede (**Abbildung 34**). Die Tests erfolgen wie in den vorherigen Versuchen; Aufteilung der Tiere in zwei Gruppen pro Genotyp für den zweiten Test im vorgehungerten

Zustand nach dem ersten Test im sattten Zustand. In allen drei Gruppen steigen die Werte der Kletterversuche bei Auftauchen der Landmarke in die Arena hoch bis höchst signifikant an. Ebenso kommt es ohne visuellen Landmarken-Reiz nicht zu solch einem Anstieg in den Kletterbemühungen. Außerdem liegen die Werte der Kletteranstrengungen der Fliegen bei Erscheinen der Landmarken unabhängig von ihrem Genotyp auf einem vergleichbaren Niveau; sie liegen zwischen 70% und 80%. Im Detail lassen sich aber kleine Unterschiede zwischen den Datensätzen finden. Die Fliegen der Testkreuzung, in denen die Neuronen der α - β - und γ -Loben des Pilzkörpers durch den gezielten Einbau von Natriumkanälen in ihren Membranen leichter erregbar sind, zeigen grundsätzlich ein verstärktes Kletterverhalten. Der Ausgangswert ihrer Kletterversuche liegt zu dem Wert der Kontrollkreuzung NaChBac/+ zum ersten Testzeitpunkt nur tendenziell erhöht, er ist aber deutlich höher als die analogen Kletterwerte der Kontrollgruppe $+/mb247-GAL4$ ($p=0,0057$). Der größte Unterschied im Kletterverhalten findet sich in den Werten der Kletterversuche nach 24 Stunden ohne visuellen Anreiz. Die Fliegen des Genotyps $mb247>NaChBac$ demonstrieren ohne visuellen Ansporn deutlich mehr Kletterversuche als die Tiere der Kontrollgruppen, die Werte ihrer Kletteranstrengungen sind im direkten Vergleich hoch signifikant erhöht. Die Tiere, in denen die Aktivität der Neurone der α - β - und γ -Loben artifiziell erhöht wird, lassen demnach eine leichte Verstärkung ihrer Grundaktivität im Klettern erkennen.

Um diese Details statistisch bewerten zu können, werden alle Kletterdaten der jeweiligen Genotypen gepoolt, in denen für die Fliegen, sowohl zum Zeitpunkt null als auch nach 16 Stunden, kein visueller Anreiz zu erkennen war (**Abbildung 35**). Dies ist möglich, da die Versuchsbedingungen an beiden Tagen identisch sind.



Im direkten Vergleich aller Kletterversuche an der 4,5 mm Lücke ohne jegliche Reizung (**Abbildung 35**) liegen die Werte der Kletterbemühungen der Tiere deutlich höher, in denen es über die Natrium-Kanäle zu einer verstärkten Aktivierung der α - β - und γ -Loben ($mb247-GAL4$) des Pilzkörpers kommt, im Vergleich zu den Daten der dazu gehörigen

Kontrollgruppen. Die Fliegen, in denen diese Loben der Pilzkörper aktiviert werden, zeigen demzufolge eine verstärkte Kletteraktivität, ohne dass eine externe Reizung erfolgt. Wird zusätzlich ein externer Reiz hinzugegeben, steigt ihre Kletterintention allerdings nicht stärker an, als in wildtypischen Tieren.

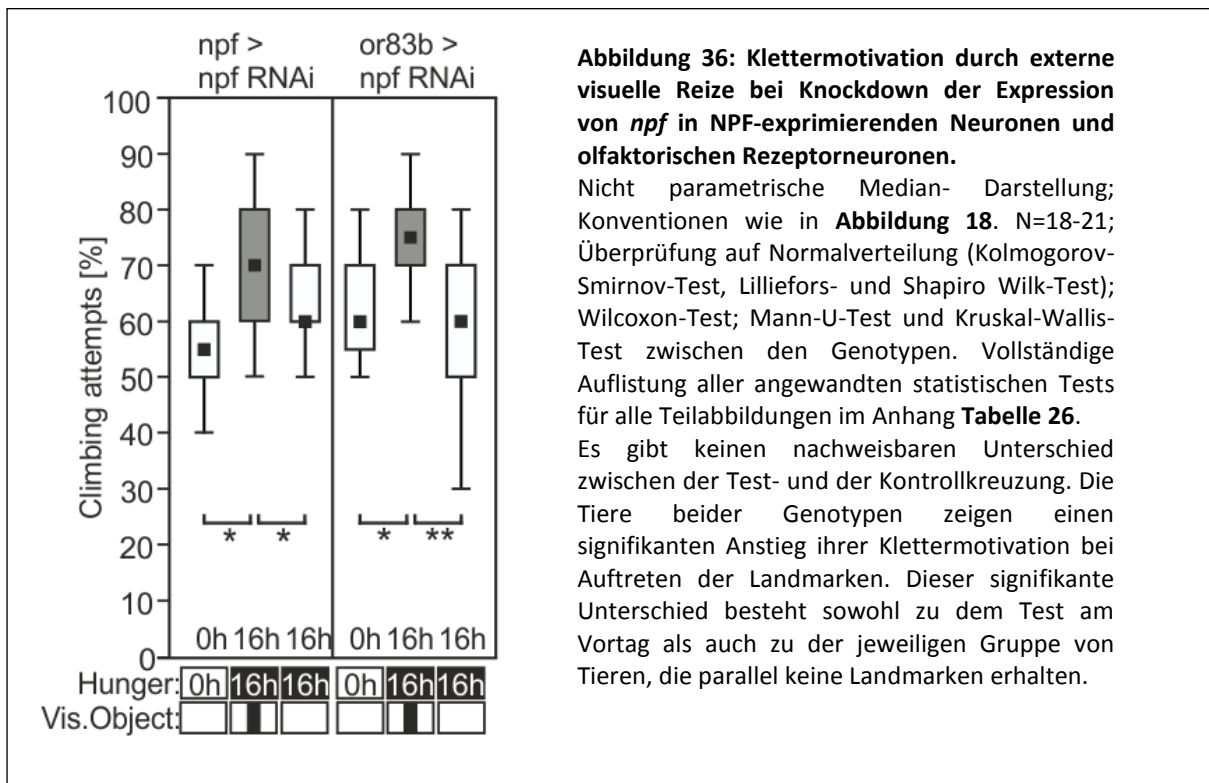
Zur Komplettierung dieser Analyse sollten Tiere des Genotyps *c739>NaChBac-GAL4* getestet werden, um die Expression der Natrium-Kanäle auf einzig die α -/ β -Loben der Pilzkörper einzugrenzen. Dies ist jedoch nicht gelungen, da die F1-Tiere kein gerichtetes Laufverhalten auf dem Kletterblock zeigen und desorientiert laufen.

3.1.6 Kletterverhalten mit motivierenden Landmarken und gleichzeitiger Überexpression des Neuromodulators Neuropeptid F (NPF)

Die Literatur zeigt, dass der Neurotransmodulator Neuropeptid Y (NPY) ein möglicher Kandidat in der Vermittlung der Motivation beim Kletterverhalten wäre. Der orthologe Neuromodulator Neuropeptid Y in Vertebraten wird einerseits mit Emotionen (BEVILACQUA L. UND GOLDMAN D., 2011) und auch mit einer Regulierung des Fressverhaltens in Verbindung gebracht (KOHNO D. UND YADA T., 2012). In *Drosophila* wird Neuropeptid F (NPF) im Gehirn der Tiere exprimiert. Insgesamt findet man 13 beschriebene NPF-Neurone pro Hirnhemisphäre in männlichen Fliegen, wobei zwei Neurone im Protocerebrum besonders markant durch ihre weiten Projektionen im dorsalen Hirnbereich hervortreten (KIM W. et al., 2013). Aus vorhergehenden Studien in *Drosophila* ist bekannt, dass NPF eine verstärkende Rolle im Futtersuch- und Fressverhalten in der Taufliede spielt, sowohl in Larven als auch in den adulten Tieren (WU Q. et al., 2005). Wird die NPF-Signalübertragung verstärkt, fressen Larven zunehmend hartes, schädliches Futter oder die Futteraufnahme erfolgt in unangenehmen Temperaturbereichen. Dieses Verhalten wird sonst nur in einem starken Hungerzustand ausgelöst. Es wird vermutet, dass diese veränderte Bewertung des Futterangebots über eine Interaktion von NPF und *Drosophila* Insulin-like Peptiden (DILP) durch eine Modifikation des Belohnungs-Kreislaufs entsteht (WU Q. et al., 2005). Zudem ist bekannt, dass NPF in den Fliegen die Alkoholsensitivität reguliert (WEN T. et al., 2005) und das Fliegen nach Frustrationsreizen Alkohol als Belohnung konsumieren. Diese Belohnungsreaktion lässt sich durch künstliche Stimulation des NPF/NPFR-Systems ebenfalls erreichen (SHOHAT-OPIR G. et al., 2012) Diese Verbindung von NPF zu dem Belohnungssystem in *Drosophila* ist bei Betrachtung der bisherigen Versuchsreihen interessant, da Motivation und Belohnung in enger Verbindung stehen.

Daher wird in einer Versuchsreihe eine potentielle Beeinflussung des positiv motivierten Kletterverhaltens in *Drosophila* durch NPF untersucht, dabei wird durch RNA-Interferenz (RNAi) ein Knockdown des Gens *npf* in allen NPF-exprimierenden Neuronen bewirkt. In einer Kontrollkreuzung wird *npf* mithilfe des GAL4-Treibers *Or83b-GAL4* (NG M. et al., 2002) exprimiert. Er treibt in Antennalloben und Rezeptorneuronen; durch die Stilllegung von *npf* in diesen Neuronen sollte keine Verhaltensveränderung auftreten.

Wenn der Neurotransmitter NPF sich positiv modulierend auf das durch externe Reize motivierte Kletterverhalten der Fliegen auswirkt, sollte ein Knockdown von *npf* eine Erhöhung der Klettermotivation dementsprechend auslösen.



Die statistische Testung erfolgt wie bei vorherigen Experimenten innerhalb eines Genotyps gepaart zwischen satten und gehungerten Fliegen mit Landmarke, sowie ungepaart zwischen vorgehungerten Fliegen mit und ohne Landmarke. Zwischen der Testkreuzung *npf > npf RNAi* und der Kontrolllinie *or83b > npf RNAi* ist im Verhalten kein signifikanter Unterschied zu erkennen (**Abbildung 36**). In beiden Fällen steigt die Anzahl der Kletterversuche signifikant, sobald von den Tieren eine Landmarke perzipiert wird. Als einzige Ungleichheit zwischen Test- und Kontrollkreuzung lässt sich erkennen, dass die Klettermotivation des Genotyps *npf > npf RNAi* zwischen den beiden Läufen nach 24 Stunden (Landmarke- versus Kontrollgruppe ohne Reiz) nicht so stark divergiert ($p=0,3726$) wie in der Kontrollkreuzung ($p=0,0063$).

Eine Manipulation des NPF-Systems im Gehirn von *Drosophila* führt nicht zu einer merklichen Veränderung ihres Verhaltens in Bezug auf visuelle, motivierende Reize, denn ein Knockdown von *npf* kann die durch Landmarken ausgelöste Verstärkung im Kletterverhalten nicht auslösen.

3.2 Erzeugung eines depressionsähnlichen Zustands in *Drosophila melanogaster*

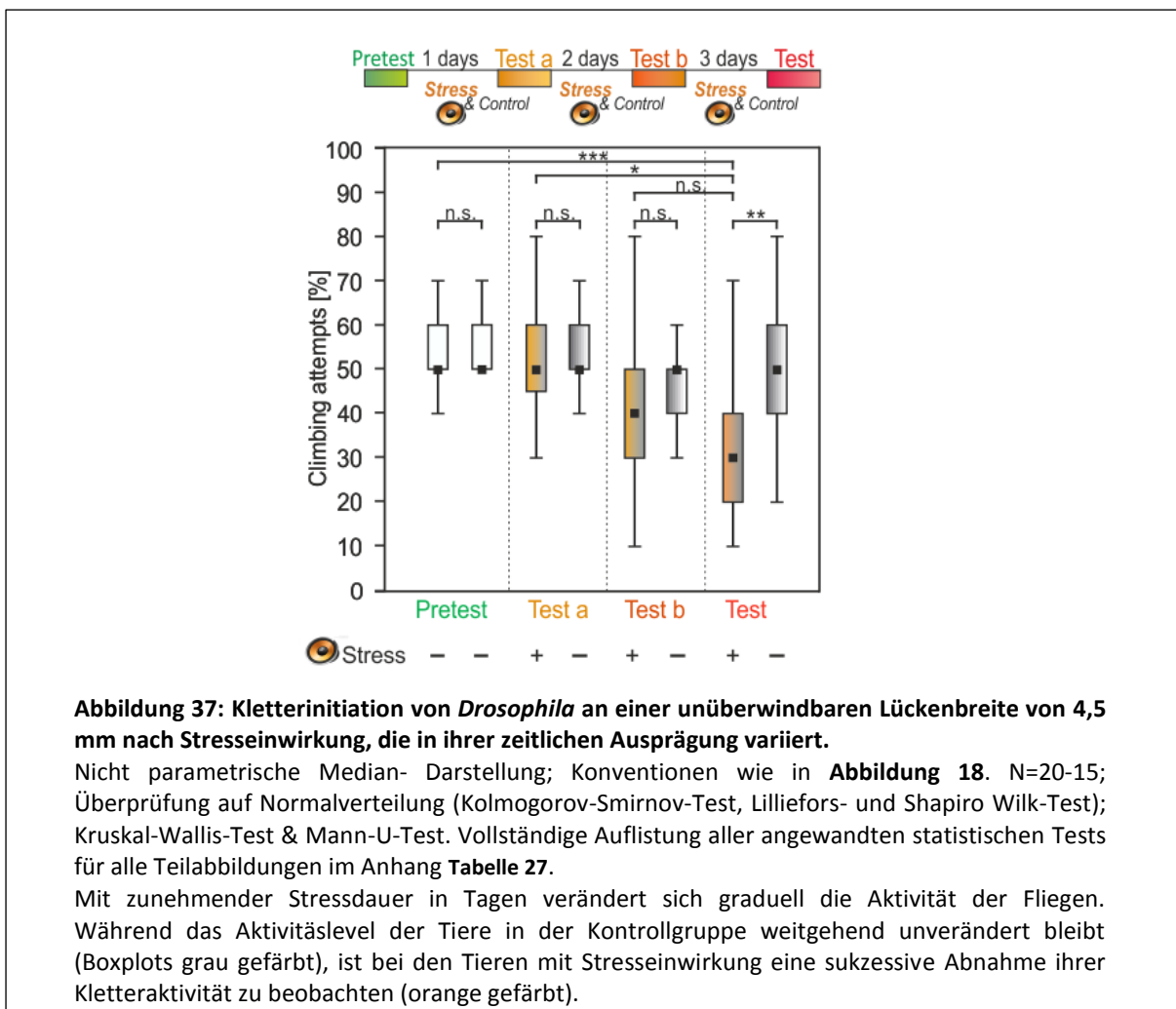
Ein weiteres großes Themengebiet dieser Arbeit ist es, in *Drosophila melanogaster* die Auswirkungen eines depressionsähnlichen Zustandes auf die Verhaltensaktivität zu studieren, der durch die Einwirkung wiederkehrender Stressreize ausgelöst wird. Die kontinuierlichen Stresssignale werden in einem neu eingeführten Paradigma als repetitive Vibrationen über mehrere Tage in einer für die Tiere unangenehmen Frequenz erzeugt. Die dadurch ausgelöste Verhaltensreaktion wird in unterschiedlichen Verhaltensanalysen überprüft, um eine Analogie zu dem humanen Depressionsverhalten herzustellen zu können. Auf dieser Basis kann anschließend eine profunde Betrachtung der biochemischen Grundlagen des depressionsähnlichen Verhaltens durchgeführt werden, bei der sich sowohl beteiligte Neurotransmitter als auch modulierende Gehirnstrukturen identifizieren lassen.

3.2.1 Charakterisierung eines depressionsähnlichen Verhaltens von *Drosophila* als Antwort auf wiederkehrende Stressreizung

Die Stresswirkung wird, wie in Material und Methode beschrieben (s.2.2.6, S.40), über mehrere Tage durch kontinuierliche Einwirkung von Vibrationen, in der für die Fliegen unangenehmen Frequenz von 300 Hz erzeugt. Im Anschluss soll das Ausmaß der daraus resultierenden Verhaltensänderung in unterschiedlichen Verhaltensparadigmen überprüft werden. Das Augenmerk liegt hierbei in der Aktivität der Tiere. Eine verminderte Aktivität in unterschiedlichen Verhaltensmustern kann als Analogie zum humanen Depressionsverhalten, mit den typischen Kennzeichen wie beispielsweise Antriebslosigkeit, Müdigkeit und Lustlosigkeit gewertet werden (WITTCHEN H. et al., 2010).

Die Aktivität der Fliegen wird hauptsächlich im Kletterparadigma überprüft, da dieses bereits bei den Überprüfungen des motivationsmodulierten Verhaltens verwendet wurde.

Zuerst stellt sich hierbei die Frage, in welchem Ausmaß die Tiere Stress erfahren müssen, um in einen depressionsartigen Zustand verminderter Aktivität versetzt zu werden. Zu diesem Zweck wird die Länge der Stressreizungen in Tagesabschnitten untersucht und beobachtet, ab welchem Zeitraum sich die Aktivität der Tiere verändert. Bei dieser Festlegung der Stressbedingungen ist es zusätzlich interessant, nachzuverfolgen, ob ein bestimmter Schwellenwert im Stresslevel erreicht werden muss, um den Verhaltensumschlag der Tiere in einen depressionsartigen Zustand zu erhalten. Hierbei stellt sich die Frage, ob die Aktivität der Tiere sich dabei ab einem bestimmten Zeitpunkt schlagartig verändert, oder ob es sich um einen sukzessiven Prozess handelt. Aufgrund dieser Fragestellungen werden die Fliegen in der folgenden Versuchsreihe den unkontrollierbaren Stressreizen in unterschiedlichem Ausmaß ausgesetzt; es variiert die Länge der Zeitabschnitte in Tagen, in denen sie die Stressbelastung erfahren.

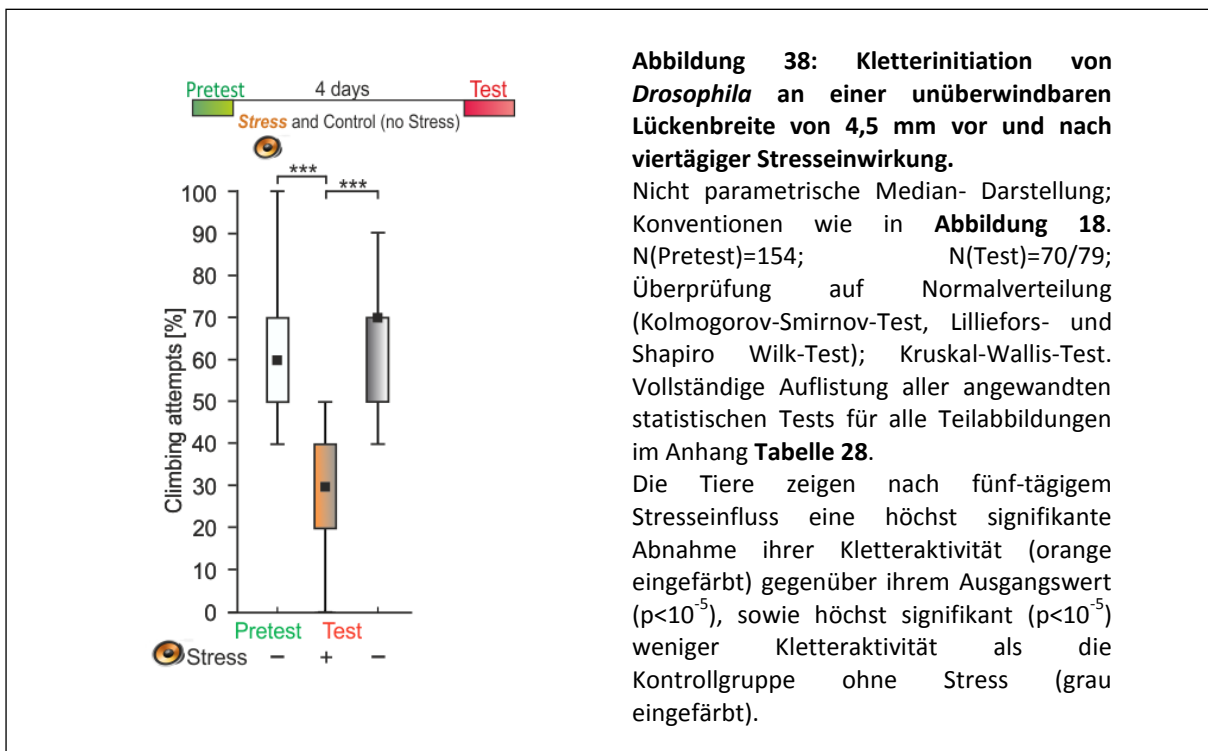


Eine Steigerung der Stressintensität durch eine Verlängerung der Stresseinwirkung, führt zu einer graduellen Abnahme der Kletteraktivität in *Drosophila* (**Abbildung 37**). Es lässt sich erkennen, dass es über den gesamten Zeitraum zu keiner Veränderung im Verhalten der Fliegen der Kontrollgruppen kommt, ihr Aktivitätslevel schwankt nur sehr gering (**Abbildung 37** grau gefärbt). Dagegen lässt sich beobachten, dass das Aktivitätslevel der Fliegen unter Stressbelastung immer stärker abnimmt, je mehr Tage sie dem unkontrollierbaren Stress ausgesetzt sind. Nach einem Tag Stresseinwirkung unterscheiden sich die Stress- und Kontrollgruppe in ihrer Kletteraktivität noch nicht voneinander ($p = 0,5343$), nach einer Stressdauer von drei Tagen liegt ihre Aktivität jedoch hoch signifikant auseinander ($p = 0,0012$) (**Abbildung 37** orange gefärbt). Erst nach einem dreitägigen Stressintervall sinkt die Aktivität der Tiere so stark ab, dass sich ein höchst signifikanter Unterschied zu ihrem Ausgangsverhalten ($p < 10^{-5}$) und eine hoch signifikante Abstufung zu ihrer Aktivität nach eintägigem Stresseinfluss ($p = 0,0039$) ergibt. Es zeigt sich hierbei, dass sich die Datensätze nach dreitägigen und zweitägigen Stressintervalls nicht signifikant unterscheiden ($p = 0,6451$). Eine zweitägige Stressbelastung führt folglich zu einem intermediären Aktivitätszustand zwischen normalem und depressionsartigem Verhalten in den Tieren. Dies

demonstriert die graduelle Abnahme, die die Tiere in ihrem Verhalten erkennen lassen, es kommt nicht zu einem überraschenden Einschnitt in ihrem Verhalten.

Nachdem sich die Zeit festlegen lässt, in dem die Tiere für eine signifikante Abnahme der Aktivität den Stressreizen ausgesetzt werden müssen, kann nun eine Charakterisierung des Verhaltens erfolgen. Dabei werden in allen anschließenden Testreihen mindestens drei Tage die unangenehmen Vibrationsreizen eingesetzt, um einen signifikanten Effekt in den Fliegen zu erzielen.

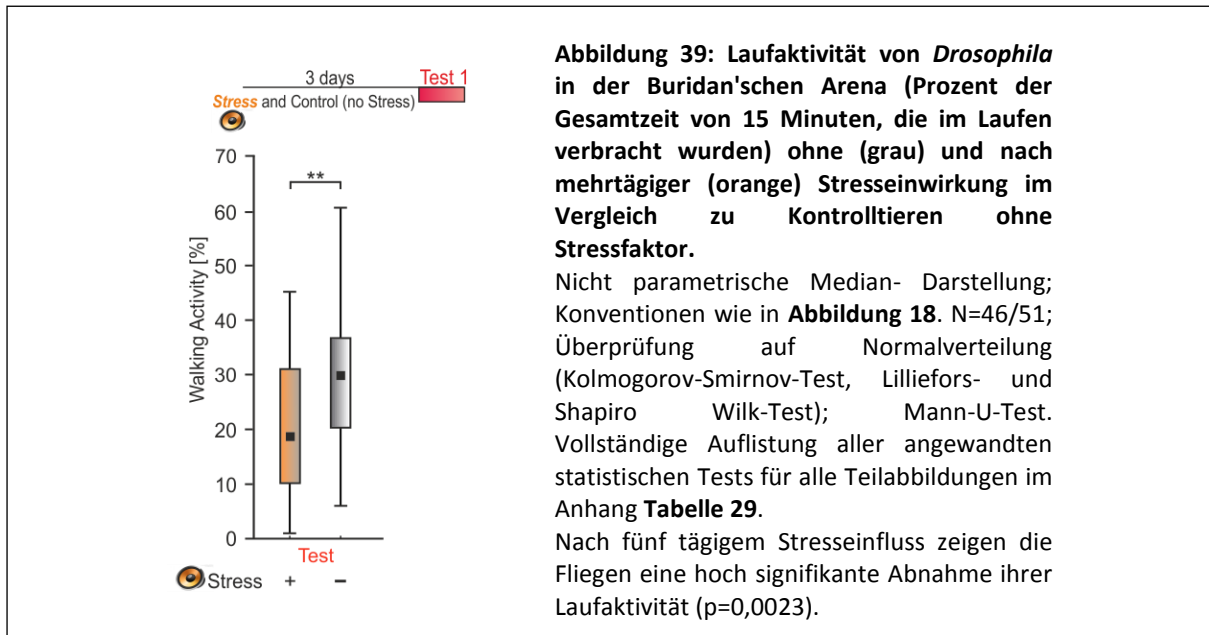
Als erstes wird der Depressionsphänotyp im Kletterverhalten zusammenfassend beschrieben, anschließend erfolgt eine Beobachtung des Verhaltens in weiteren Paradigmen, in denen sich Einblicke in Auswirkungen der unkontrollierbaren Stressreize auf die Aktivität der Tiere in unterschiedlichen Lebensbereichen gewinnen lassen, beispielsweise im Balzparadigma (SIEGEL R. UND HALL J., 1979), im Buridan'sche Paradigma (GÖTZ K., 1980) und in der schnellen Phototaxis (BENZER S., 1967). Eine Zeitleiste über jeder Abbildung zeigt hierbei das Vorgehen in den jeweiligen Stressphasen an, insbesondere die Anzahl der Tage mit Stresseinwirkung.



Für die Daten wurde zunächst die Kletterinitiation aller Tiere im Grundzustand ohne äußere Einflüsse gemessen. Dann wurde in der Hälfte der Tiere über vier Tagen Stress ausgesetzt, wohingegen die andere Hälfte keinen Stress erfährt. Es ist ein höchst signifikanter Unterschied zwischen der Kletteraktivität der Tiere vor und nach den unkontrollierbaren Stressreizen zu erkennen. Nachdem sie dem Vibrationsstress über vier Tage ausgesetzt werden, sinkt ihre Klettermotivation sehr stark ab; sie zeigen 30% weniger Kletterversuche (**Abbildung 38**, orange eingefärbt; $p < 10^{-5}$). Die Gruppe von Fliegen, die sich über vier Tage in einer baugleichen Aufenthaltskammer ohne stressauslösende Vibrationen befindet,

verändert ihr Kletterverhalten nicht; sie zeigen eine unvermindert hohe Rate an Kletterversuchen (**Abbildung 38**, grau eingefärbt; $p < 10^{-5}$).

Um eine detaillierte Definition des Depressions-ähnlichen Phänotyps zu erhalten, erfolgt eine Beobachtung des Verhaltens in weiteren Paradigmen. Hierbei wird zuerst die Auswirkung von mehrtägigen, unkontrollierbaren Stresseinflüssen auf die spontane Laufaktivität untersucht. Dies erfolgt im Buridan'schen Paradigma (GÖTZ K., 1980).

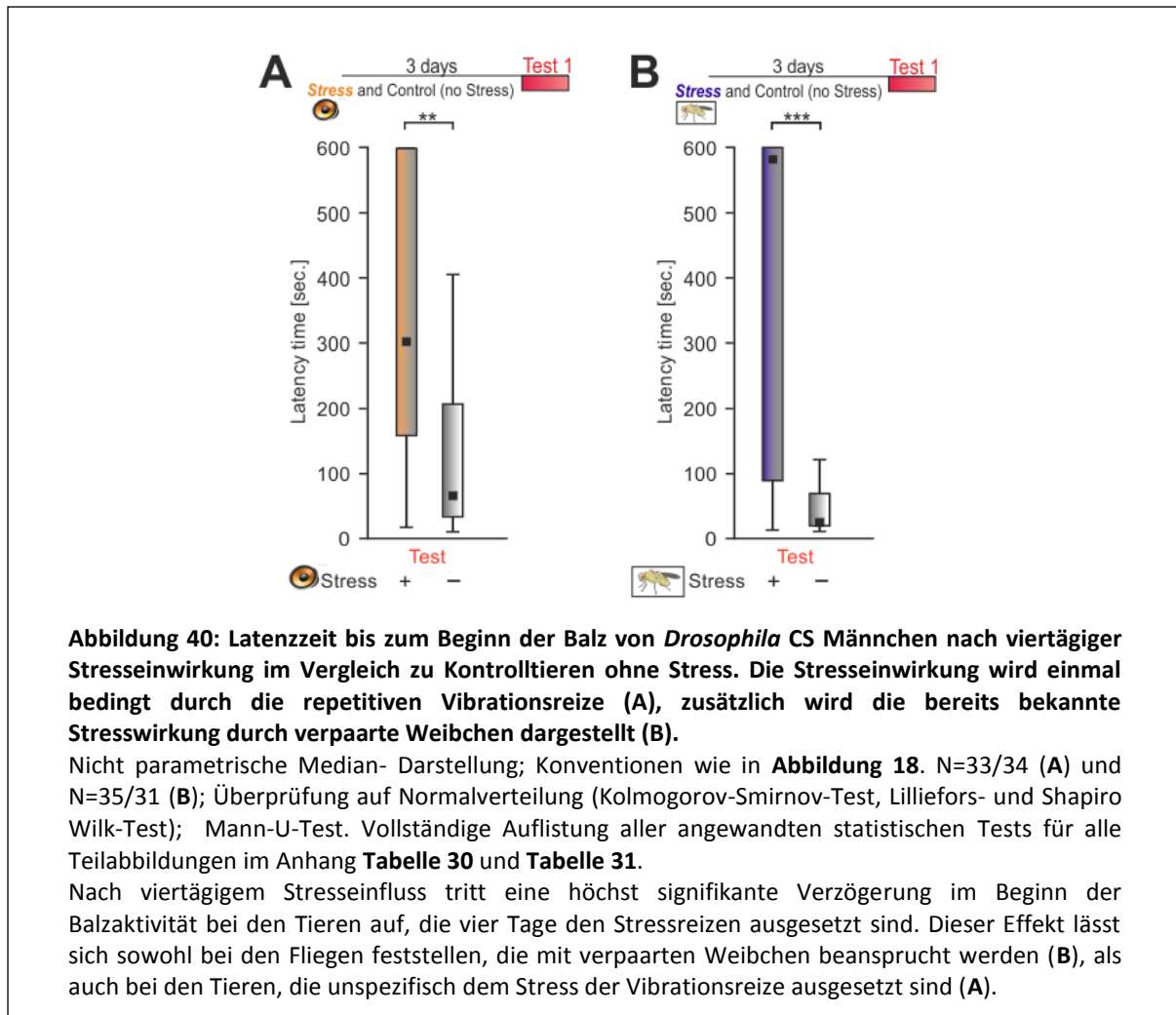


Im Buridan'schen Paradigma lässt sich das spontane Laufverhalten von *Drosophila* untersuchen, da die Tiere aus eigenem Antrieb zwischen den beiden unerreichbaren Landmarken hin und her laufen (STRAUSS R. et al, 1992). Das gezeigte Verhalten der Tiere kann in Bezug auf mehrere Parameter ausgewertet werden, beispielsweise Laufgeschwindigkeit und Anlaufwinkel auf die Landmarken. Das Hauptinteresse zur Charakterisierung des Depressions-ähnlichen Phänotyps in der Fliege liegt auf der spontanen Laufaktivität (Anteil der Messzeit von 15 Minuten, die mit Laufen verbracht wird in Prozent), da sie Aufschluss über die allgemeine Aktivität der Tiere in diesem Umfeld gibt. Die Auswertung der Laufaktivität zeigt, dass die Tiere nach der Periode anhaltender Stressreize weniger aktiv sind (orange) als die Tiere, die über denselben Zeitraum ohne Vibrationsreize gehalten werden (grau; **Abbildung 39**). Damit lässt sich – analog zu der Kletteraktivität – eine hoch signifikante Aktivitätsminderung in der Laufaktivität der Tiere als Reaktion auf den unkontrollierbaren Stress erkennen.

Es werden ebenfalls die Parameter der zurückgelegten Distanz und der Laufgeschwindigkeit ausgewertet (**Abbildung 78**); die Fliegen nach Stresseinwirkung legen hoch signifikant weniger Strecke zurück als die dazugehörigen Kontrolltiere. In der Laufgeschwindigkeit unterscheiden sich die Tiere nur tendenziell, die Tiere nach Stress laufen leicht langsamer als die Kontrolltiere, dieser Unterschied ist allerdings nicht signifikant (**Abbildung 78**).

Um eine weitere Charakterisierung des Depressions-ähnlichen Phänotyps zu erreichen, werden CS Tiere nach viertägiger Stresseinwirkung in einem weiteren Paradigma beobachtet, um die Auswirkungen des Stresses auf unterschiedliche Handlungsabläufe der Tiere zu untersuchen. Im Balzparadigma (SIEGEL R. UND HALL J., 1979) wird die Auswirkung von Stresseinflüssen auf die spontane Balzaktivität untersucht.

Um die spontane Balzaktivität der Fliegen nach Stresseinfluss besser klassifizieren zu können, wird ihr Balzbeginn mit dem Einsetzen der Balz bei Tieren nach konditionierter Balzfrustration verglichen (KAMYSHEV N. et al., 1999; s. 2.2.7.3 Mat. und Methode, S.47)



Die Stresseinwirkung zeigt in der Balzausprägung von männlichen *Drosophila* eine deutliche Wirkung; bei den Männchen lässt sich eine starke Verzögerung ihres Balzbeginns erkennen. In der Testreihe aus **Abbildung 40** wird ein direkter Vergleich zwischen den Tieren, die über Vibrationsreize Stress erfahren und Fliegen, die Stress durch mehrmalige Balzabwehr von weiblichen verpaarten Tieren ausgesetzt sind, angestellt. Aus der Literatur ist bekannt, dass eine erfolglose Balz mit aktiver Abwehr durch das Weibchen zu einer frustrationsartigen Inaktivität der männlichen Tiere in späteren Balzexperimenten führt (SIEGEL R. UND HALL J., 1967). Damit der Balzabwehrstress in seiner Dosierung vergleichbar mit dem Vibrationsstress gesehen werden kann, werden die Männchen der erfolglosen Balzsituation nicht nur einmalig, sondern zweimal täglich über vier Tage ausgesetzt (S.47). Dadurch

können die beiden Ergebnisse nebeneinander gestellt werden, um sie auf Ähnlichkeiten untersuchen zu können. Es fällt auf, dass der über Vibrationen ausgelöste, unspezifische Stress einen ähnlichen Effekt bedingt, wie der von weiblichen Abwehrreaktionen ausgelöste, spezifische Stress. Werden die Fliegen über mehrere Tage mehrfach täglich zu verpaarten Weibchen gesetzt, ist das Einsetzen ihres Balzverhaltens im Test höchst signifikant verzögert gegenüber den Tieren aus der Kontrollgruppe (**Abbildung 40B**). Eine vergleichbare Beobachtung macht man, wenn die Fliegen über vier Tage den stresserzeugenden Vibrationen ausgesetzt sind; der Beginn ihrer Balzversuche ist ebenfalls hoch signifikant verzögert im Vergleich zu den Tieren aus der zugehörigen Kontrollgruppe (**Abbildung 40A**). Bei einer genauen Betrachtung der Daten fällt allerdings auf, dass der Unterschied zwischen Fliegen mit Stresseinwirkung durch Vibrationen und ihrer Kontrollgruppe ein wenig geringer ist, im Vergleich zu den Werten der Tiere mit verpaarten Weibchen. Bedingt wird diese leichte Unterscheidung durch eine Differenz im Verhalten der beiden CS Kontrollgruppen. Die Kontrollgruppe der Fliegen mit Vibrationen zeigt tendenziell einen leicht verzögerten Balzbeginn auf, verglichen zu der Kontrollgruppe der Tiere, die mit verpaarten Weibchen konfrontiert werden.

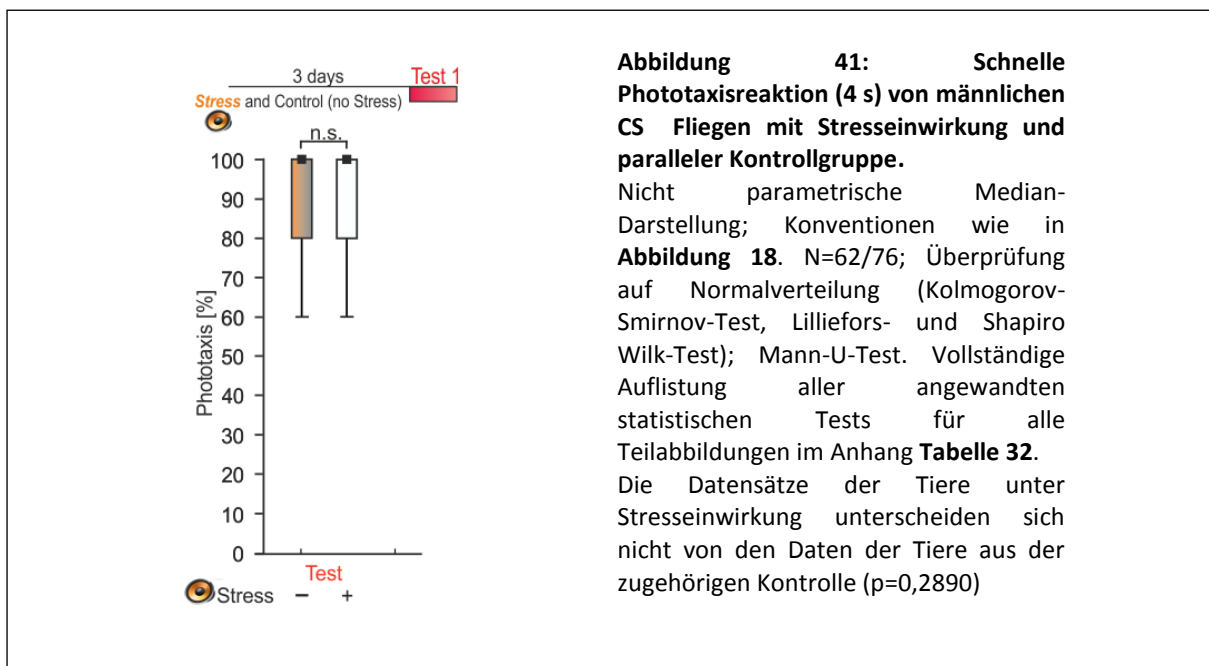
Die statistischen Tests des Balzbeginns beider Versuchsgruppen untereinander sind zur besseren Übersicht in einer Tabelle (**Tabelle 9**) zusammengefasst, zur statistischen Auswertung wurde hierbei der Kruskal-Wallis-Test angewandt.

Tabelle 9: p-Werte des statistischen Tests (Kruskal-Wallis-Test) zu der Abbildung 40

K-Wallis-Test: $H(3, N=133)=36,7533$ $p < 10^{-5}$		
	Stress durch verpaarte Weibchen N= 35 R: 87,66	Kontrollgruppe zu verpaarten Weibchen N= 31 R: 38,00
Stress durch Vibrationen N=33 R: 83,23	1,0000	$<10^{-5}$
Kontrollgruppe zu Vibrationen N=34 R: 56,43	0,0046	0,3251

Aus der **Tabelle 9** lässt sich ablesen, dass der Balzbeginn beider Fliegengruppen mit Beeinflussung durch Stress mit annähernd gleicher Verzögerung auftritt. Daher kann davon ausgegangen werden, dass beide Gruppen ein frustriertes Verhalten in ähnlicher Stärke aufzeigen. Dies ist ein weiterer Hinweis darauf, dass sich bei den Tieren nach Stresseinfluss durch Vibrationen ein Depressionsphänotyp ausbildet, da neben der Kletter- und der Laufaktivität ein weiteres Verhalten betroffen ist.

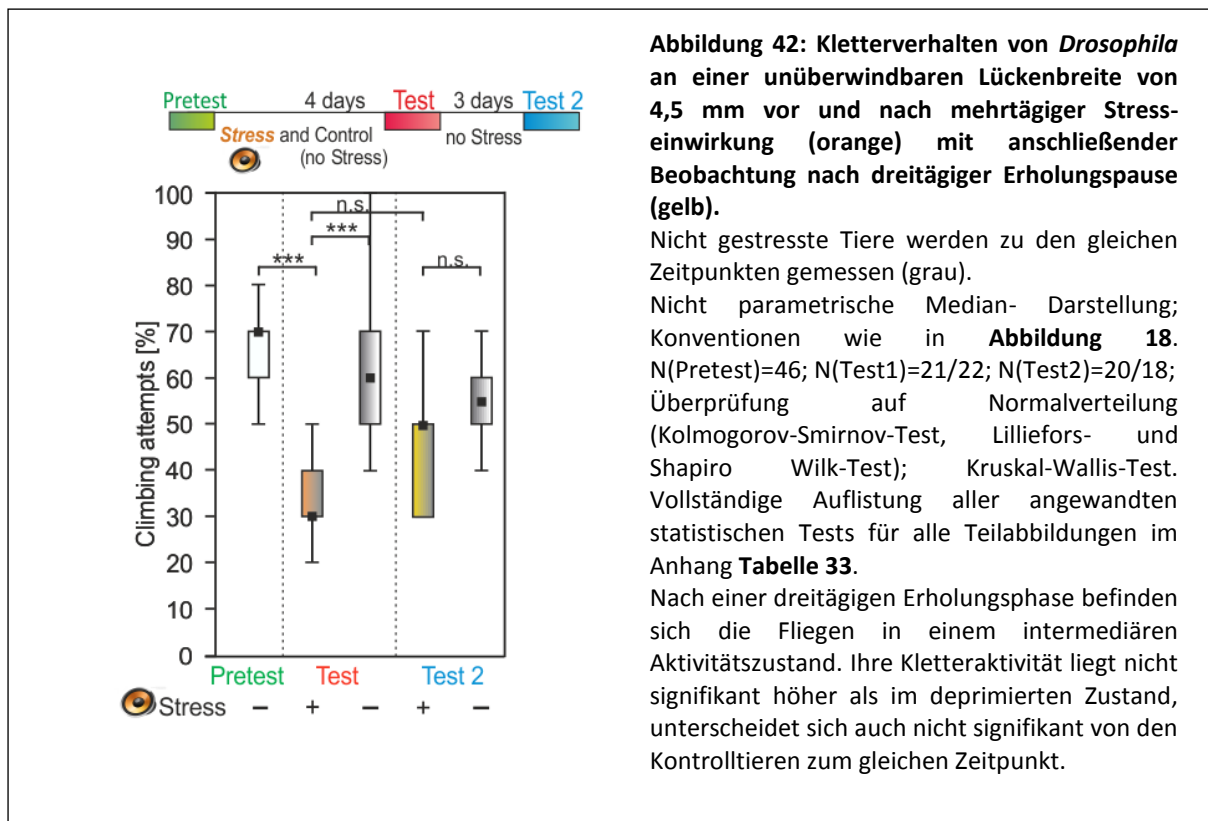
Weiterhin wird zur Charakterisierung eines depressionsartigen Zustandes von *Drosophila* das Fluchtverhalten bei den mit Stress belasteten Tieren ausgewertet. Ein typisches Fluchtverhalten in *Drosophila* kann durch das Paradigma der schnellen Phototaxis beobachtet werden. Das Verhalten in dieser Apparatur basiert darauf, dass wildtypische Fliegen durch Schütteln zur Flucht angeregt werden und ihnen als Fluchtziel ein helles Licht angeboten wird (s. 2.2.7.4 Mat. & Methode, **S.48**). Nachdem sie auf den Grund eines Röhrchens geschüttelt werden, orientieren sie sich bei Erscheinen einer Lichtquelle stets in ihre Richtung und versuchen, so schnell wie möglich zum Licht hin zu fliehen. Diese Eigenschaft lässt sich für multiple Laufanalysen und Reaktionstests in den Fliegen ausnutzen (BENZER S., 1967).



Das Verhalten der Fliegen in der schnellen Phototaxis unterscheidet sich zwischen den beiden Testgruppen nicht, unabhängig davon, ob sie vor dem Test ihres Fluchtreflexes mehrere Tage Vibrationsstress erfahren haben oder nicht (**Abbildung 41**). Die Fliegen orientieren sich gleich schnell hin zur Lichtquelle und rennen mit derselben Geschwindigkeit in ihre Richtung; die Fluchtreaktion ist demnach bei beiden Testgruppen gleich stark ausgeprägt. Daher kann ausgeschlossen werden, dass die Fliegen während der Vibrationseinheiten Verletzungen davon tragen oder in ihrem Orientierungssinn beeinträchtigt werden, denn Verletzungen oder Beeinträchtigungen würden das Fluchtverhalten der Tiere behindert haben.

Als abschließender Punkt zur Charakterisierung des depressions-ähnlichen Verhaltens der Fliegen ist es instruktiv, die Auswirkung eines plötzlichen Ausbleibens des zuvor verabreichten Stresses zu beobachten. Hierzu wird die Kletterinitiation aller verwendeten CS Fliegen an einer 4,5 mm Lücke anfänglich gemessen, dann wieder, nachdem die Hälfte von ihnen durch mehrtägigen Stress in Form von Vibrationen in einen depressionsartigen, verminderten Aktivitätszustand versetzt wurden und ein drittes Mal anschließend an drei Tage ohne Störungen auf Futter. Die andere Hälfte dient als Kontrolle, die zu den gleichen

Zeitpunkten gemessen wird, aber ohne Verabreichung von Stress. Die Fragestellung lautet dabei, ob eine längere Erholungsphase im Anschluss an die erfahrenen Stressreize die Tiere wieder zurück zu ihrer ursprüngliche Aktivität finden lässt.



Bei Betrachtung des Kletterverhaltens nach der dreitägigen Erholungsphase ohne Stresszugabe im normalen Tageszyklus der Fliegen lässt sich eine intermediäre Kletteraktivität – verglichen zu ihrem depressionsartigen Zustand – dokumentieren (**Abbildung 42**). In der Graphik lässt sich erkennen, dass die Tiere ihre Kletterbemühungen nach der Erholung um 20% steigern. Die Daten der Kletterversuche einerseits im stressinduziert-verminderten Zustand und andererseits nach ihrer Erholung unterscheiden sich allerdings nicht signifikant, sie beschreiben daher nur eine Tendenz. Gleichzeitig besteht aber auch keine statistisch belegte Abweichung zwischen den Daten der Kletterversuche der Fliegen, nach der Erholungsphase und den gleichzeitig erneut getesteten Kontrolltieren, die nie Stress erfahren haben. Die Kletteraktivität der Fliegen nach ihrer Erholungsphase ist demnach wieder so weit angestiegen, dass sie sich genau zwischen der verminderten Aktivität im depressionsartigen Zustand und Normalzustand ohne äußere Einwirkungen einstufen lässt. Beachtet werden muss bei Betrachtung der Daten, dass das Kletterverhalten sensibel gegenüber Alterung ist. Daher könnte das Alter der Fliegen erklären, dass die Aktivität der Fliegen weder in der Test- noch in der Kontrollgruppe montags auf dem Ausgangszustand liegt.

3.2.2 Unterschiede des depressionsähnlichen Zustandes von *Drosophila* zu der erlernten Balzfrustration

In der Charakterisierung des über regelmäßig eintretende, unangenehme Vibrationen ausgelösten Depressions-ähnlichen Verhaltens fällt eine Parallele zu dem erlernten Verhaltensphänotyp der Balzunterdrückung durch vorhergehende Frustration durch verpaarte Weibchen auf. Sowohl die Vibrations-Störreize als auch die beständige Zurückweisung durch ein Weibchen in der Balz führen bei Männchen zu einer deutlich signifikanten Verzögerung der Balzversuche in einem anschließenden Balztest. Daher werden unterschiedliche Versuchsreihen angeschlossen, die die beiden Verhaltensausrprägungen auf Gemeinsamkeiten und Unterschiede überprüfen.

Als erstes wird hierbei die Frage analysiert, inwiefern sich eine Kontextänderung auf den Zustand der erlernten Balzfrustration auswirkt. Bei der Erzeugung einer konditionierten Balzfrustration kommt es – im Gegensatz zu dem Vibrationsstress – bisher nicht zu einem Wechsel zwischen Apparaturen, den Tieren wird im selben Umfeld lediglich ein neues, unbekanntes Weibchen präsentiert. In dem neu entworfenen Paradigma werden die Stressreize in einem eigenständigen Aufbau vorgenommen und zur anschließenden Validierung des Phänotyps werden die Fliegen in weitere Apparaturen (z.B. das Kletterparadigma) überführt.

Um nachzuprüfen, ob sich ein nachhaltiger Effekt der Balzfrustration ebenfalls in anderen Paradigmen im Verhalten der Fliegen nachweisen lässt oder ob es sich hierbei um ein spezifisches Verhalten handelt, werden die Tiere nach der mehrtägigen Wiederholung der Balzfrustration zu dem anschließenden Verhaltenstest in das Kletterparadigma oder die Buridan'sche Arena überführt und ihre jeweilige Aktivität gemessen.

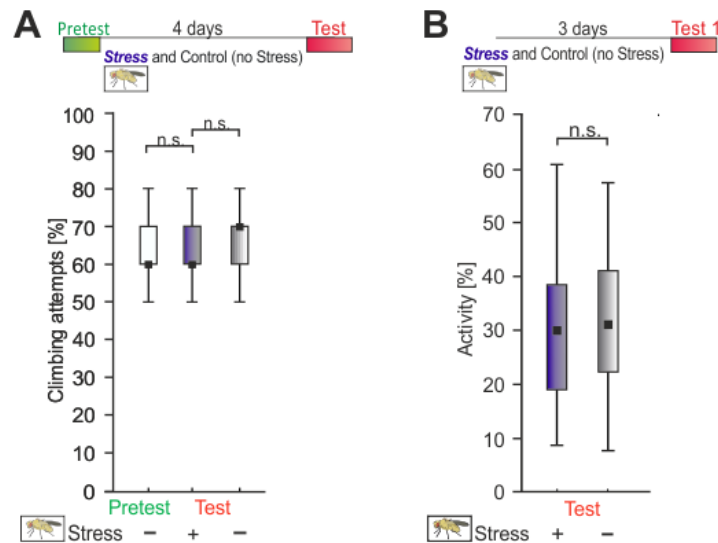


Abbildung 43: Kletteraktivität (A) und Laufaktivität in der Buridan'schen Arena (B) von *Drosophila* nach mehrtägiger Stresseinwirkung durch verpaarte Weibchen in der Balz im Vergleich zu der Aktivität der jeweiligen Kontrolltiere ohne Stressfaktor.

Nicht parametrische Median- Darstellung; Konventionen wie in **Abbildung 18**. N=45/41 (A) N=45/43 (B); Überprüfung auf Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test, Lilliefors- und Shapiro Wilk-Test); Kruskal-Wallis-Test (A), ungepaarter t-Test (B). Vollständige Auflistung aller angewandten statistischen Tests für alle Teilabbildungen im Anhang **Tabelle 34** und **Tabelle 35**.

Weder in der Kletteraktivität (A) noch in der Laufaktivität (B) lässt sich ein Unterschied zwischen den Tieren aus der Gruppe, die mehrmals täglich eine Balzfrustration als Stressfaktor erfahren hatten zu den Tieren aus der Kontrollgruppe erkennen.

Der Frustrationszustand nach wiederholt erfolgloser Balz lässt sich nicht auf die Aktivität in anderen Verhaltensparadigmen übertragen (**Abbildung 43**). In der Kletteraktivität bleiben die Fliegen unverändert in ihren Kletteranstrengungen, selbst wenn sie an mehreren Tagen Stress durch Zurückweisung des Weibchens erfahren haben. Ihre Kletterbemühungen unterscheiden sich daher weder von denen am ersten Tag ohne Stresskontakt ($p=0,4257$), noch von denen der Kontrollgruppe ($p= \sim 1,0000$; **Abbildung 43A**). In der Laufaktivität manifestiert sich ein ähnliches Ergebnis, denn die Tiere mit mehrtägiger Stresserfahrung weisen eine ähnliche Aktivität auf, wie die Tiere aus der Kontrollgruppe ($p=0,4958$; **Abbildung 43B**).

Demnach unterscheiden sich die Fliegen nach mehrtägiger Balzfrustration in ihrer Aktivität außerhalb der Balzapparatur nicht von ihren Artgenossen ohne Stresseinfluss.

Aus einer Studie zur Balzdeprivation ist bekannt, dass der mangelnde Balzerfolg sich durch eine Abnahme des Neuropeptid F-Levels im Gehirn von *Drosophila* ausprägt; Balzfrustration bewirkt demnach eine Abnahme von NPF in dem fächerförmigen Körper im Gehirn der männlichen Fliegen (GAO X. et al., 2015). Die Aktivität der *npf*-Neurone, sowie der Spiegel des freigesetzten NPFs repräsentieren in diesem Modell das intrinsische Belohnungssystem der Fliege und bewirken die Verzögerung in ihrer Balzaktivität (SHOHAT-OPHIR G. et al., 2012). Aufgrund dieser biochemischen Verknüpfung soll in den folgenden Versuchsreihen ermittelt werden, ob der depressionsartige Rückgang der Aktivität in *Drosophila*, der durch die Exposition mit andauernden unkontrollierbaren Vibrationsstress

hervorgerufen wird, auch über das NPF-Level im Gehirn der Fliegen moduliert werden kann. In Zuge dessen wird die Expression von *npf* in einer Versuchsreihe artifiziell erhöht (**Abbildung 44A**), während sie in einer weiteren stark abgesenkt wird (**Abbildung 44B**), um untersuchen zu können, ob es dadurch zu einer Veränderung in der Ausprägung des depressionsartigen Verhaltensphänotyps kommt.

Falls der Neurotransmitter NPF gleichermaßen in die Signalübertragung beim Depressions-ähnlichen Phänotyps wie in der konditionierten Balzfrustration von *Drosophila* involviert sein sollte, ließe sich das an den Ergebnissen erkennen. Die künstlich bedingten Veränderungen von NPF im Nervensystem der Fliegen würden bei einer Anhebung des NPF-Level zu einer Verhinderung und bei einer Absenkung des NPF-Spiegels zu einer Verstärkung einer verminderten Aktivität führen. Unterscheidet sich jedoch die Signaltransduktion der konditionierten Balzfrustration grundlegend von der des Depressionsphänotyps, so sollte keine Veränderung im Verhalten der Tiere nach den unkontrollierbaren Stresseinflüssen zu beobachten sein.

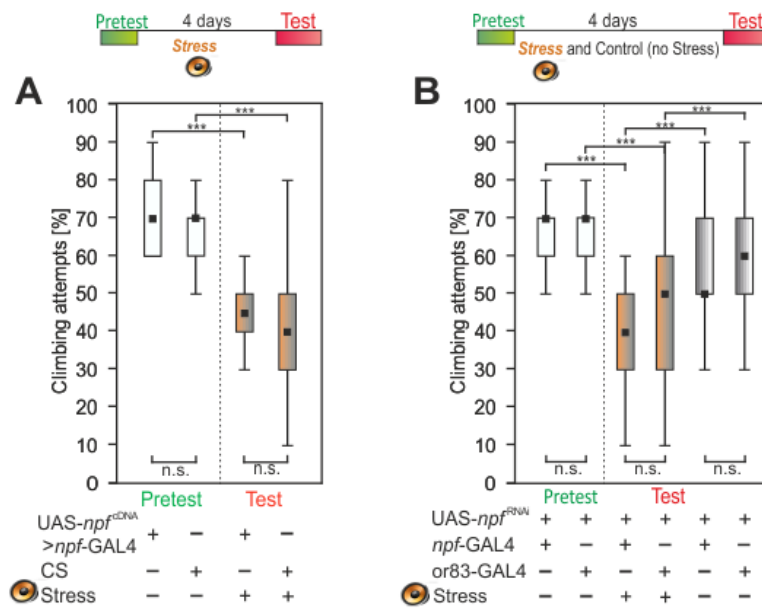


Abbildung 44: Auswirkung von *npf*-Überexpression (A) und RNAi gegen *npf* (B) auf die Verminderung der Kletteraktivität von *Drosophila* durch mehrtägige Stresseinwirkung durch Vibrationsreize.

Nicht parametrische Median- Darstellung; Konventionen wie in **Abbildung 18**. N=17/16 (A) und N=43/42 (B); Überprüfung auf Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test, Lilliefors- und Shapiro Wilk-Test); Kruskal-Wallis-Test. Vollständige Auflistung aller angewandten statistischen Tests für alle Teilabbildungen im Anhang **Tabelle 36** und **Tabelle 37**.

Weder eine Überexpression (A), noch RNAi (B) gegen *npf* haben einen Einfluss auf die stressbedingte Abnahme der Kletteraktivität (orange) der Fliegen gegenüber den Kontrolltieren ohne Stress (grau). In beiden Fällen weicht das Verhalten der genetisch manipulierte Gruppe nicht von dem der zugehörigen Kontrollkreuzungen ab.

Die genetische Manipulation des NPF-Niveaus in den Köpfen der Fliegen hat keine Auswirkung auf die Ausprägung ihrer depressionsartigen Aktivitätsminderung nach mehrtägiger Stressexposition (**Abbildung 44**). Eine Überexpression von *npf* kann über den künstlich erhöhten NPF-Spiegel im Gehirn nicht verhindern, dass die Tiere als Antwort auf die unkontrollierbare Stresssituation eine verminderte Aktivität aufweisen ($p < 10^{-5}$) und sich ihr Verhalten damit nicht von der Aktivitätsverminderung der Kontrollkreuzung unterscheidet ($p = \sim 1,0000$; **Abbildung 44A**). Generell wurde aber bei WEN T. 2005 gezeigt, dass eine Überexpression von *npf* mittels des Treibers UAS-*npf*^{cDNA} eine Verhaltensveränderung in *Drosophila* hervorrufen kann. In Versuchen zu der Wirkung von Alkohol zeigten Fliegen, in denen *npf* mithilfe dieses Treibers überexprimiert wurde, eine verstärkte Alkoholsensitivität; gleichzeitig wurde kontrolliert, dass eine starke ektopische NPF-Expression in den Köpfen der Tiere zu sehen war (WEN T. et al., 2005).

Da aufgrund der Beobachtungen von SHOHAT-OPHIR G. 2012 und GAO X. 2015 bei diesen Experimenten die Erwartung vorherrschte, dass eine Überexpression von *npf* durch eine Verstärkung des intrinsischen Belohnungssystems einen Depressions-ähnliches Verhalten verhindern könnte, wird in **Abbildung 44A** nur das Kletterverhalten von Fliegen betrachtet, die eine viertägige Stressbehandlung erfahren haben. Da nur beobachtet werden

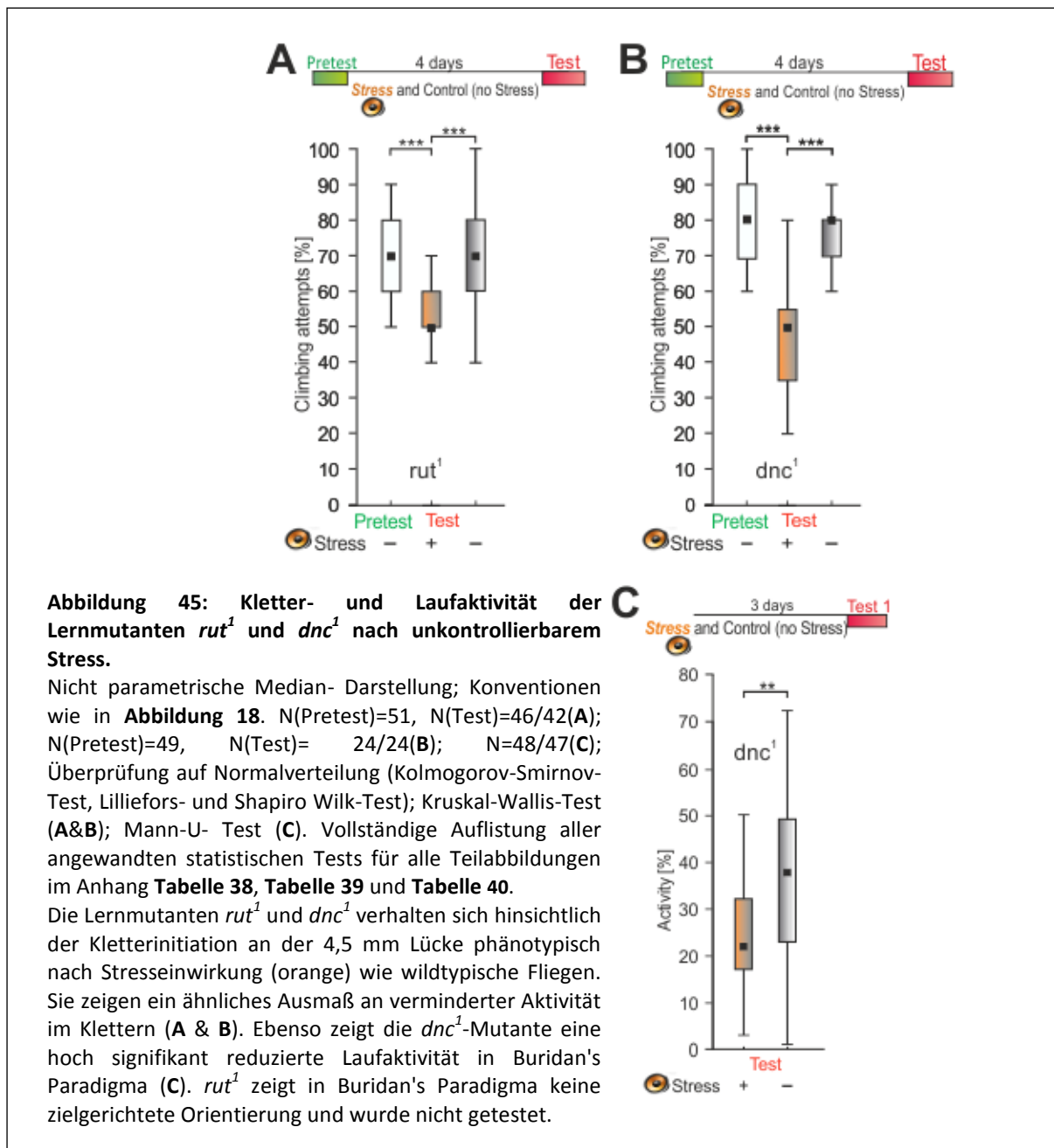
soll, ob eine Überexpression von *npf* den Phänotyp verminderter Aktivität verhindern kann, wird eine Kontrollgruppe ohne Stresseinfluss für dieses Experiment nicht benötigt.

Auch eine künstliche Herabregulierung der Expression von NPF in den *npf*-Neuronen über RNAi kann in den hier gezeigten Versuchen (**Abbildung 44B**) keine Veränderung im Phänotyp der verminderten Aktivität bewirken. Im Gegensatz dazu ließ sich in Versuchen zur Balzfrustration durch eine Herabregulierung unbestrafter Fliegen von *npf* mittels pan-neuronal getriebenen UAS-*npf*^{RNAi} der Frustrationslevel der Fliegen verstärkend beeinflussen, dies ließ sich an ihrer Ethanolpräferenz ablesen. Einerseits hätte im Rahmen dieser Arbeit der anhand von unkontrollierbarem Stress erzeugte depressionsartige Verhaltensphänotyp durch eine Herabregulierung zusätzlich verstärkt werden können, andererseits wäre auch eine Veränderung im Verhalten der Tiere ohne Stress möglich gewesen; daher wird bei diesem Experiment sowohl das Verhalten von Tieren mit als auch ohne Stressgabe analysiert. Da in keiner Gruppe eine Verhaltensveränderung zu der Kontrollkreuzung zu erkennen ist – weder in der Gruppe nach Stress ($p=0,1982$), noch in der Kontrollgruppe ohne Stress ($p=0,9224$) – lässt sich schlussfolgern, dass ein abgesenkter Level von NPF im Gehirn von *Drosophila* somit keine erkennbare Verstärkung der Aktivitätsminderung nach Stresseinfluss in den Tieren herbeiführen kann.

Daher lässt sich schließen, dass eine Modulation der depressionsartigen Verhaltensänderung in Fliegen nach unkontrollierbarem Stress über ein *npf*-verknüpftes Belohnungssystem unwahrscheinlich ist.

Als nächstes stellt sich die Frage, ob der depressionsähnliche Phänotyp verminderter Aktivität ein erlerntes Verhalten darstellt, da aus zahlreichen Studien zur Balzkonditionierung bekannt ist, dass die Balzfrustration erlernt ist. Die Balzkonditionierung lässt sich durch Störung des Kurzzeitgedächtnisses verhindern, beispielsweise kommt es nach Ausschaltung bestimmter Enzyme des zyklischen Adenosin-Monophosphat (cAMP)-Signalwegs zu keiner Speicherung der Frustrationsinformation im Kurzzeitgedächtnis mehr (MEHREN J. et al., 2004).

Im direkten Vergleich der beiden Verhaltensphänotypen stellt sich die Frage, ob die über Vibrationsstress erzeugte Aktivitätsminderung ebenfalls, zumindest teilweise, ein erlerntes Verhalten darstellt. Daher werden bekannte Lernmutanten der cAMP-Kaskade den unkontrollierbaren Vibrations-Stressreizen ausgesetzt und im Anschluss hinsichtlich ihrer Kletterinitiation und ihrer Laufaktivität in Buridan's Paradigma bewertet.



In der Übersicht aus **Abbildung 45** lässt sich erkennen, dass Fliegen, die eine spezifische Mutation eines an der cAMP-Lernkaskade beteiligten Enzyms tragen, keinerlei Unterschied in ihrem Verhalten nach Stresseinwirkung im Vergleich zu den wildtypischen Fliegen aufzeigen. Sowohl die *dnc*¹-Mutante als auch die *rut*¹-Mutante zeigt im Klettern an der 4,5 mm Lücke einen höchst signifikanten Aktivitätsrückgang in den Kletteranstrengungen (**Abbildung 45A & Abbildung 45B**). In *dnc*¹- sowie *rut*¹-mutanten Fliegen wird der cAMP-Spiegel so verändert, dass die Ausbildung eines Kurzzeitgedächtnisses (LEE D., 2015), sowie

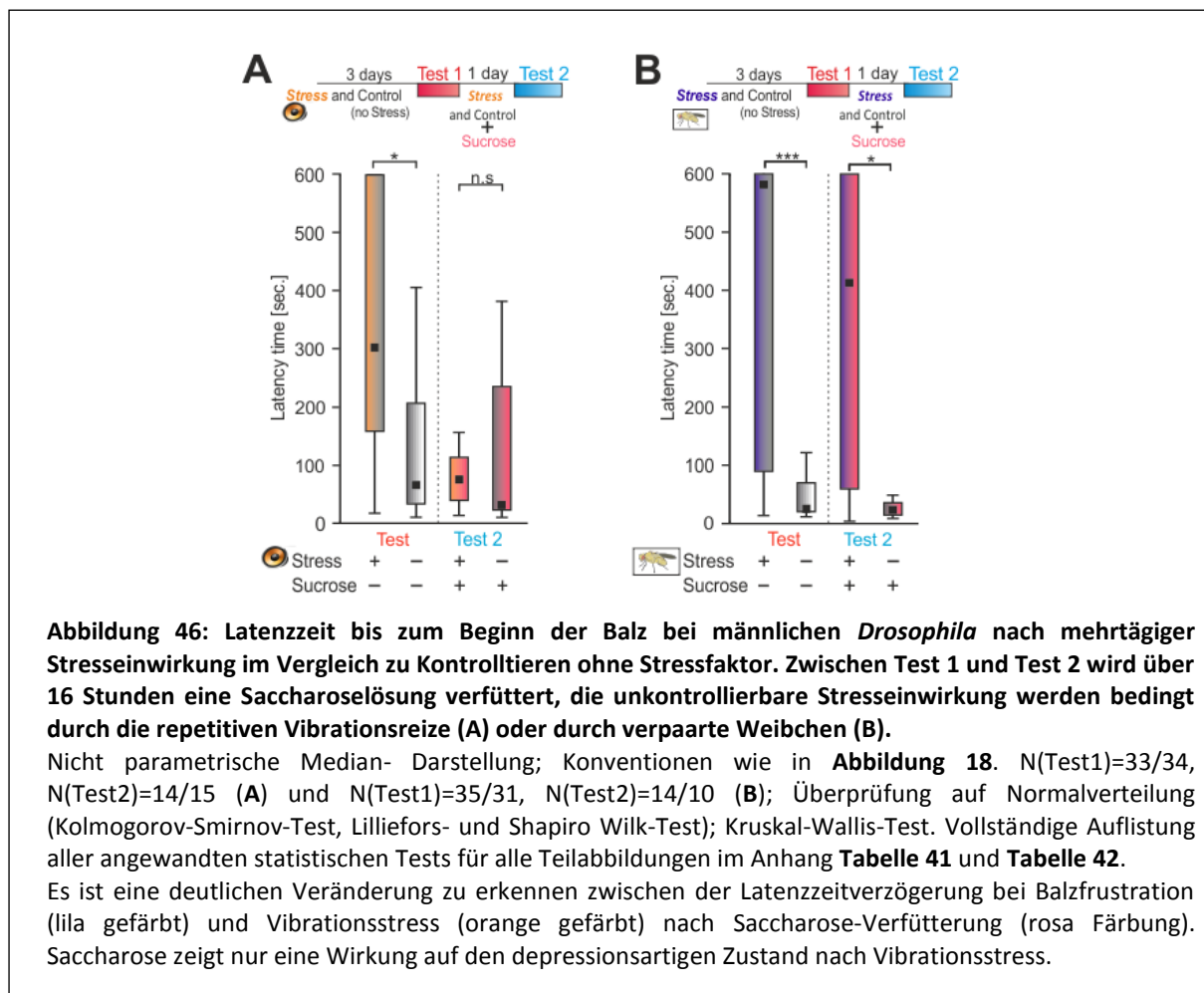
die Ausbildung eines Körpergrößengedächtnisses (KRAUSE T., 2015) in den Tieren nicht möglich ist. Diese Lerndefekte sind dadurch bedingt, dass die Mutationen in zentralen Genen der cAMP-Kaskade lokalisiert sind. *dunce* codiert für eine cAMP-spezifische Phosphodiesterase (PDE), während *rut* eine Ca^{2+} /Calmodulin-Adenylylzyklase (AC) codiert. Diese beiden Enzyme halten das cAMP-Gleichgewicht aufrecht – während die PDE für den Abbau zuständig ist, sorgt die Aktivierung der AC für ein hohes cAMP-Level – und dieses ist für die Ausbildung eines Gedächtnisses entscheidend (GERVASI N. et al., 2010). Die Defekte in der Ausbildung des Körpergrößengedächtnisses äußern sich in einer erhöhten Kletterinitiation an unerreichbar großen Lückenbreiten (KRAUSE T., 2015); tendenziell lässt sich dies bei den Kletterversuchen im Pretest bei dem Genotyp *dnc¹* in **Abbildung 45** erkennen, da die Kletterinitiation bei 80% liegt. Bei dieser Betrachtung muss allerdings berücksichtigt werden, dass bei allen Versuchen eine gewisse Vorselektion in den Pretests erfolgte (s.2.2.6. Erzeugung eines depressionsartigen Zustands, **S.40**), dadurch kommt es zu einer Verminderung dieses Effekts.

Die Messungen der *dnc¹*-Fliegen in Buridan's Paradigma hinsichtlich der Laufaktivität bekräftigen diese in der Kletteraktivität beobachteten Ergebnisse. Die Tiere, die die Mutation *dnc¹* tragen, zeigen eine hoch signifikante Verminderung ihrer Laufaktivität, nachdem sie mehrere Tage Vibrationsstress ausgesetzt waren (**C**). Fliegen des Genotyps *rut¹* lassen sich nicht in der Buridan'schen Arena testen, da sie nicht auf Landmarken zulaufen und somit keine Messung des Laufverhaltens möglich ist.

Die durchgeführten Tests mit den beiden Lernmutanten dokumentieren eindeutig, dass bei dem stressbedingten depressionsähnlichen Phänotyp nicht von einem cAMP-abhängig erlernten Verhalten ausgegangen werden kann.

In später aufgeführten Experimenten zeigt sich, dass Saccharose einen positiv modulierenden Einfluss auf den depressionsartigen Phänotyp in der Kletteraktivität ausübt (**Abbildung 47**). Die Tiere zeigen im Rahmen dieser Experimente nach 16 stündiger Aufnahme von Saccharose einen Wiedergewinn ihrer Kletteraktivität trotz externen Stresseinflusses. Diese Wirkung von Saccharose auf Frustrationszustände mit verminderter Aktivität ist aus der Literatur zu Balz nicht bekannt. Daher soll in der nachfolgenden Versuchsreihe überprüft werden, ob Saccharose einen Effekt in der konditionierten Balzfrustration aufzeigt, der vergleichbar zu dem der Auswirkung auf den depressionsähnlichen Phänotyp nach Vibrationsstress ist. Dies könnte eine weitere Differenz zwischen der konditionierten Balzfrustration und dem stressbedingten depressionsähnlichen Phänotyp beschreiben.

Die Fliegen werden in dieser Testreihe entweder mehrere Tage verpaarten Weibchen (**Abbildung 46A**) oder Vibrationsreizen (**Abbildung 46B**) ausgesetzt; im Anschluss wird ihre Balzaktivität bei einem frischen verpaarten Weibchen getestet. Nach diesem ersten Test wird den Tieren 16 Stunden 5%ige Saccharose-Lösung gefüttert, und nach einer anschließenden erneuten Stressbeeinträchtigung ("Reminder") wird ihre Balzaktivität mit einem frisch hinzugesetzten Weibchen getestet. Auf diese Weise lässt sich ein direkter Vergleich in ihrem Verhalten vor und nach Saccharose-Aufnahme ziehen.



Bei Betrachtung der **Abbildung 46** fällt sofort auf, dass die Fliegen – je nach Art des angewendeten Stresses – sehr unterschiedlich auf die Verfütterung von Saccharose reagieren. In beiden Gruppen lässt sich zuvor allerdings im ersten Test eine klare Reaktion auf die Einwirkung des Stresses erkennen. Die Tiere, die dem Vibrationsstress ausgesetzt sind (orange eingefärbt), zeigen eine signifikante Verzögerung in ihrem Balzbeginn ($p=0,0127$; **Abbildung 46A**), der Balzbeginn nach häufigem Einwirken des verpaarten Weibchens (lila gefärbt) verzögert sich höchst signifikant ($p<10^{-5}$; **Abbildung 46B**). Eine Abweichung im Verhalten zwischen den beiden Gruppen wird erst deutlich, wenn über 16 Stunden Saccharose an die Tiere verfüttert wird. Bei dem anschließenden Test beginnen die Männchen, die durch Vibrationen unkontrollierbar gestresst werden, deutlich früher mit der Balz als am Vortag und ebenso früh, wie ihre Kontrollpartner ohne Stress ($p= -1,0000$;

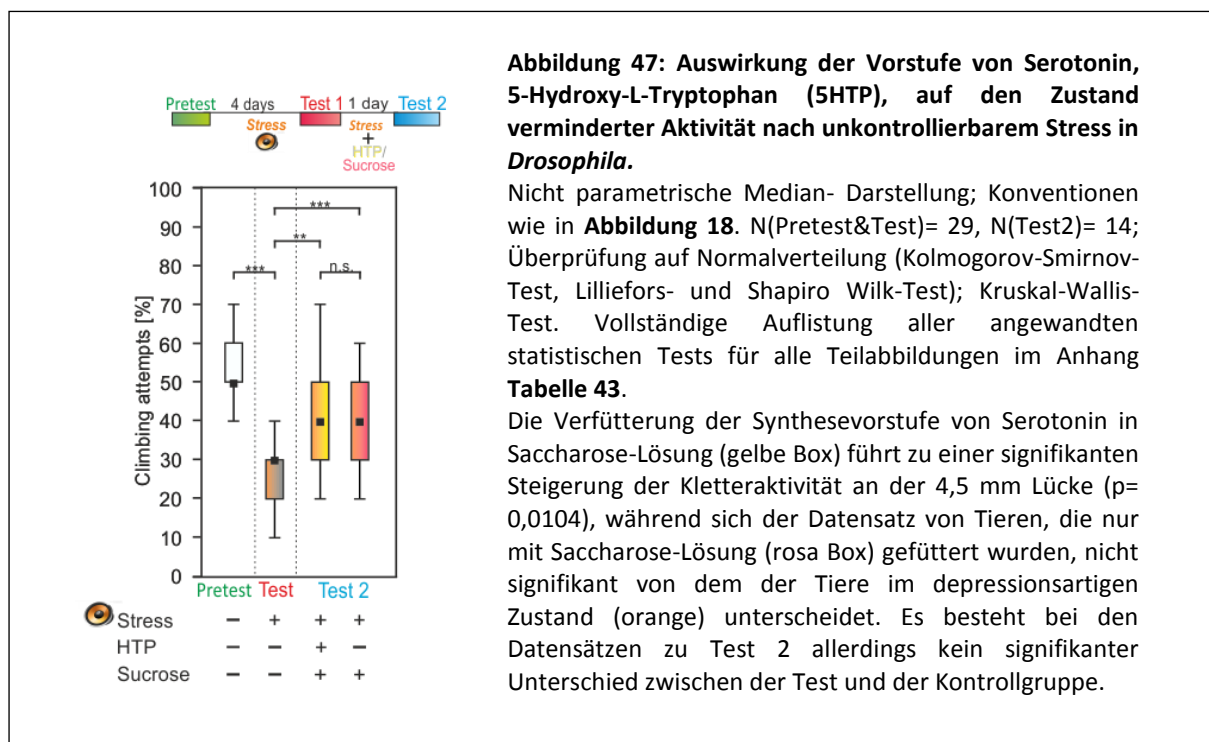
Abbildung 46B). Diese Beobachtung tritt bei den Männchen nach Konfrontation mit verpaarten Weibchen und zusätzlicher Saccharose-Verfütterung nicht ein (**Abbildung 46A**). Bei ihnen lässt sich in der Balz nur eine geringe Veränderung zur Verzögerung am Vortag beobachten und der Unterschied zur zugehörigen Kontrolle ohne Stress ist signifikant ($p=0,0168$).

Diese Ergebnisse zeigen eine weitere Unterscheidung zwischen dem Verhalten der Tiere einerseits nach Balzfrustration, andererseits nach Vibrationsstress auf. Bei den Tieren nach mehreren Tagen unkontrollierbarer Strapaze durch unkontrollierbare Vibrationsreize ist die Verzögerung des Balzbeginns durch Saccharose-Gabe reversibel. Dies trifft auf die Männchen nach mehrmaliger Auseinandersetzung mit verpaarten Weibchen nicht zu, die Saccharose verändert ihr Verhalten nicht signifikant.

Nach Prüfung und Vergleich von Eigenschaften des depressionsartigen Verhaltens nach Vibrationsstress und dem Frustrationsverhalten der Tiere nach Balzkonditionierung kann aufgrund wesentlicher Anhaltspunkte ausgesagt werden, dass den beiden Verhaltensphänotypen verschiedene Mechanismen zu Grunde liegen und es sich bei Balzfrustration um keinen depressionsartigen Zustand handelt.

3.2.3 Einfluss des Neurotransmitters Serotonin (5-HT) auf das depressionsähnliche Verhalten von *Drosophila*

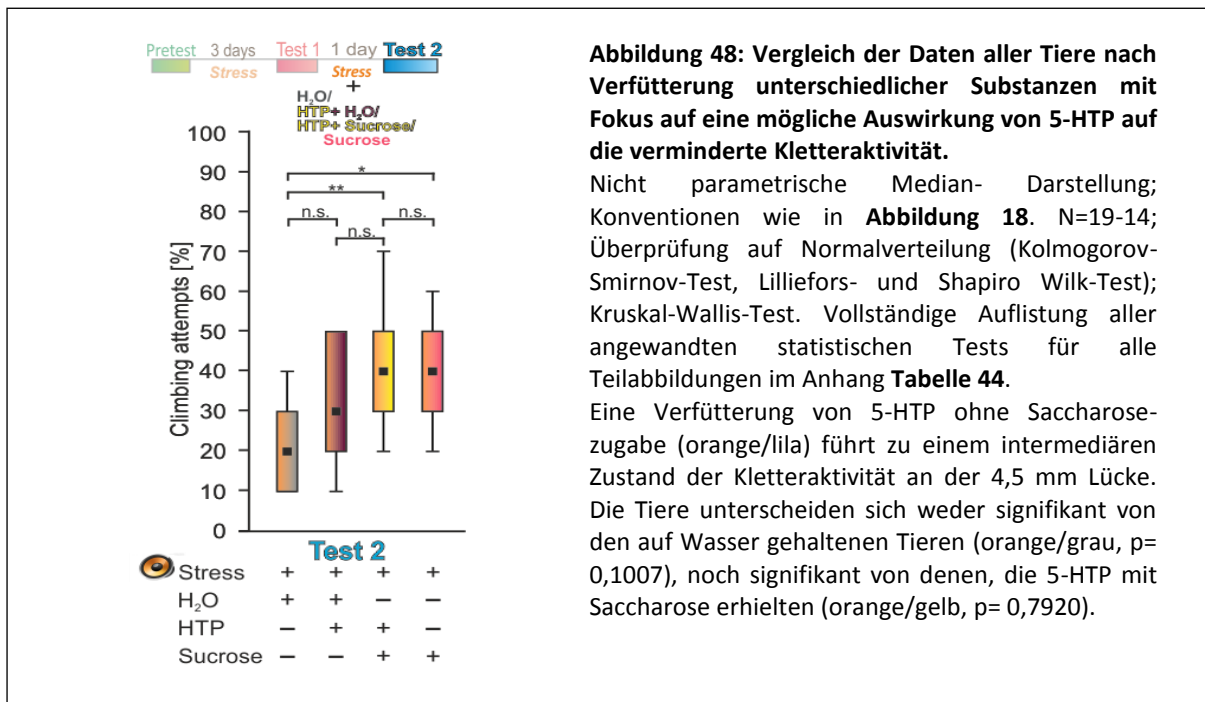
In vorhergehenden Experimenten konnte gezeigt werden, dass der Neurotransmitter Neuropeptid F, der aus Studien zu Stress und Belohnungssystem bekannt ist, auf den depressionsartigen Zustand der Fliegen nach Vibrationsreizen keine Auswirkung hat (**Abbildung 44**). Aus vorhergehenden Untersuchungen von BERTOLUCCI F. 2007 zu Learned Helplessness in *Drosophila* ist bekannt, dass Serotonin in den Experimenten in der Heat Box bei den Fliegen mit Learned Helplessness-Phänotyp eine Wirkung gezeigt hat. Sowohl eine Verfütterung der Vorstufe von Serotonin (5-Hydroxytryptophan; 5-HTP) als auch zwei Serotonin Reuptake Inhibitoren (SSRIs) milderten den Learned Helplessness-Zustand der Tiere. Dieser wurde durch unkontrollierbaren Hitzebestrafungen ausgelöst, da diese Bestrafungen von einer angekoppelten "Master"-Fliege erzeugt wurden (detaillierte Erläuterung s.Einleitung) (BERTOLUCCI F., 2007). Da die verwendeten Wirkstoffe alle im Serotonin-Metabolismus eine wichtige Rolle spielen, rückte Serotonin in den Fokus des Interesses. Zudem ist bekannt, dass Serotonin auch in der Vertebraten-Forschung mit Angstzuständen und Depressionen bei Patienten in Verbindung gebracht wird (OLIVIER B., 2015). Daher wird in den anschließenden Testreihen überprüft, ob pharmakologische Ansätze mit oraler Verfütterung einer der von BERTOLUCCI verwendeten Substanzen – die Synthesevorstufe von Serotonin (5-Hydroxy-L-Tryptophan; 5-HTP) – sich auf den Zustand verminderter Aktivität auswirken und somit den depressionsartigen Zustand modulieren können.



Die Verfütterung von 5-Hydroxy-L-Tryptophan (5HTP), einer Synthesevorstufe von Serotonin, die die Blut-Hirn-Schranke passieren kann, lässt eine Beteiligung von Serotonin an dem

Zustand der verminderten Aktivität vermuten (**Abbildung 47**). Nachdem die Fliegen sich in dem depressionsartigen Zustand befinden, wird ihnen über 16 Stunden entweder 5-HTP in Saccharose-Lösung (gelb markierte Daten), oder nur Saccharose-Lösung (rosa markierte Daten) verfüttert. Sie reagieren auf die Serotoninvorstufe im anschließenden Test mit einer signifikanten Erhöhung ihrer Aktivität gegenüber ihrem vorherigen Depressionszustand ($p=0,0104$). Als weitere Beobachtung sticht jedoch sofort hervor, dass pure Zuckerlösung einen ähnlichen Effekt auf die Aktivität ausübt, denn die Kletterbemühungen zeigen einen ähnlich starken Wiederanstieg. Es lässt sich daher erkennen, dass Zucker der verminderten Aktivität im Depressionsphänotyp entgegenwirkt. Da zusätzliches 5-HTP dabei keine weitere Verbesserung bedingt ($p=1,0000$), kann über die Wirkung von Serotonin hier noch keine Aussage getroffen werden.

Daher soll die Wirkung von Serotonin im depressionsähnlichen Verhalten intensiver untersucht werden und einer weiteren Gruppe von Fliegen wird daher 5-HT ohne beigemischte Saccharose verfüttert, um zu testen, ob dadurch eine Verhaltensveränderung eintritt.

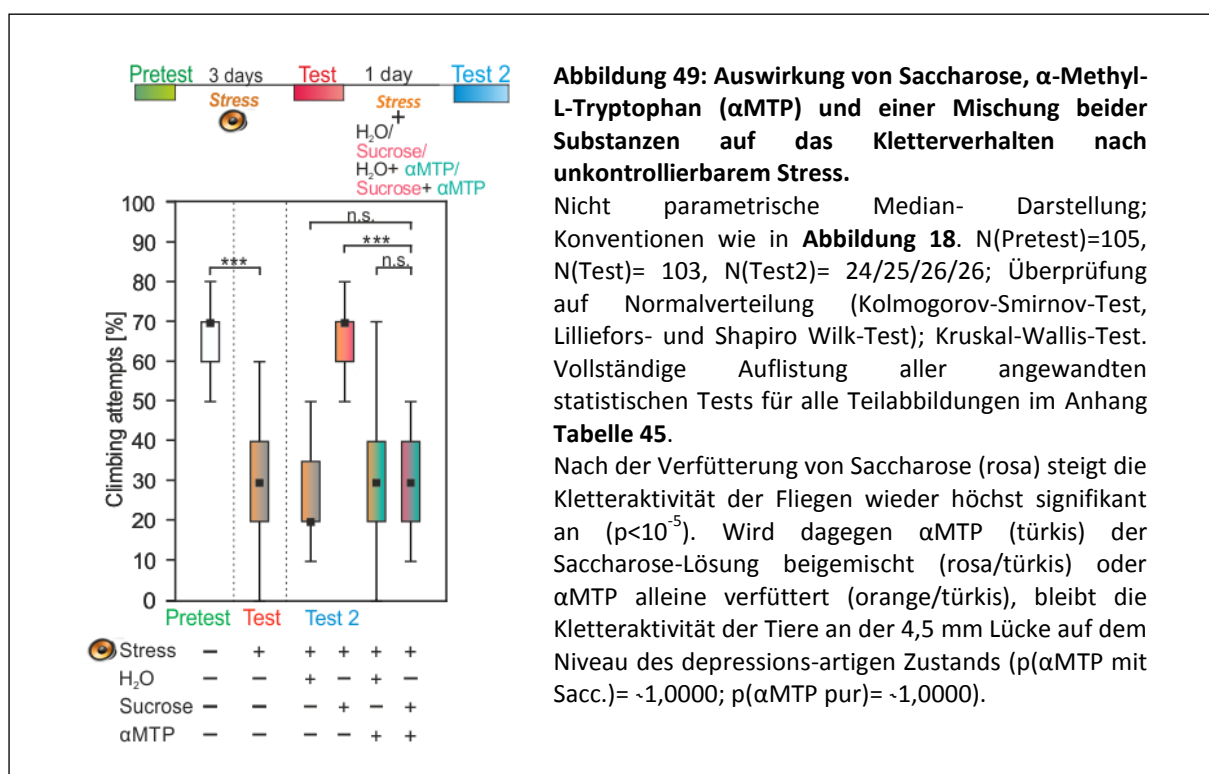


Bei einem direkten Vergleich der Daten aller Tiere in ihrer Kletteraktivität an der 4,5 mm Lücke nach Stresseinwirkung und oraler Aufnahme unterschiedlicher Stoffe (**Abbildung 48**) lässt sich ein intermediärer Aktivitätszustand bei den Fliegen nach der Aufnahme von 5-HTP ohne weitere Zusätze (orange/lila markierte Daten) beobachten (Verbesserung nicht signifikant, $p=0,1007$).

Die Futterlösungen, in denen Saccharose beigemischt ist, führen dagegen stets zu einer hoch signifikanten (5-HTP mit Zucker, orange/gelb markierte Daten; $p=0,0012$) oder signifikanten (reiner Zucker, orange/rosa markierte Daten; $p=0,0337$) Veränderung des Aktivitätszustands; die Tiere lassen nach Zuckeraufnahme wieder mehr Kletteranstrengungen erkennen. Daher lässt sich anhand dieser Daten wieder keine Aussage

machen, ob die Aktivitätssteigerung der Fliegen nach Verfütterung des 5-HTP-Saccharose-Gemisches durch 5-HTP bedingt ist, oder ob Saccharose einen anderen Signalweg aktiviert, der den Zustand der Tiere positiv beeinflusst.

Um die Rolle des Serotonins in der Verhaltensveränderung genauer zu beleuchten, wird daher ein Inhibitor der Serotoninsynthese eingesetzt. Der verwendete Inhibitor hemmt die enzymatische Tryptophan Hydroxylase; dieses Protein ist sehr spezifisch für Tryptophan und bestimmt über dessen Umbau die Geschwindigkeit der Serotoninsynthese (MOHAMMAD-ZADEH L. et al., 2008). Die Fliegen erhalten in der dazugehörigen Testreihe anstelle der Vorstufe von Serotonin (5-HTP) demnach α -Methyl-L-Tryptophan (α MTP) als Lösungsbeigabe und es wird untersucht, ob dies einen Einfluss auf die Saccharose-bedingte Aktivitätszunahme hat.

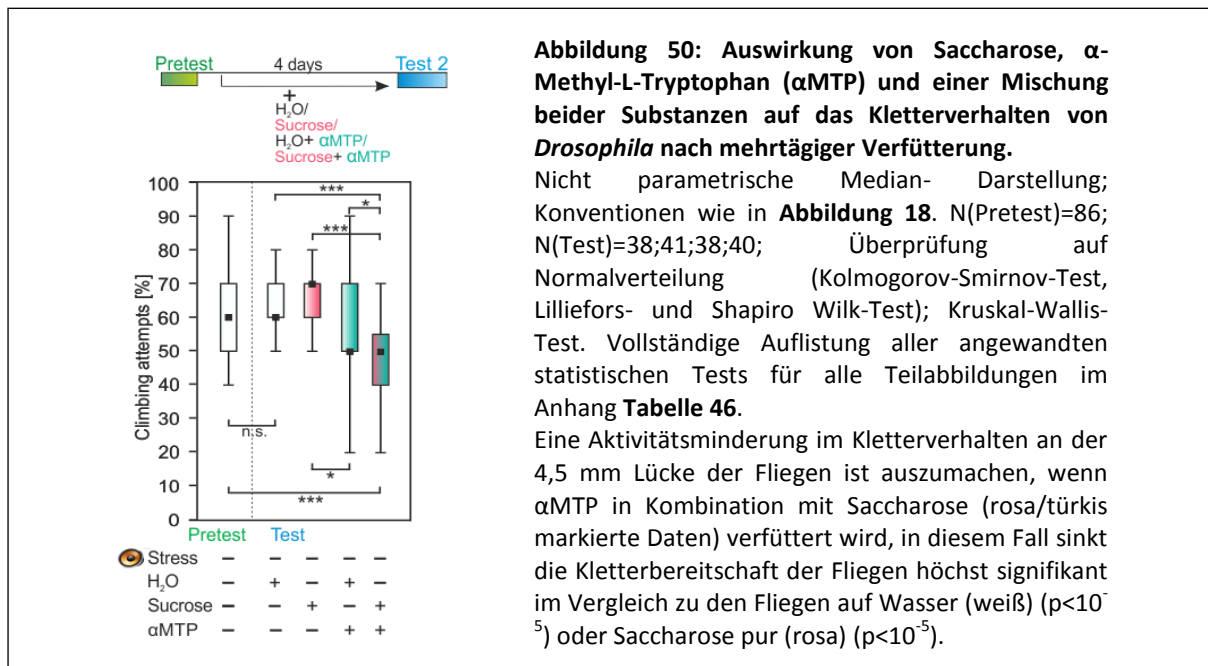


Die Fliegen zeigen nach der Stressphase die gewohnte Abnahme ihrer Kletteraktivität an der 4,5 mm Lücke. Diese bleibt unverändert, wenn die Tiere sich über Nacht auf Wasser oder auf Wasser mit α MTP befinden ($p(\text{H}_2\text{O}) = \sim 1,0000$; $p(\alpha\text{MTP in H}_2\text{O}) = \sim 1,0000$). Bei Aufnahme von Saccharose tritt die – schon in **Abbildung 30** beobachtete – höchst signifikante Zunahme ihrer Aktivität ein ($p < 10^{-5}$; **Abbildung 49**); die Aktivität der Fliegen liegt damit wieder auf dem Niveau ihres Ausgangswerts. Dieser Effekt ließ sich schon in den Versuchen zur Verzögerung in der Latenzzeit beobachten (siehe **Abbildung 46**). Auffallend ist, dass eine Vermischung der Saccharose-Lösung mit α MTP diesen Wiederanstieg der Kletteraktivität nach Verfütterung verhindert. Bekommen die Fliegen demnach diese Vermischung beider Stoffe, bleiben ihre Anstrengungen auf dem Level der depressionsartigen Aktivitätsverminderung und die positive Auswirkung der Saccharose wird gehemmt.

Der beigemischte Inhibitor der Serotoninsynthese, α MTP, verhindert demnach den durch Saccharose ausgelösten Wiedergewinn der Kletteraktivität. Daraus lässt sich schließen, dass Serotonin maßgeblich an dem Prozess der Vermittlung einer depressionsartigen Aktivitätsverminderung beteiligt ist und dass Zuckergabe in diesem Mechanismus über serotonerge Neurone vermittelt wird.

Hinsichtlich dieser aussagekräftigen Ergebnisse stellt sich die Frage, ob der Inhibitor der Serotoninsynthese sich auch ohne Stresseinwirkung über die orale Verfüterung auf das Aktivitätsverhalten auswirkt. Die Durchführung des Versuchs unter den identischen Umständen wie in **Abbildung 49** ohne Stresseinwirkung zeigt keine Auswirkung des Serotonin-Inhibitors auf die Kletteraktivität der Fliegen (**Abbildung 80**).

In vorhergehenden Studien zeigte sich, dass eine Verfüterung des Inhibitors ohne zusätzliche äußere Auswirkungen am besten über mehrere Tage auf die Tiere einwirkt (VAYSSE G., 1988). Daher wird der Kontrollversuch ohne Stress leicht modifiziert wiederholt. Die Tiere werden mit den unterschiedlichen Lösungen über mehrere aneinander anschließende Nächte gefüttert – insgesamt verbringen die Fliegen vier Nächte auf den Futterlösungen – und dann ihre Kletterinitiation an der 4,5 mm Lücke gemessen. Da einzelne Gruppen nur Wasser ohne Saccharose-Zusatz verfütert bekommen, erhalten alle Tiere tagsüber zwei bis drei Stunden Zugang zu normalem Futter, damit sie über diese längere Zeitspanne nicht verhungern.



Ohne jegliche Stresseinflüsse zeigt die Verfüterung des Inhibitors der Serotoninsynthese (α MTP) in Wasser gelöst eine leicht vermindernde Auswirkung auf die Kletteraktivität der Tiere an der 4,5 mm Lücke, da die Werte sehr stark streuen. Eine Mischung von α MTP mit Saccharose bewirkt dagegen eine erhebliche Abnahme der Aktivität der Fliegen (**Abbildung 50**). Erwartungsgemäß zeigt sich dagegen bei den Tieren, die auf Wasser gehalten werden, keine Veränderung der Kletteraktivität über den Zeitraum von fünf Tagen. Ebenso verhält es sich für die Kletteraktivität der Fliegen bei Verfüterung einer Saccharose-Lösung.

Dies bedeutet, dass die Verabreichung des Syntheseinhibitors von Serotonin mit Zucker vermischt über eine längere Zeitspanne eine Aktivitätsabsenkung im Kletterverhalten von *Drosophila* auch ohne externen Stress bewirkt. Auch ohne zusätzliche Stressreize führt der längerfristig beigeführte Serotoninmangel in *Drosophila* zu einem depressionsartigen Verhaltensphänotyp.

Es lässt sich vermuten, dass die Kombination aus Inhibitor vermischt mit Saccharose den stärksten Phänotyp hervorruft, da die Fliegen wegen des Geschmacks mehr von der Lösung zu sich nehmen. Diese Hypothese sollte durch eine photometrische Bestimmung der aufgenommenen Futtermenge in den Fliegen untersucht werden. Dies war jedoch in der Praxis nicht möglich, da sich mit den vorhandenen photometrischen Geräten Unterschiede in dieser geringen Größenordnung nicht feststellen lassen.

In einem nächsten Schritt wird daher untersucht, ob sich im Gehirn von *Drosophila* ein Unterschied im Serotoninspiegel nachweisen lässt, in Abhängigkeit davon, ob Saccharose pur oder mit Serotonin-Inhibitor verfüttert wird. Zu diesem Zweck werden Gruppen von drei bis fünf Tage alten männlichen CS Fliegen über 16 Stunden ohne Stresseinfluss jeweils mit Wasser (N=8), Saccharose (N=8) oder Saccharose gemischt mit α MTP (N=11) gefüttert. Im Anschluss an diesem Zeitraum werden histologische Präparate aller Gehirne angefertigt (s.2.2.8.2 Mat.& Methode, **S.56**) und es wird eine Antikörperfärbung gegen Serotonin vorgenommen. Damit sich über die konfokale Mikroskopie eine quantitative Bestimmung durchführen lässt, wird UAS-mCD8::GFP mit einer Treiberlinie mit bekanntem Expressionsmuster als Referenz verwendet. Die Linie *189Y-GAL4* exprimiert in den α -/ β -Loben der Pilzkörper, sowie im Ellipsoidkörper (ZARS T. et al., 2000) und ist daher gut als Referenz geeignet.

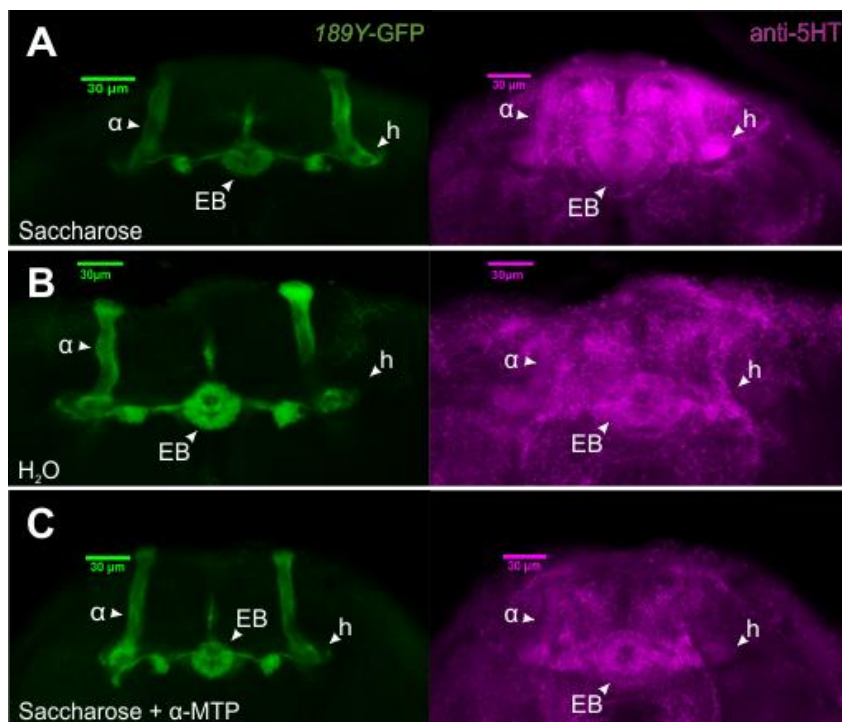


Abbildung 51: Vorkommen von Serotonin im Gehirn von drei bis fünf Tage alten *Drosophila*-Männchen des Wildstamms CS mittels Antikörperfärbung gegen 5HT und konfokaler Mikroskopie: Darstellung von 5HT in Gehirnen von *Drosophila* nach Verfütterung von Saccharose (A), H₂O (B) und Saccharose vermischt mit αMTP (C).

(A) Saccharose: Objektträger 16.04.2014; 189Y 5HT (Sacc. II); 22,5 µm virtuelle Schichtdicke; 20-faches Objektiv; Zoom: 2.

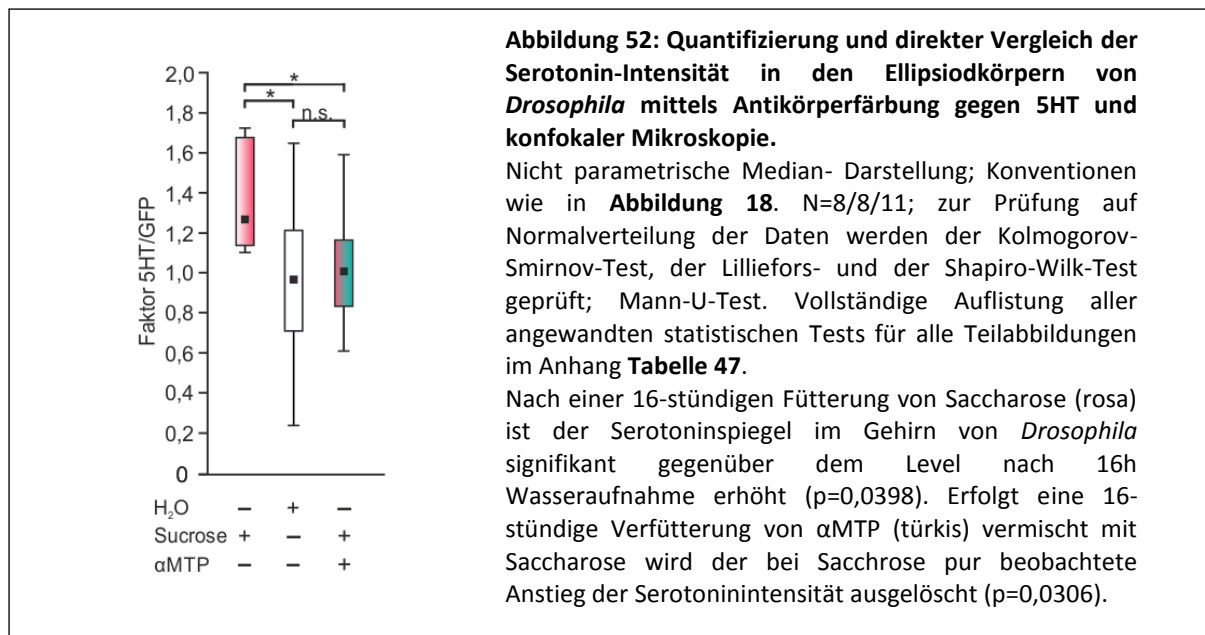
(B) H₂O: Objektträger 30.04.2014; 189Y 5HT (H₂O III); 22,5 µm virtuelle Schichtdicke; 20-faches Objektiv; Zoom: 2.

(C) Saccharose mit MTP: Objektträger 30.05.2014; 189y 5HT (Sacc. + Inhibit. V) 22,5 µm virtuelle Schichtdicke; 20-faches Objektiv; Zoom: 2.

Es ist ein leichter Unterschied zwischen der Intensitäten der Serotonin-Färbungen (α-5HT, magenta) in den Gehirnen der Tiere zu erkennen die Zuckerlösung aufgenommen haben. In ihren Köpfen ist die Färbung des 5HT deutlich stärker. Um ausschließen zu können, dass eine Diskrepanz durch verschieden gelungene Fixierung oder Antikörperfärbungen auftritt, wird zur Quantifizierung der Serotonin-Intensität jeweils das Verhältnis der GFP-Färbung (α-GFP, grün) zu der Serotonin-Färbung pro Kopf berechnet (s. **Abbildung 52**).

Die histologischen Aufnahmen der Gehirne von *Drosophila* liefern Evidenzen für einen direkten Zusammenhang des Serotoninspiegels im Kopf der Tiere mit der vorhergehenden Aufnahme von Zucker. Mittels konfokaler Mikroskopie kann die Verteilung und Intensität von Serotonin über eine Antikörperfärbung sichtbar gemacht werden (**Abbildung 51**). Es wird deutlich, dass die Fliegen, die über Nacht 16 Stunden mit Saccharose versorgt wurden, eine stärkere Intensität in der Serotoninfärbung des gesamten Gehirns aufweisen (**Abbildung 51A**) als bei Haltung auf Wasser (**Abbildung 51B**). Befindet sich αMTP in der verfütterten Saccharose-Lösung, ist ein deutlicher Unterschied der Serotoninkonzentration gegenüber den Tieren auf Saccharose ohne Inhibitor-Zusatz zu erkennen. Die durch Saccharose-bedingte Intensitätserhöhung von Serotonin ist durch den Synthese-Inhibitor wie ausgelöscht in den Aufnahmen (**Abbildung 51C**) und die Färbung gleicht der Intensität nach

Wasseraufnahme. Um eine exakte Aussage machen zu können, wird die Intensität des Serotonins in den Köpfen der Fliegen quantifiziert.

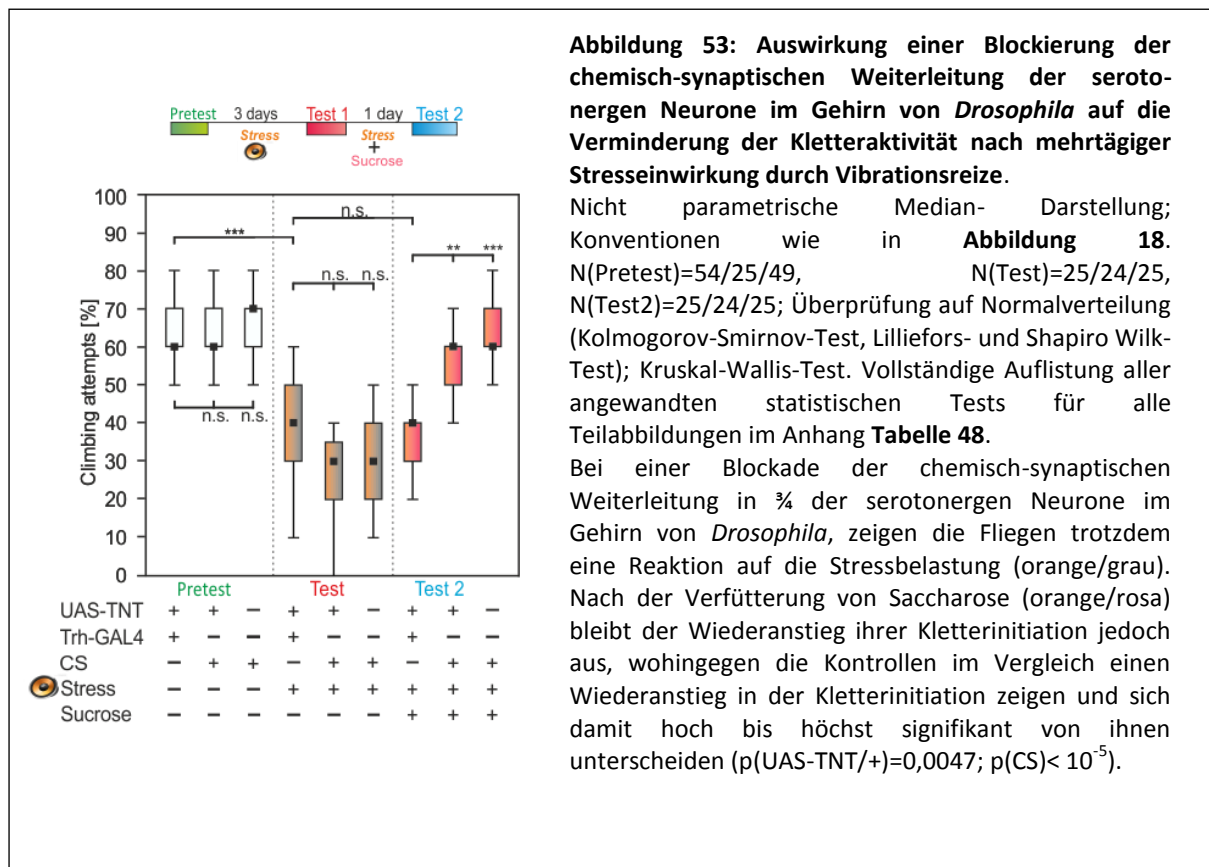


Für eine Quantifizierung der Serotonin-Intensität mittels der konfokalen Aufnahmen wird eine vorher bestimmte Schichtdicke von 22,5 μm verwendet. Die ausgemessene Fläche orientiert sich dabei an der Färbung der Gehirnstruktur des Ellipsoidkörpers in den Referenzfärbungen des Musters von 189Y-GAL4. Es wird in jedem Kopf die Schicht mit der intensivsten und ausgedehntesten Färbung des Ellipsoidkörpers festgelegt. Im Anschluss daran wird die vermessene Fläche des Ellipsoidkörpers auf die Aufnahme der Serotoninfärbung übertragen und mit dem Faktor 1,5 multipliziert, da die Fläche der 5HT-Färbung stets gleichmäßig photomechanisch um diesen Faktor vergrößert ist. Anschließend wird in beiden Bildstapeln – die jeweils 30 Schnitte umfassen – der Grauwert jedes Pixels innerhalb der Z-Projektion bestimmt und dann zu einem Voxel aufsummiert. Daran anschließend wird der Mittelwert über alle Voxel gebildet und ein Quotient aus dem Wert der 5HT-Messung und dem Wert der GFP-Messung errechnet. Aus dieser Verrechnung der gemessenen 5HT-Intensität mit der Intensität der GFP-Referenz lässt sich auf die vorliegende Quantität des Serotonins in jedem Gehirn schließen. Die Werte für die einzelnen Köpfe werden statistisch aufgetragen und verglichen (**Abbildung 52**).

In der Statistik lässt sich ablesen, dass sich die Intensität der Serotoninfärbung in den Köpfen der Fliegen, die nur mit Saccharose gefüttert werden, deutlich von den beiden anderen Gruppen unterscheidet. Sie liegt sowohl signifikant höher als in den auf Wasser gehaltenen Tieren ($p=0,0398$), als auch in den Tieren, die mit Saccharose vermischt mit α MTP gefüttert wurden ($p=0,0152$).

Aufgrund dieser Ergebnisse lässt sich der Schluss ziehen, dass durch die Aufnahme von Zucker der Serotoninspiegel im Gehirn von *Drosophila* im Bereich des Ellipsoidkörpers signifikant ansteigt. Eine Verfütterung des Inhibitors α MTP der Serotoninsynthese verhindert diesen Anstieg des Serotoninspiegels und der Serotoninlevel bleibt auf dem ursprünglichen Niveau wie ohne Verfütterung von Zusatzstoffen.

Da sich sowohl in pharmakologischen Ansätzen (**Abbildung 49**) als auch in histologischen Auswertungen (**Abbildung 51**) zeigen lässt, dass der Neurotransmitter Serotonin eine entscheidende Rolle in dem depressionsähnlichen Phänotyp von *Drosophila* spielt, wird untersucht, ob eine genetische Manipulation in der Gesamtheit aller serotonergen Neurone in den Gehirnen der Fliegen eine Auswirkung auf den depressionsähnlichen Phänotyp der Tiere hat. Hierfür wird die chemisch-synaptische Weiterleitung eines Großteils der serotonergen Neurone im Gehirn von *Drosophila* über Tetanustoxin (TNT) inhibiert (SWEENEY S. et al., 1995). Hierzu wird eine Treiberlinie von BIRMAN 2012 verwendet (*Trh-GAL4*), die 73% ± 6% aller serotonergen Neurone in den Gehirnhemisphären adressiert (PECH U. et al., 2013).



Die Tiere zeigen trotz der Blockade einer Mehrheit der serotonergen Neurone im Gehirn ein depressionsartiges Verhalten nach mehrtägigem Stresseinfluss (**Abbildung 53**). Ihre Kletterinitiationsrate unterscheidet sich hierbei nicht signifikant von der verminderten Aktivität, die die Kontrolltiere nach Stressbelastung aufweisen ($p(\text{UAS-TNT}/+)= \sim 1,0000$; $p(\text{CS})= \sim 1,0000$; Eine Treiberkontrolle war nicht möglich, da der Stamm verstarb). Ein Verhaltensunterschied ist jedoch nach einer Verfütterung von Saccharose festzustellen. In den Kontrollgruppen lässt sich der von Wildtypfliegen bekannte Wiederanstieg der Kletterinitiation beobachten; dagegen ist bei den Tieren, in deren serotonergen Neurone TNT getrieben wird, diese Aktivitätszunahme nicht vorhanden ($p(\text{UAS-TNT}/+)=0,0047$; $p(\text{CS}) < 10^{-5}$). Ihr Aktivitätslevel bleibt trotz Zuckerzugabe unverändert ($p= \sim 1,0000$).

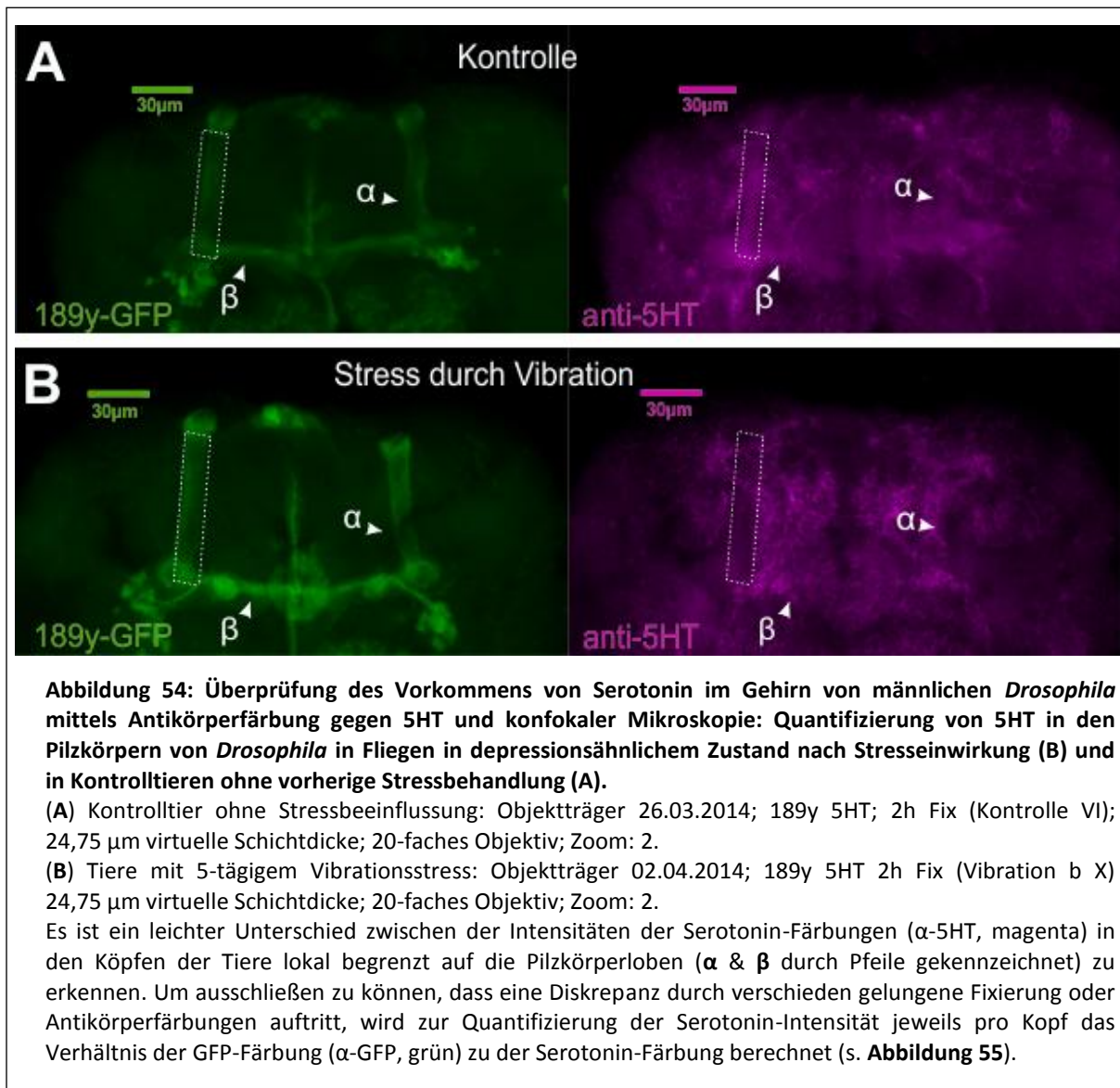
Eine Verhinderung der Ausschüttung synaptischer Vesikel aus ¾ der serotonergen Neuronen im Gehirn der Fliegen verhindert nicht die Ausbildung eines depressionsartigen

Verhaltensphänotyps, aber ein kurzfristig durch Saccharose vermittelter Wiederanstieg in der Kletterinitiation im Anschluss ist nicht mehr möglich.

3.2.4 Untersuchung der Rolle der Pilzkörper in dem depressionsartigen Verhalten von *Drosophila melanogaster*

Aufgrund des Fazits aus Kapitel 3.1.5, dass die Pilzkörper eine entscheidende Rolle in der motivationsmodulierten Aktivität von *Drosophila* spielen, liegt die Frage nahe, ob der Pilzkörper auch eine Bedeutung in der depressionsartigen Aktivitätsabnahme hat.

In Verbindung mit dem Wissen, dass der Neurotransmitter Serotonin und sein Level in den Köpfen der Fliegen ausschlaggebend in Bezug auf den depressionsartigen Phänotyp ist, bietet sich daher ein guter Ansatzpunkt, den Serotoninspiegel lokal begrenzt in den Pilzkörpern zu untersuchen. Zu diesem Zweck werden wiederum histologische Präparate der Fliegengehirne angefertigt, diesmal werden aber die Gehirne von männlichen CS Fliegen nach Stress (N=13) und von ungestressten Kontrolltieren (N=12) verwendet. Die Fliegen werden dabei direkt aus der Vibrationsapparatur entnommen und direkt in PBS überführt (s. 2.2.8.2). Die Vorgehensweise zur Vermessung der Antikörper-Intensitäten entspricht dabei der aus **Abbildung 51**. Als Referenz wird ebenfalls wieder UAS-mCD8::GFP mit der Treiberlinie 189Y-GAL4 eingesetzt, da sie sowohl als Bezugsfärbung für die Pilzkörper als auch für den Ellipsoidkörper genutzt werden kann (ZARS T. et al., 2000). Vor der Erstellung histologischer Präparate wird zudem am Vortag überprüft, ob die Tiere einen depressionsartigen Verhaltensphänotyp als Folge der Stressbelastung entwickelt haben (**Abbildung 81**).

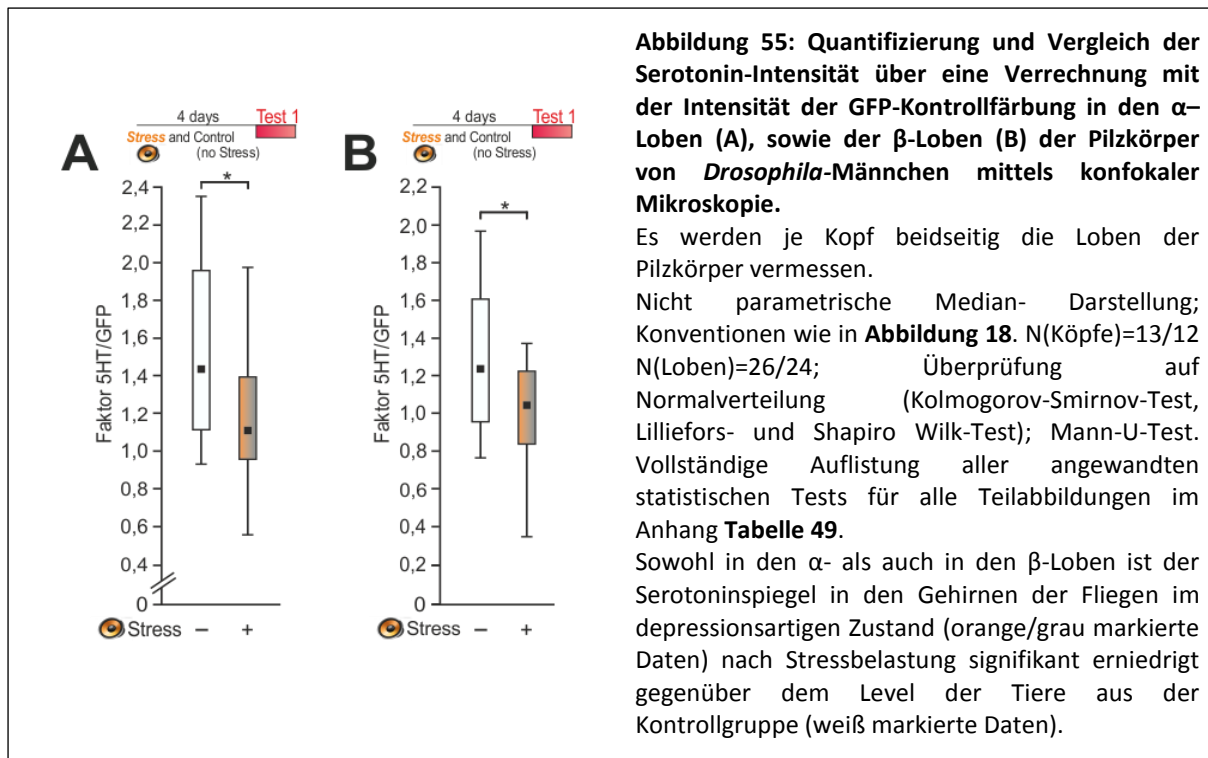


In den histologischen Bildern zeigt sich ein Unterschied in der Serotonin-Intensität in den Loben der Pilzkörper, sowohl in den α-, als auch in den β-Loben der Fliegen (**Abbildung 54**: durch Pfeile in den Abbildungen hervorgehoben).

In den Gehirnen der Tiere aus der Kontrollgruppe lässt sich in den Strukturen der Pilzkörperloben eine Antikörperfärbung gegen Serotonin erkennen (**Abbildung 54A**). Eine viertägige, für die Fliegen unkontrollierbare Stressbelastung führt dazu, dass sich diese Serotoninfärbung in den Pilzkörpern viel schwächer ausmachen lässt, die Struktur der Loben ist nur noch schwer zu erkennen (**Abbildung 54B**).

Eine konkrete, quantitative Aussage zu dieser Beobachtung wird allerdings erst durch eine Intensitätsbestimmung der Serotoninfärbung möglich, ähnlich wie in **Abbildung 52**. Es wird diesmal jeweils eine Schichtdicke von 33 Schnitten in den beiden Bildstapeln der Färbungen ausgewertet, daher entspricht die virtuelle Schichtdicke (24,75 µm) ungefähr der, die bei der Ausmessung des Ellipsoidkörpers zur Auswertung herangezogen wurde. Während die bemessene Fläche allerdings in den vorherigen Auswertungen – bedingt durch die Grundform des Ellipsoidkörpers – kreisartig ausfiel, werden bei den aktuellen Messungen

Quadrate über die Fläche gelegt, die an die Ausmaße der Pilzkörperloben angepasst sind (s. beispielhafte Markierungen in **Abbildung 54**).

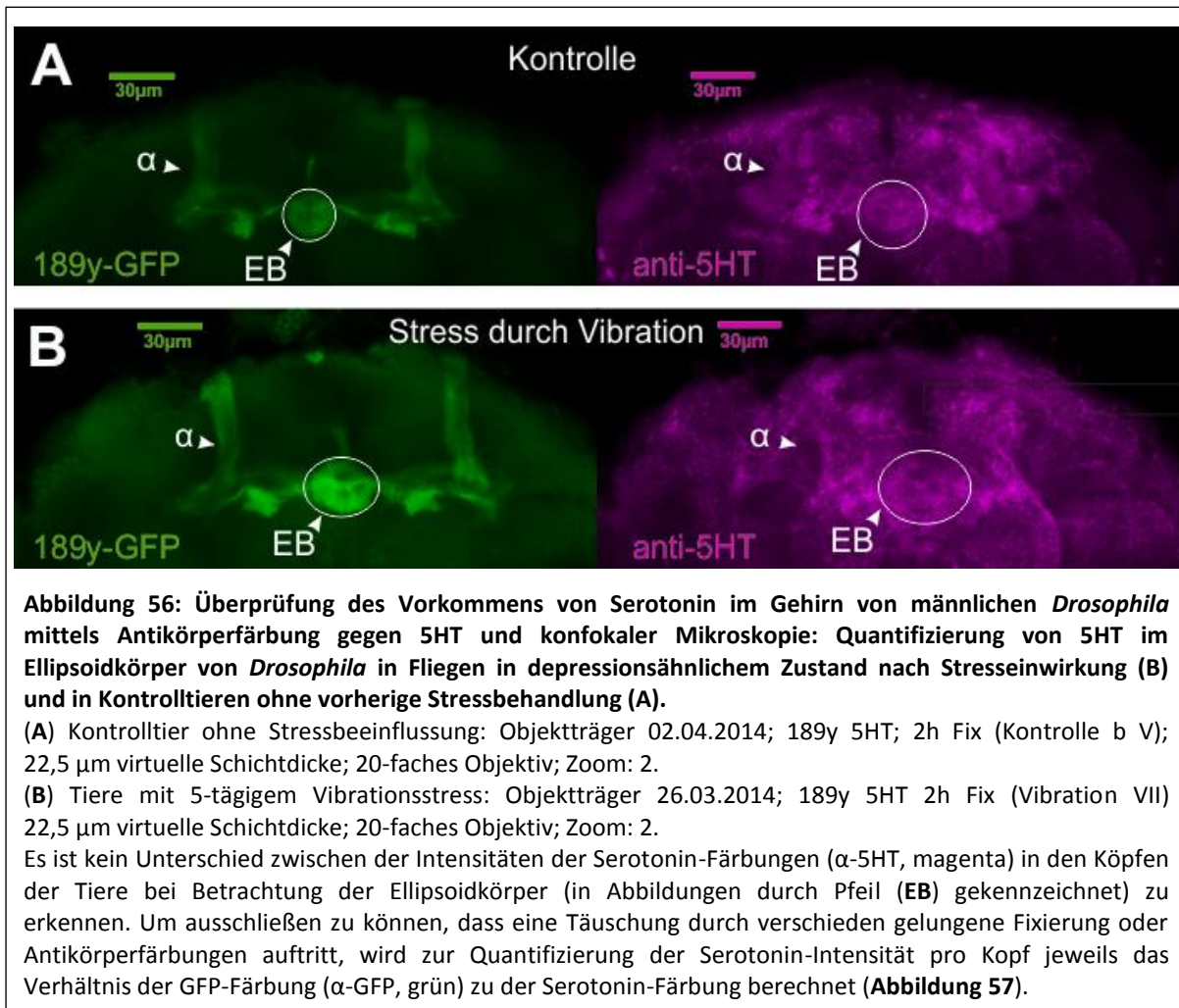


Die histologischen Auswertungen zeigen einen signifikanten Unterschied in der Intensität der gegen Serotonin gerichteten Antikörperfärbung sowohl in den α -Loben (**Abbildung 55A**), als auch in den β -Loben (**Abbildung 55B**) im Gehirn der Fliegen als Folge des Einsetzens eines depressionsartigen Zustands und verglichen mit den Kontrolltieren ohne Stresseinfluss (**A**: $p=0,0104$; **B**: $p=0,0104$). Daher werden die Rückschlüsse möglich, dass der Serotoninlevel in den Loben der Pilzkörper nach der Frustration signifikant niedriger ist, als in einem Zustand ohne Stresseinwirkung.

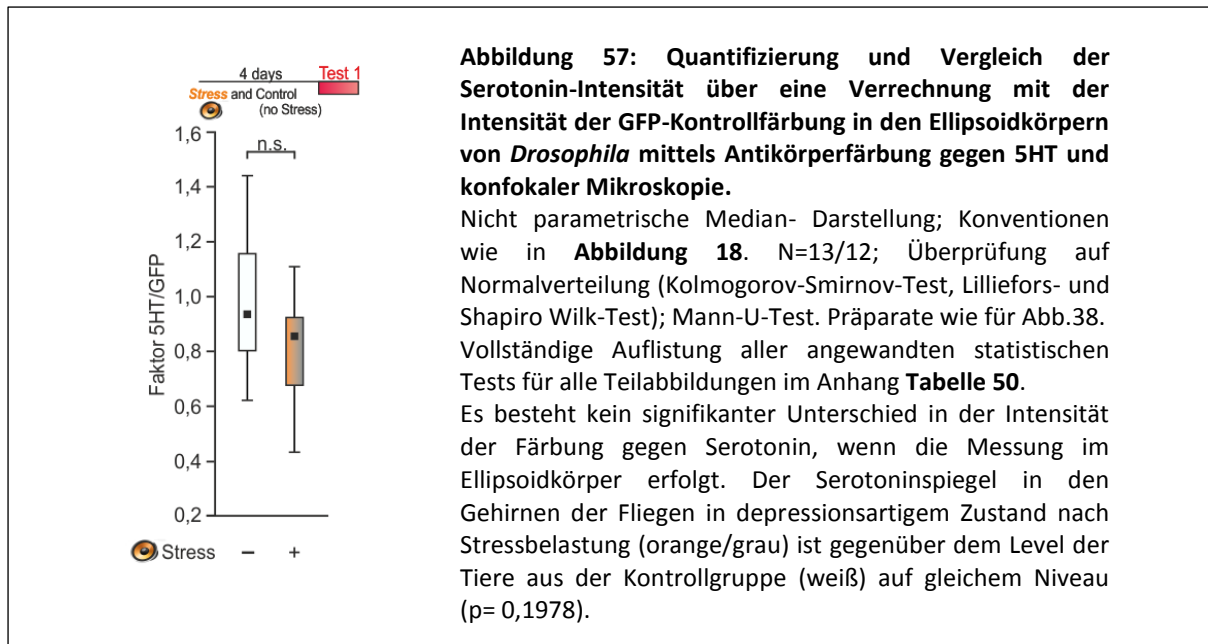
Dieses Ergebnis veranschaulicht den – durch Verhaltensexperimente bereits beobachteten – Zusammenhang, zwischen dem Level des Neurotransmitters Serotonin und einem depressionsartigen Zustand mit verminderter Kletteraktivität nach unkontrollierbarem Stress. Außerdem erbringen diese histologischen Auswertungen den Nachweis, dass der Serotoninspiegel in den Pilzkörpern sich mit dem Stresszustand der Tiere ändert.

Zur Bestätigung, dass der Serotoninspiegel in den Pilzkörpern den relevanten Einfluss auf das depressionsartige Verhalten der Tiere nach unkontrollierbaren Stressreizen hat, wird überdies zum Vergleich die Serotonin-Intensität in einer weiteren Gehirnstruktur quantifiziert. Darüber lässt sich erkennen, ob es auch in weiteren Gehirnstrukturen zu einer Veränderung des Serotoninspiegels im depressionsartigen Verhalten kommt und dieser so eventuell im gesamten Gehirn von *Drosophila* abgesenkt ist. Ist dies nicht der Fall, kann davon ausgegangen werden, dass für den depressionsähnlichen Zustand nur der Serotoninspiegel in den speziellen, strukturell begrenzten Bereichen der Pilzkörper von Belang ist.

Für diese weitere Intensitätsquantifizierung wird in denselben Köpfen wie in **Abbildung 54** aufgrund seiner klaren Struktur der Ellipsoidkörper herangezogen.



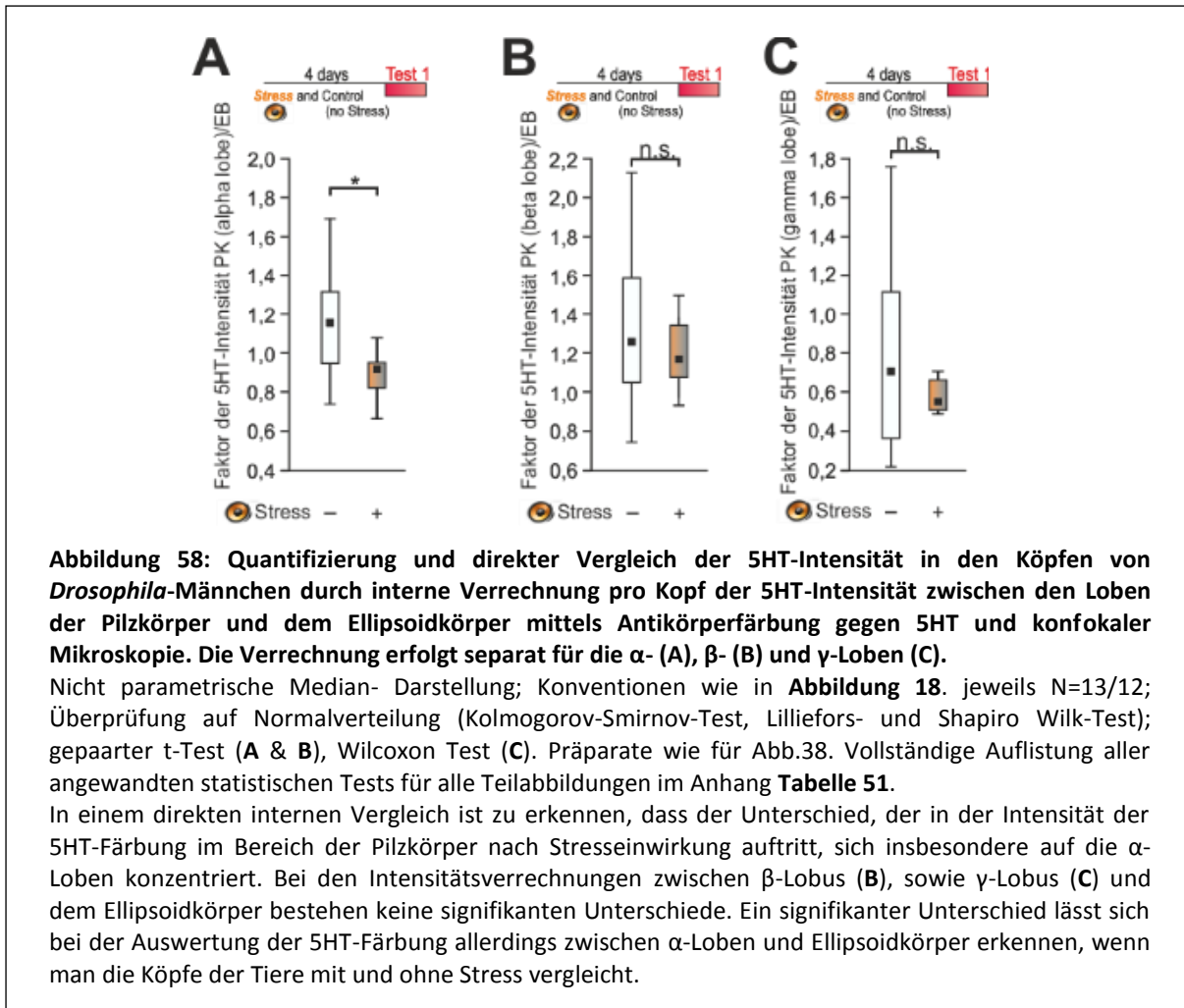
Bei Betrachtung der histologischen Bilder mit Fokus auf den Ellipsoidkörper (EB: in **Abbildung 56** mit Pfeil gekennzeichnet) lässt sich in dieser Gehirnstruktur der Fliegen bei erster Ansicht kein distinkter Unterschied in der Intensität des gegen Serotonin gerichteten Antikörpers zwischen Depressions- und Kontrolltieren ausmachen. Die Struktur des Ellipsoidkörpers ist in allen Köpfen über die Serotoninfärbung klar zu erkennen und jeweils in ihrer Intensität derer des GFP angepasst. Im Gegensatz dazu lässt sich in **Abbildung 56A** in den Köpfen der Tiere ohne Stress deutlich eine Serotonin-Färbung in den α -Loben lokalisieren (α : in **Abbildung 56** mit Pfeil gekennzeichnet). In den Gehirnen der Tiere, die über mehrere Tage unter Stresseinfluss standen, ist eine 5HT-Färbung der α -Loben nicht zu ermitteln (**Abbildung 56B**). Die β -Loben lassen sich in den gewählten Schnittstapeln (virtuelle Schichtdicke: 22,5 µm) der Köpfen nur schwer ausmachen, denn dafür liegt die gezeigte Ebene der Schnitte nicht optimal, da sie basierend auf der Färbung des Ellipsoidkörpers festgelegt wird. Um auch diese Beobachtung konkret quantitativ zu charakterisieren wird eine Intensitätsbestimmung für Serotonin im Ellipsoidkörper durchgeführt, das Vorgehen entspricht hierbei der Methodik in **Abbildung 52**.



Die statistische Auswertung der histologischen Bilder präzisiert den Eindruck, der vorher bei bloßer Betrachtung der Aufnahmen gewonnen wurde. Die Intensität der 5HT-Färbung unterscheidet sich nicht signifikant in der Gehirnstruktur der Ellipsoidkörper zwischen den Tieren beider Gruppen (**Abbildung 57**).

Es hat sich daher bestätigt, dass eine Veränderung des Serotoninspiegels im depressionsartigen Zustand auf die Struktur des Pilzkörpers lokal begrenzt ist und keine pauschale Absenkung im gesamten Gehirn der Tiere stattfindet.

Um eine Verfeinerung der histologischen Quantifizierung zu erreichen und die einzelnen Loben der Pilzkörper genauer zu betrachten, wird im Anschluss eine Verrechnung einzig der Intensitäten der 5HT-Antikörperfärbungen durchgeführt. Hierbei wird innerhalb eines *Drosophila*-Kopfes aus den jeweiligen Intensitäten der Antikörperfärbung gegen 5HT ein Quotient aus einem Pilzkörper-Lobus und dem Ellipsoidkörper gebildet. Dies ermöglicht selektiv einen internen Vergleich der kranialen Serotoninintensitäten für jede einzelne männliche CS-Fliege. Zudem können in dieser Messung die Intensität der α -, β - und γ -Loben im Verhältnis ausgewertet werden, da die GFP-Kontrollfärbung nicht berücksichtigt werden muss. Es wird pro Kopf ein Quotient der Intensität der 5HT-Antikörperfärbung zwischen α -Lobus und Ellipsoidkörper bestimmt und die Werte aller Fliegen nach Stresseinfluss mit den Werten der ungestressten Fliegen verglichen. Dieselbe Berechnung wird im Anschluss für den β - und den γ -Lobus durchgeführt.

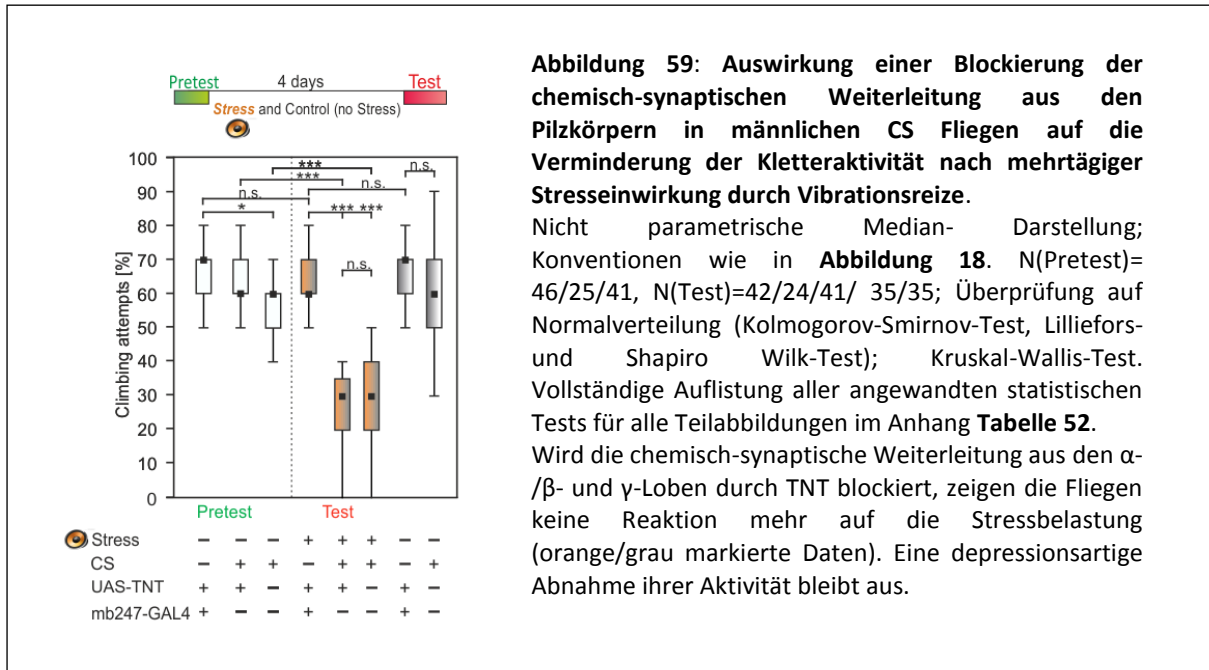


Nachdem in den vorherigen Auswertungen schon gemessen werden konnte, dass die Intensität der 5HT-Färbung im Bereich der Pilzkörper im Vergleich zu der GFP-Kontrollfärbung bei gestressten Fliegen abnimmt, kann eine selektive Verrechnung der 5HT-Intensität zwischen unterschiedlichen Gehirnstrukturen innerhalb der einzelnen Köpfe genauer Ausschluss über die 5HT Verteilung im Pilzkörper geben (**Abbildung 58**). Diese detaillierte Betrachtung hebt den α -Lobus besonders hervor. In dem direkten Vergleich zeigt sich, dass in dieser Substruktur des Pilzkörpers in Tieren mit Stresseinfluss eine signifikante Veränderung der 5HT-Intensität im Vergleich zum Ellipsoidkörper ausgelöst wird ($p=0,0319$). In den β - und γ -Loben dagegen lässt sich keine signifikante Abnahme der 5HT-Intensität im Verhältnis zum Ellipsoidkörper messen (β : $p=0,1738$, γ : $p=0,2787$).

Aufgrund dieser verfeinerten Berechnung lässt sich vermuten, dass eine Veränderung des Serotoninpiegels sich bei den Tieren im depressionsartigen Zustand nicht nur lokal auf den Bereich der Pilzkörper, sondern sogar auf die Strukturen der α -Loben beschränken lassen. Die β - und γ -Loben sind vom dem Absinken des Serotoninlevels im direkten Vergleich weitaus weniger betroffen.

Da sich mittels der histologischen Präparate belegen ließ, dass die Pilzkörper in Verbindung mit dem Serotoninspiegel zu bringen sind, ist die Frage interessant, welche Konsequenz ein Verlust der neuronalen Weiterleitung aus dieser Gehirnstruktur hervorrufen

würde. Daher wird zielgerichtet die chemisch-synaptische Weiterleitung in den α -/ β - und γ -Loben durch Expression von Tetanustoxin (TNT) mit dem Treiber *mb247-GAL4* unterbunden und untersucht, ob dieser Eingriff einen Einfluss auf das depressionsartige Verhalten der Tiere nach verstärkter Stresseinwirkung hat.



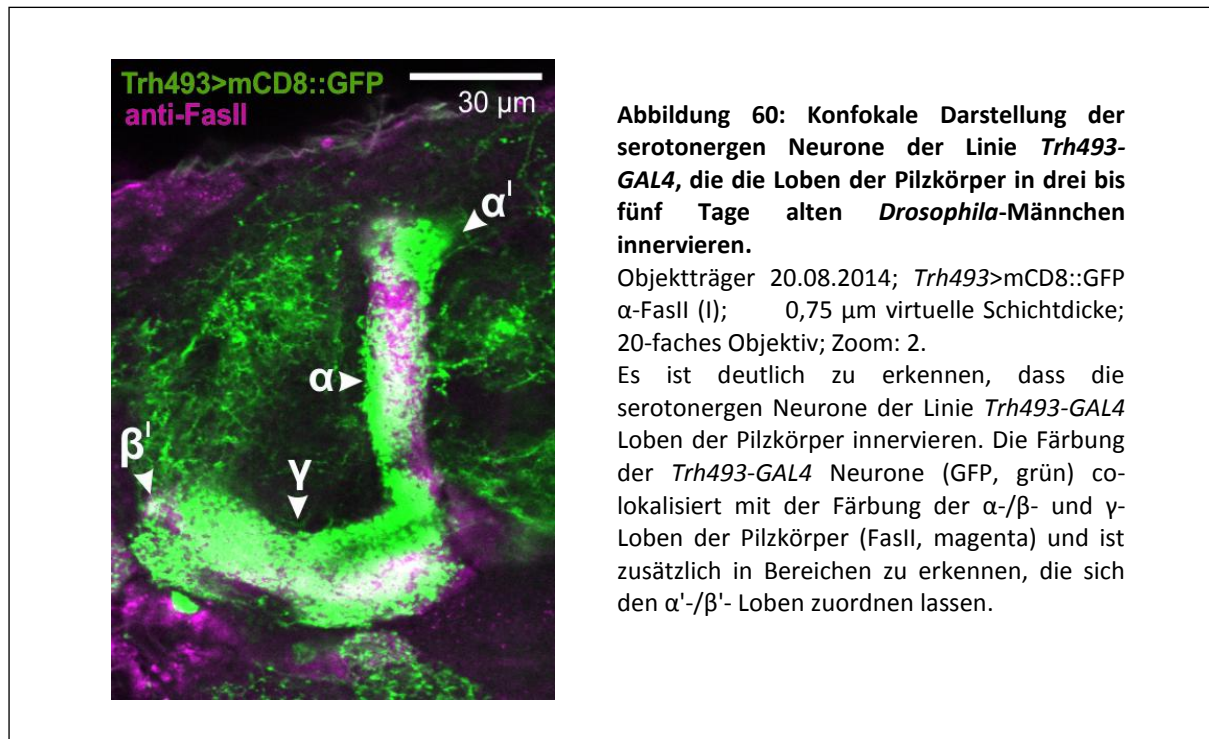
Eine Blockade der chemischen Signalweiterleitung aus den α -/ β - und γ -Loben der Pilzkörper löst eine deutliche Verhaltensänderung der CS Fliegen in ihrer Reaktion auf mehrtägige Stressbelastung im Vergleich zu dem wildtypischen Verhalten aus (**Abbildung 59**). Es ist zu beobachten, dass die Kletterinitiation an der 4,5 mm Lücke trotz der andauernden Stresseinwirkung nicht abnimmt, die Tiere zeigen im Gegensatz zu den Tieren der Kontrollen einen unverändert hohen Aktivitätslevel (jeweils $p=10^{-5}$).

Zusätzlich ist in der Abbildung zu erkennen, dass die Fliegen, deren Signaltransmission der Pilzkörperloben gestört ist, schon im Vortest eine signifikant erhöhte Kletteraktivität aufzeigen ($p=0,0355$), ohne dass äußere Faktoren einwirken. Dies kann als Bestätigung der Beobachtungen aus vorhergehenden Testreihen (s. **Abbildung 31**) angesehen werden.

Diese Ergebnisse erhärten die Vermutung, dass die Pilzkörper eine entscheidende Rolle in der Modulation des depressionsartigen Verhaltens bei *Drosophila melanogaster* in Verbindung mit dem Neurotransmitter Serotonin spielt.

Die Verbindung zwischen den Pilzkörpern und dem Serotoninspiegel in den Gehirnen der Tiere als Grundlage des depressionsartigen Verhaltens lenkt das Augenmerk der folgenden Experimente auf die serotonergen Neurone, die die Pilzkörper innervieren. Hierfür kann auf eine Treiberlinie zurückgegriffen werden, die nur 25-30 serotonerge Neurone im Gehirn von *Drosophila* treibt. In vorhergehenden Studien ist beschrieben, dass diese *Trh493-GAL4* Linie ausschließlich serotonerge Neurone treibt, die größtenteils den Pilzkörper innervieren (LEE P. et al., 2012). Diese Aussage wird mit Hilfe von Antikörperfärbungen

überprüft; hierbei wird neben GFP zur Dokumentation des Musters der Treiberlinie, ein Antikörper gegen Fasziklin-II (FasII) eingesetzt, da FasII ein Zell-Adhäsionsprotein ist, das stark in den α -/ β -Loben und schwächer in den γ -Loben der Pilzkörper exprimiert wird (Xu S. et al., 2014).



Nachdem sich anhand der vorgenommenen Antikörperfärbungen gegen FasII illustrieren lässt, dass in drei bis fünf Tage alten Männchen die gewählte Linie *Trh493-GAL4* tatsächlich Neuronen treibt, die unterschiedliche Lobensysteme des Pilzkörpers innervieren (**Abbildung 60**), kann diese Linie für weitere Versuchsreihen eingesetzt werden. Bei der Betrachtung von **Abbildung 60** und **Abbildung 82** lässt sich vermuten, dass die serotonergen Neurone der *Trh493-GAL4*-Linie die α - und γ -Loben stark innervieren, während die β -Loben eher schwächer innerviert werden. (Weitere Abbildungen der Antikörperfärbungen in **Abbildung 82**, dort auch Antikörper-Gegenfärbung mit α -5HT).

Nach der Darstellung des Expressionsmusters der Linie *Trh493-GAL4* ist nun von Interesse, welchen Einfluss diese Neurone bei Manipulation ihrer Innervierung auf den depressionsartigen Zustand der Tiere nach Stresseinfluss ausüben. Um dieser Frage auf den Grund zu gehen, können die Neurone direkt über den Einsatz ausgewählter UAS-Linien manipuliert werden. Primär erfolgt eine Untersuchung, inwiefern sich die Blockade der neuronalen Transmission dieser Neurone auf den depressionsartigen Zustand auswirkt. Zu diesem Zweck wird erneut über die gezielte Expression von Tetanustoxin (TNT) eine chemisch-synaptische Weiterleitung aus den *Trh493*-Neuronen verhindert. Anschließend lässt sich die Reaktion dieser genetisch manipulierten Tiere auf die Stresseinwirkung quantifizieren.

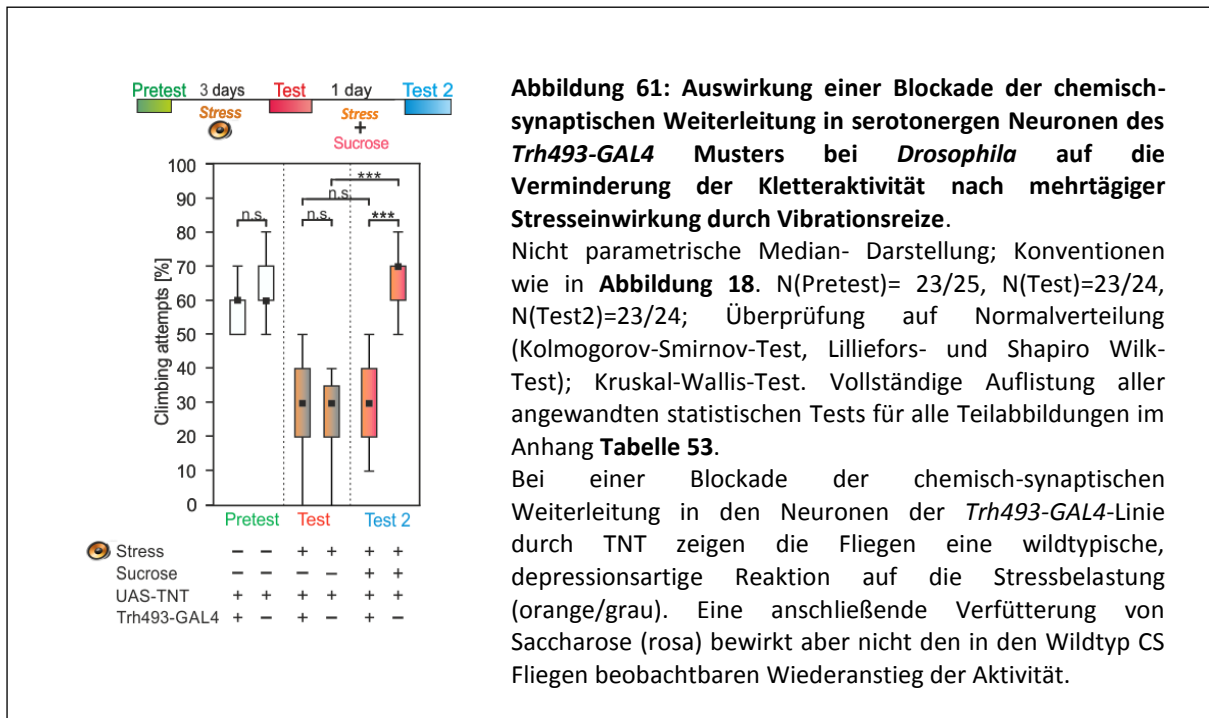


Abbildung 61: Auswirkung einer Blockade der chemisch-synaptischen Weiterleitung in serotonergen Neuronen des *Trh493-GAL4* Musters bei *Drosophila* auf die Verminderung der Kletteraktivität nach mehrtägiger Stresseinwirkung durch Vibrationsreize.

Nicht parametrische Median- Darstellung; Konventionen wie in **Abbildung 18**. N(Pretest)= 23/25, N(Test)=23/24, N(Test2)=23/24; Überprüfung auf Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test, Lilliefors- und Shapiro Wilk-Test); Kruskal-Wallis-Test. Vollständige Auflistung aller angewandten statistischen Tests für alle Teilabbildungen im Anhang **Tabelle 53**.

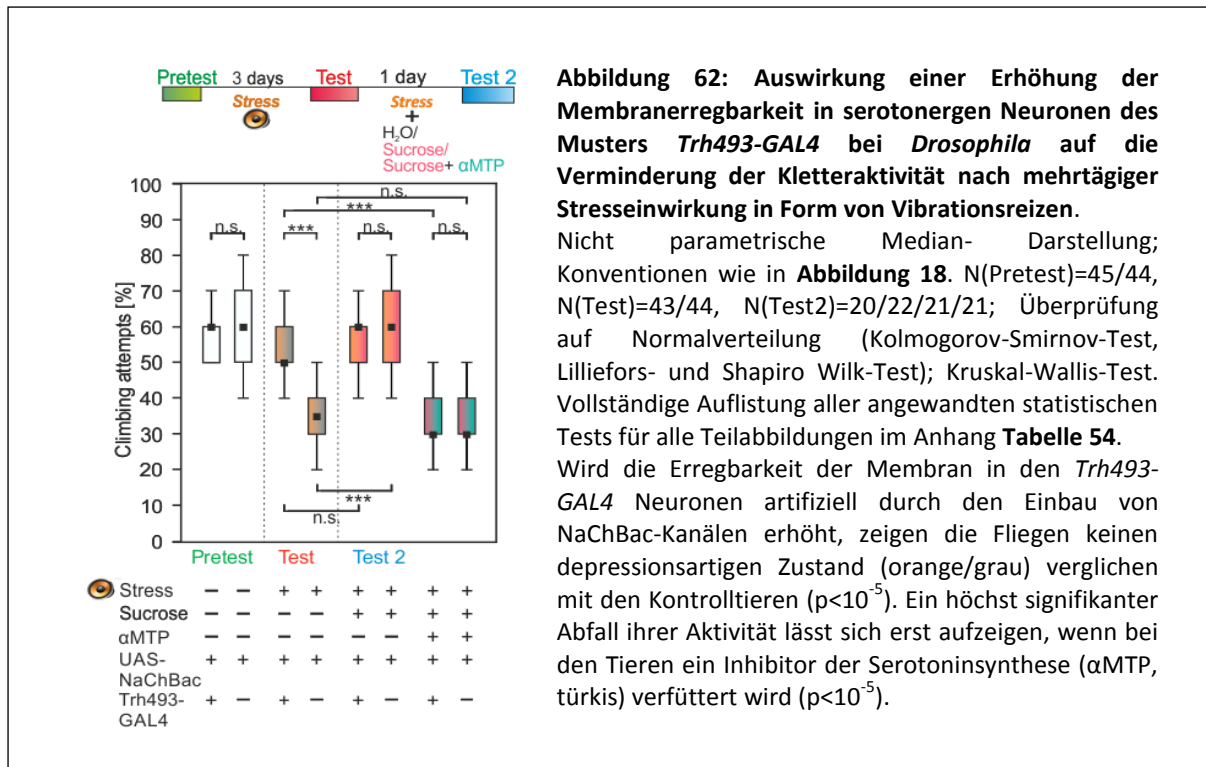
Bei einer Blockade der chemisch-synaptischen Weiterleitung in den Neuronen der *Trh493-GAL4*-Linie durch TNT zeigen die Fliegen eine wildtypische, depressionsartige Reaktion auf die Stressbelastung (orange/grau). Eine anschließende Verfüterung von Saccharose (rosa) bewirkt aber nicht den in den Wildtyp CS Fliegen beobachtbaren Wiederanstieg der Aktivität.

Sobald die serotonergen Neuronen der *Trh493-GAL4*-Linie aufgrund einer Blockade ihrer chemisch-synaptischen Transmission die Loben der Pilzkörper nicht mehr innervieren können, lässt sich eine Veränderung des Verhaltens der Fliegen in Bezug auf die Wirkung von Zucker auf ihren depressionsartigen Zustand feststellen (**Abbildung 61**).

Zunächst ist keine Veränderung zu bemerken, denn auf die unkontrollierbaren Stressreize reagieren sie mit der gewohnten Aktivitätsreduzierung; ihre Kletterinitiation an der 4,5 mm Lücke sinkt hoch signifikant ab ($p=0,0031$). Die Verhaltensdifferenz tritt erst nach der Verfüterung von Saccharose (16 h) zu Tage. Bei den Fliegen der Kontrolle stellt sich nach der Saccharose-Verfüterung wieder ihre ursprüngliche Kletteraktivität ein, während bei den Tieren, bei denen die chemische Weiterleitung der *Trh493*-Neurone durch TNT stillgelegt ist, dieser Wiederanstieg ihrer Kletteraktivität ausbleibt ($p=1,0000$). Die Fliegen verharren in ihrem depressionsartigen Zustand.

Die Neurone im Pilzkörper scheinen über eine Innervierung von serotonergen Neuronen nicht nur die depressionsartige Aktivitätsverminderung in den Tieren zu vermitteln, sie bekommen auch einen direkten Eingang, der dann eine Wiederbelebung der Aktivität durch Saccharose zur Folge hat.

In Anknüpfung an die vorhergehende Testreihe erfolgt das nächste Experiment entgegengesetzt. Anstelle einer Stilllegung der serotonergen Neurone wird die Erregbarkeit der über *Trh493-GAL4* adressierten Neurone durch den Einbau von bakteriellen Natrium-Kanälen (UAS-NaChBac) erhöht.



Das Verhalten der Tiere im Stresszustand ändert sich durch das Einbringen von NaChBac-Kanälen in die *Trh493*-Neurone stark, da die Tiere nach mehrtägiger Stressbelastung keinen Aktivitätsverlust erkennen lassen (**Abbildung 62**); ihre Kletteraktivität unterscheidet sich weder von ihrem Ausgangszustand ($p \approx 1,0000$), noch von ihrer Aktivität nach Verfütterung von Saccharose (rosa in Abb., $p \approx 1,0000$). Bei den gleichzeitig getesteten Tieren der Kontrollkreuzung lässt sich dagegen der bekannte höchst signifikante Abfall in der Kletteraktivität nach Stress dokumentieren ($p < 10^{-5}$) und nach Verfütterung von Saccharose hebt sich ihr Aktivitätslevel wieder und erreicht damit wieder das Ausgangsniveau ($p \approx 1,0000$).

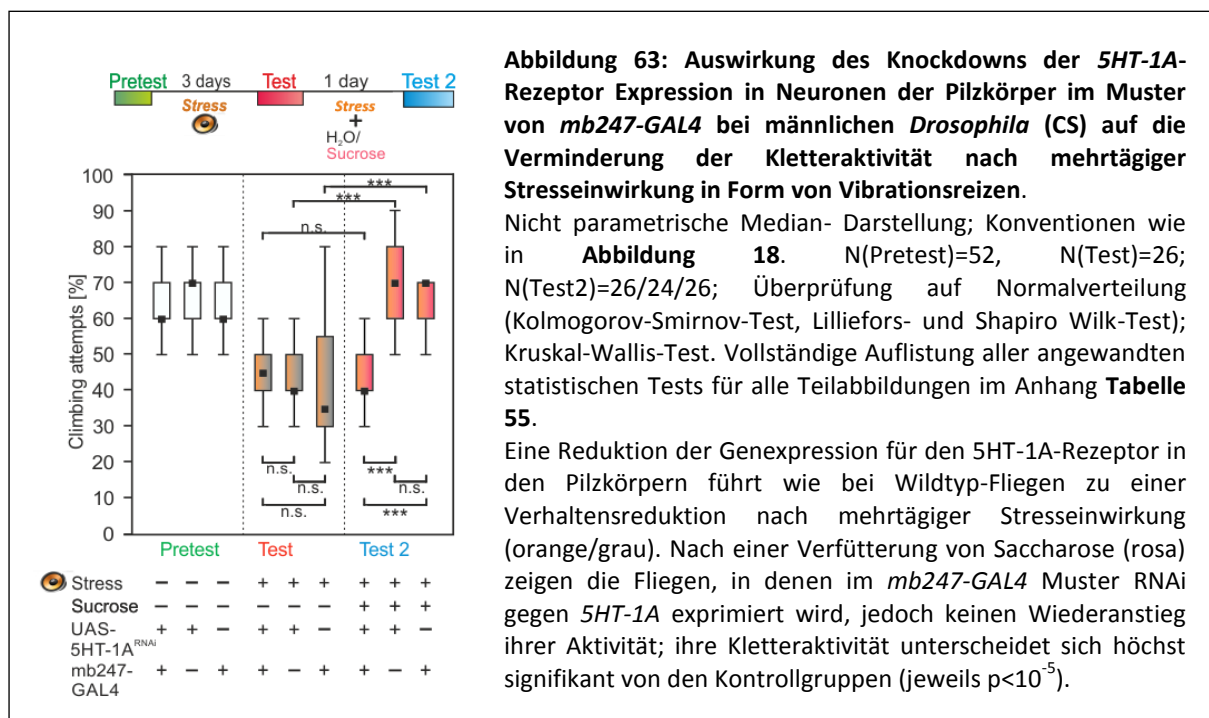
Es fällt allerdings sofort auf, dass eine Verfütterung von α MTP diesen Unterschied in der Reaktion auf den Stresseinfluss aufhebt. Die Unterdrückung der Serotoninsynthese durch den Inhibitor bewirkt in Kombination mit den Stressreizen bei allen Fliegen eine höchst signifikante Verminderung ihrer Kletteraktivität an der 4,5 mm Lücke (jeweils $p < 10^{-5}$). Die Tiere, in deren *Trh493*-Neurone der Einbau der NaChBac-Kanäle erfolgte, unterscheiden sich daher in ihrem depressionsartigen Zustand nicht mehr von den Kontrolltieren ($p \approx 1,0000$).

Diese Beobachtungen in Kombination mit **Abbildung 61** lassen darauf schließen, dass die Belohnungsinformation des Zuckers über Serotonin vermittelt wird und ein Inhibitor der Serotoninsynthese daher diesen Informationsfluss verhindern kann. Die Serotoninzufuhr zu den Pilzkörpern moduliert dementsprechend das Ausmaß des depressionsartigen Zustands und die innervierenden, serotonergen Neurone spielen die entscheidende Rolle in dieser Zustandsvermittlung. Mittels dieser Neurone lässt sich sowohl das Ausmaß der depressionsartigen Aktivität regulieren, als auch die Aktivitätszunahme nach Saccharose-Zugabe.

3.2.5 Untersuchung der Rolle der Serotoninrezeptoren 5HT-1A und 5HT-1B in den Pilzkörpern für das depressionsartige Verhalten von *Drosophila melanogaster*

Da die serotonergen Neurone, die die Pilzkörper von *Drosophila* innervieren, das depressionsartige Verhalten der Tiere modulieren, wird nun untersucht, wie die Vermittlung des Serotoninspiegels auf zellulärer Ebene abläuft. Es lässt sich annehmen, dass diese Perzeption des Neurotransmitters über membrangebundene Rezeptoren abläuft. Es ist aus vorhergehenden Studien bekannt, dass die *Drosophila* Serotoninrezeptortypen 5HT-1A und 5HT-1B in den Pilzkörpern lokalisiert sind (YUAN Q. et al., 2006). Infolgedessen konzentrieren sich die nachfolgenden Testreihen auf eine Rolle dieser beiden Rezeptortypen für das depressionsartige Verhalten in *Drosophila melanogaster*.

In einem ersten Ansatz wird die Rolle der 5HT-1A-Rezeptoren in den Pilzkörpern studiert. Für eine Beurteilung ihrer möglichen Mitwirkung in dem depressionsartigen Verhalten wird die Expression des Rezeptortyps 5HT-1A über den Einsatz einer UAS-5HT-1A-RNAi-Linie (Ni J. et al., 2009) in den Pilzkörpern blockiert. Hierbei kommt es durch die gezielte, artifiziell hervorgerufene RNA-Interferenz zu einem Knockdown der ausgelesenen genetischen Information, der sich über die entsprechende GAL4-Treiberlinie (hier *mb247-GAL4*) auf die Pilzkörper beschränken lässt.

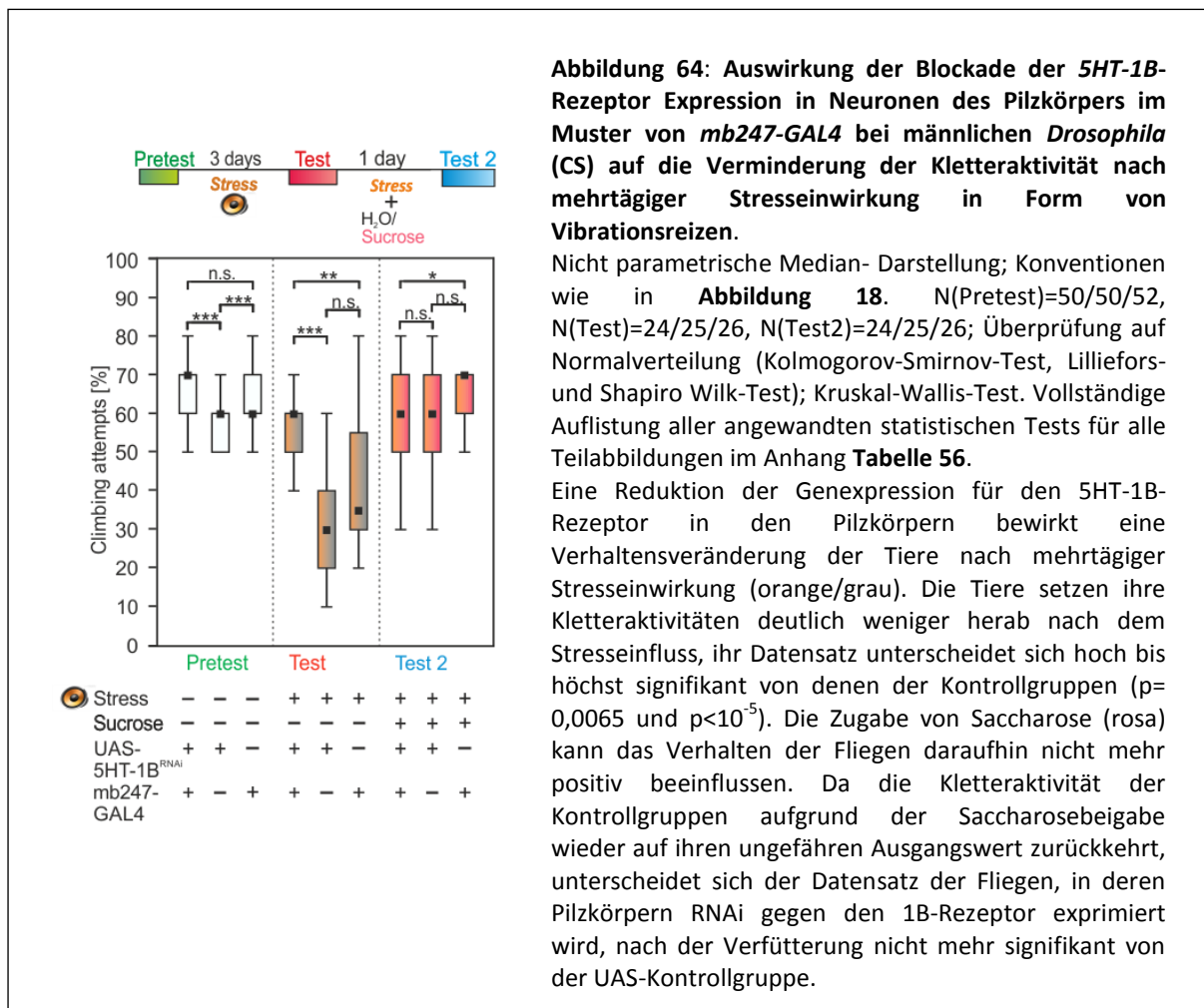


Eine Unterdrückung der Expression von *5HT-1A* in den α -/ β - und γ - Loben des Pilzkörpers (*mb247-GAL4*) mittels RNAi führt unverändert zu einem depressionsartigen Verhalten an der 4,5 mm Lücke nach mehrtägiger Stresseinwirkung ($p < 10^{-5}$; **Abbildung 63**). Die Tiere zeigen dieselbe höchst signifikante Verminderung ihrer Kletteraktivität wie die Fliegen der Kontrollgruppen (jeweils $p = -1,0000$).

Ein Unterschied wird erst bei der Verfütterung von Saccharose nach viertägigem Stress deutlich. Wird im Anschluss an die 16-stündige Zuckeraufnahme die Aktivität der *mb247>5HT-1A^{RNAi}*-Tiere überprüft, ist kein Wiederanstieg der Aktivität zu beobachten; sie verbleiben in einem Zustand der verminderten Aktivität, der sich nicht von dem Test am Vortag unterscheidet ($p=1,0000$). Dies impliziert, dass sich die *mb247>5HT-1A^{RNAi}*-Tiere nach der Zuckeraufnahme höchst signifikant in ihrer Kletteraktivität von den beiden Kontrollgruppen unterscheiden (UAS-5HT-1A^{RNAi}/+: $p<10^{-5}$; +/*mb247-GAL4*: $p<10^{-5}$), da deren Kletterbemühungen durch Zucker bedingt wieder höchst signifikant ansteigen.

Hierdurch wird deutlich, dass ein Verlust der 5HT-1A-Rezeptoren in den Pilzkörpern von *Drosophila* keinen Einfluss den Weg in das depressionsartige Verhalten zeigt. Dieser RNA-Knockdown hat allerdings zur Folge, dass die Aktivitätswiederbelebung bedingt durch Saccharose in den Fliegen ausbleibt; der 5HT-1A-Rezeptor scheint demnach eine Rolle in dem Aktivitätswiederanstieg nach Saccharose-Verabreichung zu spielen.

Nach Klärung des Einflusses der 5HT-1A-Rezeptoren, wird zum Vergleich die Funktion des 5HT-1B-Rezeptors im depressionsartigen Verhalten überprüft. Daher wird im nächsten Schritt die Expression des Rezeptortyps 5HT-1B mittels der UAS-5HT-1B-RNAi-Linie (YUAN Q. et al., 2005) in den Pilzkörpern still gelegt. Dabei wird die gleiche GAL4-Treiberlinie wie in der vorherigen Testreihe (*mb247-GAL4*) verwendet, um in den gleichen Kompartimenten des Pilzkörpers zu arbeiten.



Die Verhaltensreaktion auf anhaltenden Stress bei einem Knockdown der Expression des 5HT-1B-Rezeptors in den Pilzkörpern von *Drosophila* unterscheidet sich eindeutig von dem Ergebnis der vorhergehenden Versuchsreihe zum 5HT-1A-Rezeptor. Eine Unterdrückung der 5HT-1B-Expression über RNAi führt dazu, dass die Fliegen annähernd keine Aktivitätsabschwächung als Reaktion auf den viertägigen unkontrollierbaren Stress zeigen (**Abbildung 64**). Verglichen mit der UAS- und der GAL4-Kontrollgruppe, die beide ein wildtypisch-depressionsartig vermindertes Verhalten aufzeigen, verbleibt ihre Aktivität auf einem unverändert hohen Level (UAS-5HT-1B^{RNAi}/+: $p < 10^{-5}$; +/mb247-GAL4: $p = 0,0065$). Dies lässt darauf schließen, dass die Vermittlung des Stresses an die Pilzkörperneurone nicht wie in Wildtypfliegen abläuft.

Eine anschließende Verfütterung von Saccharose verändert demzufolge das Verhalten der Tiere ebenfalls nicht ($p = 1,0000$), denn ihr Aktivitätslevel liegt bereits auf Ausgangsniveau.

Ausgehend von diesen beiden RNAi-Versuchsreihen lässt sich festhalten, dass sich ein Verlust von jeweils einem der beiden unterschiedlichen Rezeptortypen in den Loben der Pilzkörper auf verschiedene Weise auswirkt. Während ein Knockdown der 5HT-1A-Rezeptoren die Vermittlung des Saccharose vermittelten Aktivitätsanstiegs verhindert, bewirkt ein Verlust der 5HT-1B-Rezeptoren ein Ausbleiben des direkten depressionsartigen Antwortverhaltens bei unkontrollierbarem Stress.

Nach der Beobachtung, dass die Aktivität der 5HT-1B-Rezeptoren entscheidend für die Entstehung des depressionsartigen Zustands in *Drosophila* ist, besteht großes Interesse an einer Lokalisierung dieses Rezeptors in den Pilzkörpern. Mit dieser Zielsetzung werden immunhistologische Präparate angefertigt, um eine Aussage zur Lokalisation machen zu können. Es werden verschiedene Antikörper zur Gegenfärbung eingesetzt, um die Neurone genauer lokalisieren zu können. Einerseits erfolgt eine Gegenfärbung mit Fasziklin-II (FasII), da das Zell-Adhäsionsprotein stark in den α -/ β -Loben und schwach in den γ -Loben exprimiert wird; zudem wird Trio verwendet, da dieses Protein der Dbl-Familie stark in den α' -/ β' -Loben, sowie in den γ -Loben der Pilzkörper exprimiert wird (Xu S. et al., 2014). Außerdem wird noch eine Gegenfärbung mit einem Antikörper gegen 5HT vorgenommen, um zu prüfen, ob die 5HT-1B-Rezeptoren im Muster der 5HT-Färbung liegen und somit eine direkte Einwirkung des Neurotransmitters gegeben sein kann.

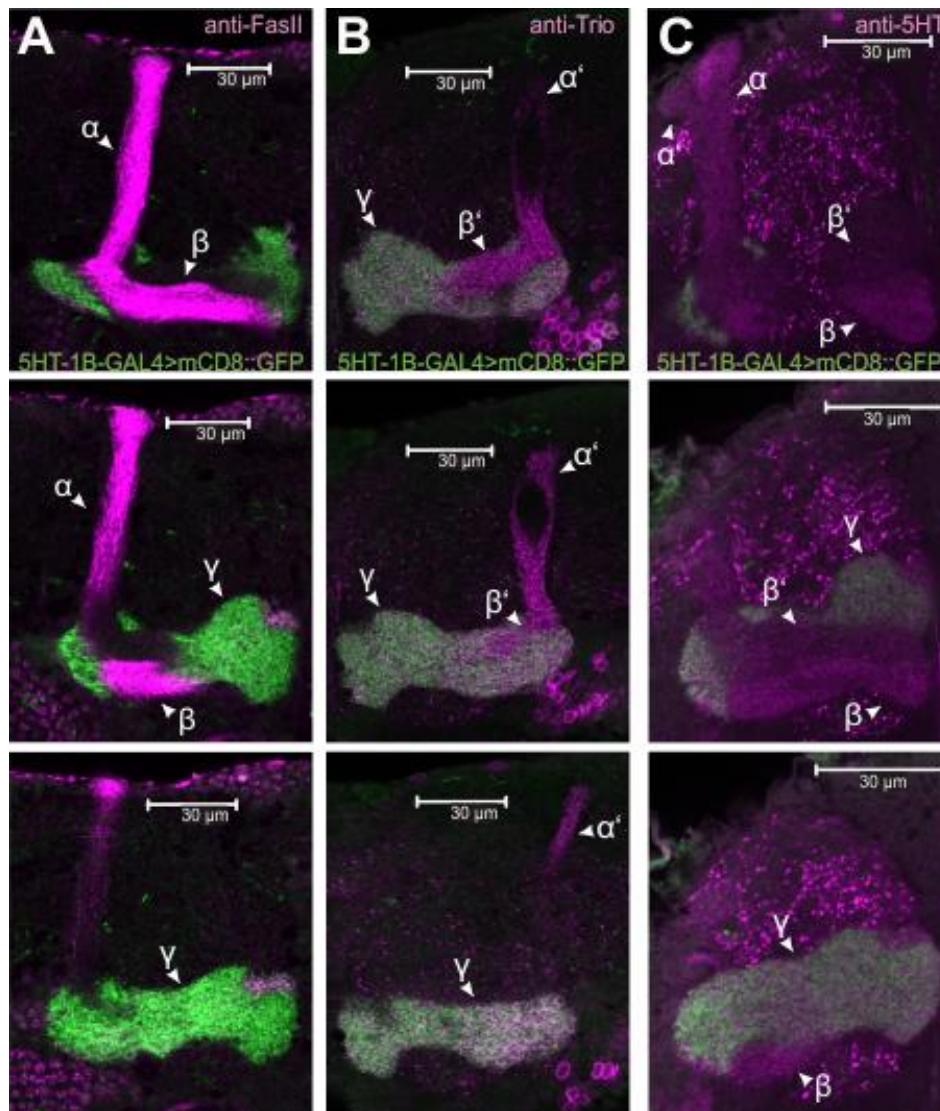


Abbildung 65: Validierung der Lokalisation des 5HT-1B-Rezeptors in den Pilzkörpern von drei bis fünf Tage alten CS Fliegen mittels Antikörperfärbungen und konfokaler Mikroskopie mittels der Linie 5HT-1B-GAL4.

(A) Objektträger 30.03.2015; mCD8::GFPx5HT-1B-GAL4/ α FasII (VI);
0,75 μ m virtuelle Schichtdicke; 63-faches Objektiv; Zoom: 1.

(B) Objektträger 30.03.2015; mCD8::GFPx5HT-1B-GAL4/ α Trio (IV);
0,75 μ m virtuelle Schichtdicke; 63-faches Objektiv; Zoom: 1.

(C) Objektträger 30.03.2015; mCD8::GFPx5HT-1B-GAL4/ α 5HT (III);
0,75 μ m virtuelle Schichtdicke; 63-faches Objektiv; Zoom: 1.

Aufgrund der unterschiedlichen Antikörper-Gegenfärbungen lässt sich das Muster der 5HT-1B-GAL4-Linie (α -GFP, grün) strukturell erkennen. Eine Co-Lokalisation ist in (A) nur sehr schwach auszumachen, da FasII (α -FasII, magenta) in den γ -Loben nur sehr schwach exprimiert ist; es ist gut zu erkennen, wie der β -Lobus dorsal zum γ -Lobus gelegen ist. In (B) ist eine stärkere Co-Lokalisation zu sehen, da Trio (α -Trio, magenta) in den γ -Loben exprimiert wird; α' -/ β' -Loben sind zusätzlich gut zu erkennen. In (C) wird anschaulich, dass Serotonin (α -5HT, magenta) in allen Loben des Pilzkörpers zu finden ist, in den γ -Loben ist daher auch die Co-Lokalisation der beiden Färbungen deutlich zu sehen.

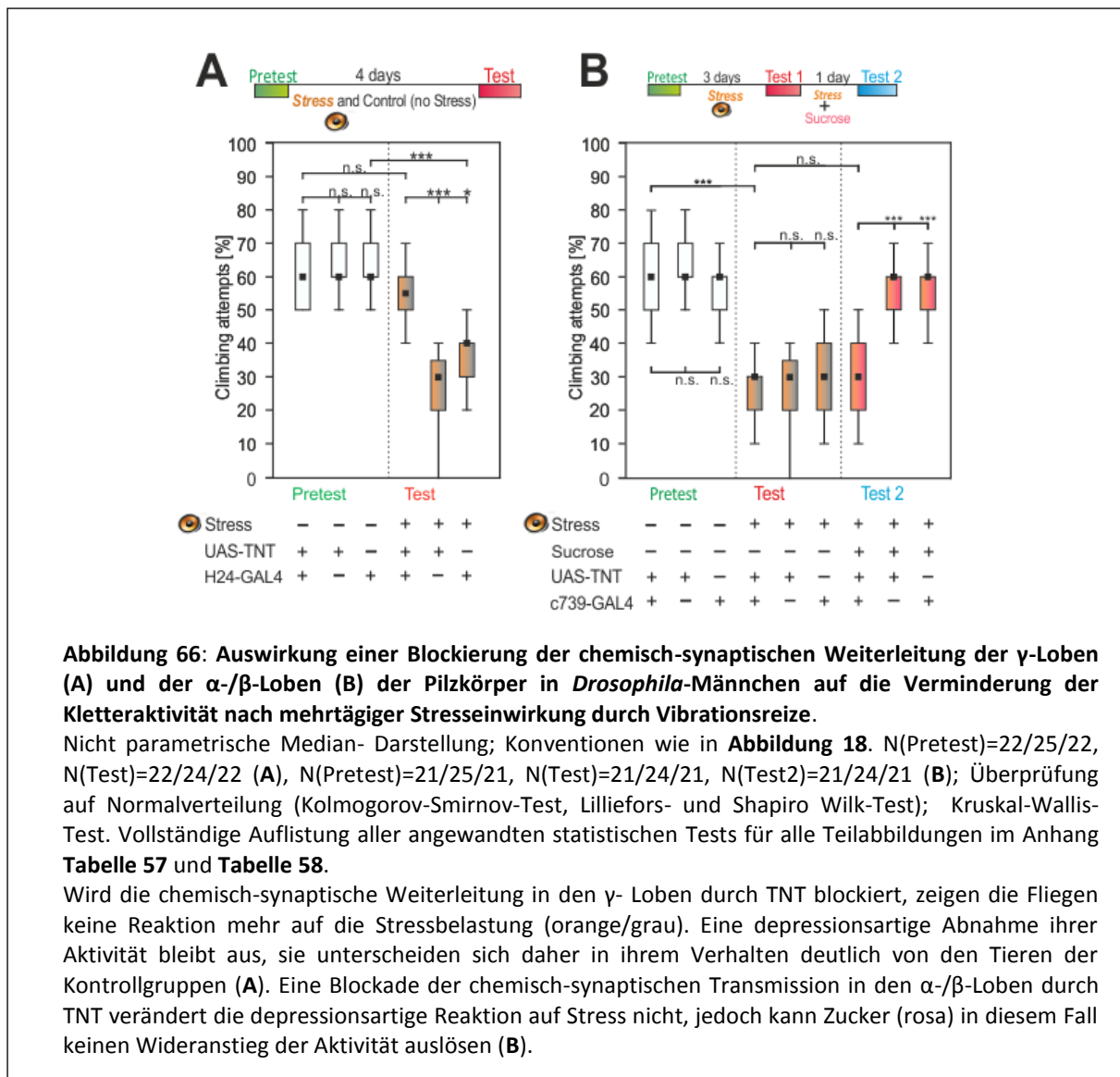
Es lässt sich eine deutlich abgegrenzte Lokalisierung der 5HT-1B-Rezeptoren in den γ -Loben der Pilzkörper bei *Drosophila melanogaster* beobachten (Abbildung 65); dieses Ergebnis entspricht der Lokalisation, die in der Literatur beschrieben ist (GNERER J. et al., 2015).

Sowohl in den α -/ β -, als auch in den α' -/ β' -Loben ist keine Co-Lokalisation zu erkennen, einzig in den γ -Loben sticht die GFP-Färbung heraus.

Analog zu den Ergebnissen in Bezug auf den 5HT-1B-Rezeptor sollte eine immunhistologische Färbung der *5HT-1A-GAL4*-Linie vorgenommen werden. Dabei lassen sich aber trotz mehrerer Ansätze mit Veränderungen in den Antikörper-Konzentrationen, Austausch des UAS-GFP-Stamms bis hin zu Präparationen der larvalen Speicheldrüsen keine Färbungen erzielen. Der Vermutung nach ist die Färbung der Linie zu schwach, da in den Köpfen der Tiere generell kaum eine Färbung auszumachen ist. Eine Erklärung für den Misserfolg in den Antikörper-Färbungen für diese Linie konnte allerdings nicht gefunden werden. Daher wird sich in der Lokalisation des 5HT-1A-Rezeptors auf die Ergebnisse von GNERER J. et al. berufen, die zeigen konnten, dass der 5HT-1A-Rezeptor ausschließlich in den α -/ β -Loben der Pilzkörper zu finden ist.

Die Lokalisation der beiden Rezeptortypen legt dar, dass sie räumlich getrennt in den Pilzkörpern exprimiert werden. Während der 5HT-1B-Rezeptortyp in den γ -Loben zu finden ist, wird der 5HT-1A-Rezeptortyp ausschließlich in den α -/ β -Loben exprimiert.

Da die beiden Rezeptortypen sich distinkten Loben der Pilzkörper zuordnen lassen, könnte dies bedeuten, dass eine Manipulation der synaptischen Weiterleitung dieser Loben-Subsets über TNT die Verhaltensergebnisse eines Knockdowns der jeweiligen 5HT-Rezeptoren widerspiegelt. Zu diesem Zweck wird die chemisch-synaptische Transmission der γ -Loben (*H24-GAL4*) und α -/ β -Loben (*c739-GAL4*) durch eine Expression von Tetanustoxin unterbunden und überprüft, ob die Reaktion der Tiere auf Stresseinwirkung den Ergebnissen aus den RNAi-Experimenten gegen den 5HT-1B- bzw. dem 5HT-1A-Rezeptor entsprechen.

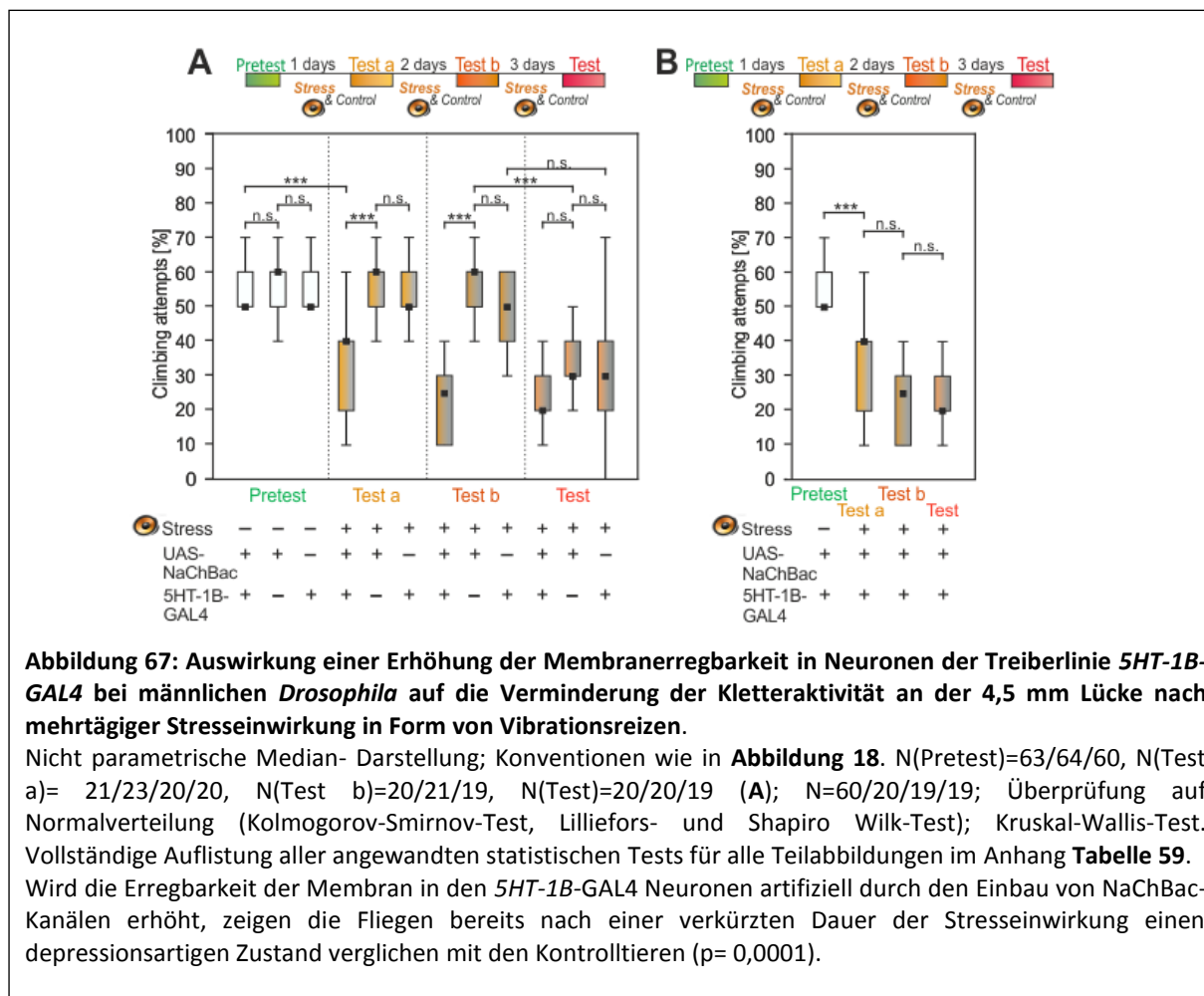


Tatsächlich spiegeln die Ergebnisse der Unterbrechung der chemisch-synaptischen Transmission mittels TNT in den γ -Loben die Ergebnisse des RNAi-Experiments gegen den 5HT-1B-Rezeptor wider. In beiden Fällen reagieren die Fliegen nicht mit einer depressionsartigen Abnahme ihrer Kletteraktivität an der 4,5 mm Lücke auf die kontinuierlichen Stressreize, sondern lassen keine Veränderung ihres Kletterverhaltens erkennen ($p \approx 1,0000$; **Abbildung 66**). Im Gegensatz dazu kommt es bei einer Blockade der chemisch-synaptischen Transmission zu keiner Veränderung des aus dem Wildtypen CS bekannten depressionsartig-verminderten Verhaltens nach viertägigem Stress; die Tiere unterscheiden sich weder von der UAS- noch der GAL4-Kontrolle (jeweils $p \approx 1,0000$). Erst nach einer 16-stündigen Verfütterung von Saccharose ist ein höchst signifikanter Unterschied zwischen den $c739 > \text{TNT}$ Tieren und den Kontrollgruppen zu erkennen (UAS-TNT/+ : $p < 10^{-5}$, +/c739-GAL4 : $p = 0,0001$). Es kommt zu keinem durch Saccharose ausgelösten Wiederanstieg der Kletteraktivität an der 4,5 mm Lücke bei den $c739 > \text{TNT}$ Tieren ($p \approx 1,0000$).

Es kann daher davon ausgegangen werden, dass diese Kompartimentierung der Rezeptorsubtypen entscheidend für ihren Einfluss auf den Depressionszustand von *Drosophila* ist. Eine Aktivierung der 5HT-1B-Rezeptoren führt dazu, dass die γ -Loben auf anhaltende Stressreize hin Signale zur Aktivitätsabsenkung vermitteln.

Die unterschiedlichen Wirkaspekte der beiden 5HT-Rezeptortypen werden daraufhin genauer beleuchtet. Der Fokus liegt jetzt auf einer künstlichen Aktivierung der Neurone, die jeweils einen bestimmten Rezeptortyp exprimieren, und den Auswirkungen, die diese Manipulationen auf die depressionsartige Reaktion der Tiere haben.

Als erstes wird die Aktivität der Neurone, die über 5HT-1B-Rezeptoren verfügen, künstlich heraufgesetzt und kontrolliert, ob dies eine Verhaltensmodulation in *Drosophila* nach Stresseinwirkung hervorruft. Zu diesem Zweck wird die Erregungsschwelle der Neurone, in denen *5HT-1B* exprimiert wird, über einen Einbau von NaChBac-Kanälen künstlich erniedrigt.

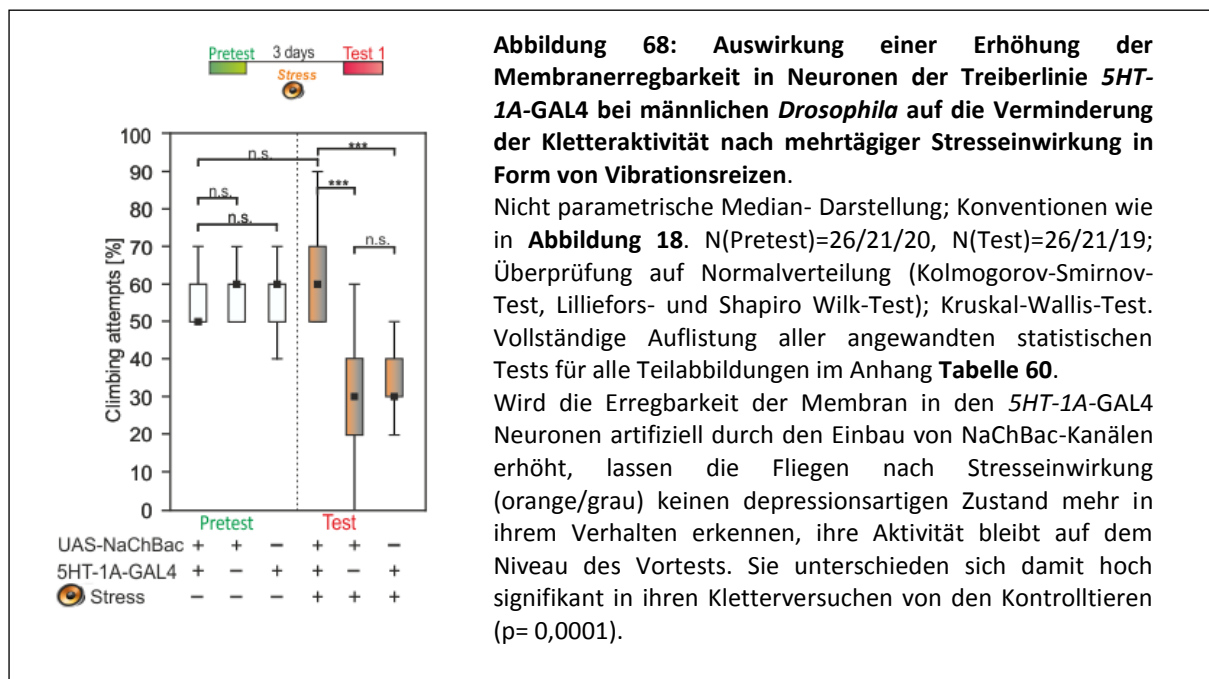


Eine Voraktivierung der Neurone, die sich über *5HT-1B-GAL4* adressieren lassen, verkürzt die Dauer bis zu einer Entstehung des depressionsartigen Zustands in *Drosophila* als Antwort auf Stress (**Abbildung 67**). Während die Fliegen der Kontrollkreuzung über die Zeitspanne von drei Tagen eine sukzessive Abnahme in ihrer Aktivität aufzeigen, sinkt bei den Fliegen, in deren *5HT-1B* exprimierenden Neurone NaChBac-Kanäle eingebaut sind, bereits nach einem

Tag die Kletteraktivität an der 4,5 mm Lücke höchst signifikant ab ($p=0,0003$; **Abbildung 67B**).

Dies bedeutet, dass eine künstliche Aktivierung dieser Neurone, eine direkte Auswirkung auf die Ausprägung der Stressreaktion von *Drosophila* hat. Die Fliegen verfallen bei niedrigerem Stresspegel direkt in einen Zustand höchst signifikant verminderter Aktivität. Es kommt daher nach kürzeren Stressphasen nicht zu einem intermediären Zustand in ihrer Aktivität, wie er sich bei den wildtypischen Fliegen anschaulich stufenweise beobachten lässt (**Abbildung 37**).

Als nächstes wird das Verhalten nach einer analogen Manipulation mit der *5HT-1A-GAL4*-Treiberlinie untersucht und auf Unterschiede zu den Ergebnissen der *5HT-1B*-Linie überprüft.



Eine künstlich bedingte Verstärkung der Erregbarkeit der *5HT-1A*-Neurone hat ebenso Einfluss auf den Depressionsphänotyp der Fliegen, denn eine Abnahme ihrer Aktivität als Folge unkontrollierbarer Stressreize wird verhindert (**Abbildung 68**).

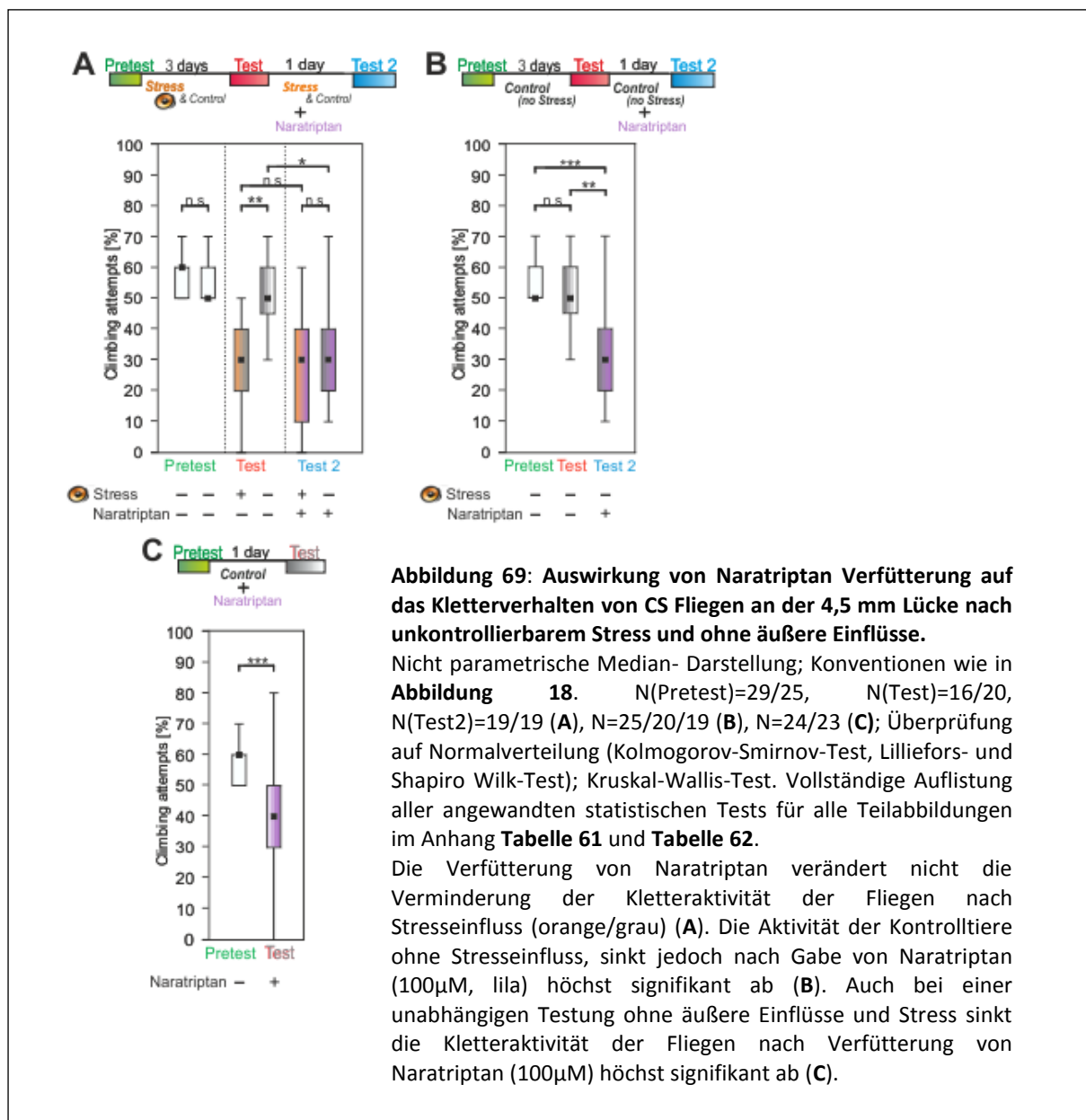
Während die Kontrollgruppen auf die vermehrten Stressreize mit einem Absinken ihrer Aktivität reagieren (jeweils $p < 10^{-5}$), werden die Tiere mit den inserierten NaChBac-Kanälen von den Stressreizen in ihrer Kletteraktivität an der 4,5 mm Lücke nicht beeinträchtigt ($p=1,0000$).

Dies bedeutet, dass eine künstliche Aktivierung dieser Neurone direkt die Entstehung eines depressionsartigen Phänotyps in *Drosophila* als Antwort auf anhaltenden Stress verhindert.

Nachdem in der vorhergehenden Versuchsreihe die Neuronen, die die *5HT-1B*-Rezeptoren exprimieren, durch den Einbau von NaChBac-Kanälen über ein erniedrigtes Membranpotential leichter erregbar gemacht werden, liegt das Augenmerk der nächsten Versuchsreihen auf einer direkten Beeinflussung der Rezeptoraktivität in *Drosophila*. Um diese direkte Beeinflussung eines *5HT*-Rezeptortyps zu erreichen, lassen sich

pharmakologisch Agonisten für den jeweiligen Rezeptortyp verfüttern. In der humanen Forschung werden diese Agonisten der Serotonin-Rezeptoren 1A und 1B schon länger untersucht, da sie eine wichtige Rolle in der Bekämpfung von Migränebeschwerden und Angstzuständen spielen (TEPPER S. et al., 2002).

Daher wird in der nachfolgenden Versuchsreihe der Agonist Naratriptan eingesetzt, in Vertebraten bindet er mit hoher Affinität an die 5HT-1B- und 5HT-1D-Rezeptoren (K_i 0,47 und 0,69 nM). Zu den 5HT-1A-Rezeptoren weist Naratriptan dagegen in Vertebraten eine verhältnismäßig weitaus niedrigere Affinität auf (K_i 26 nM) (LAMBERT G., 2005). Über eine direkte Wirkung in *Drosophila* ist in der Literatur nichts bekannt.



Die Kletteraktivität der Tiere, die einer mehrtägige Stressbelastung unterworfen sind, sinkt nach der Verfütterung von Naratriptan (100 μ M) verglichen zu den wildtypischen Ergebnissen unbeeinflusst wie in vorherigen Versuchsreihen höchst signifikant ab ($p < 10^{-5}$; **Abbildung 69**).

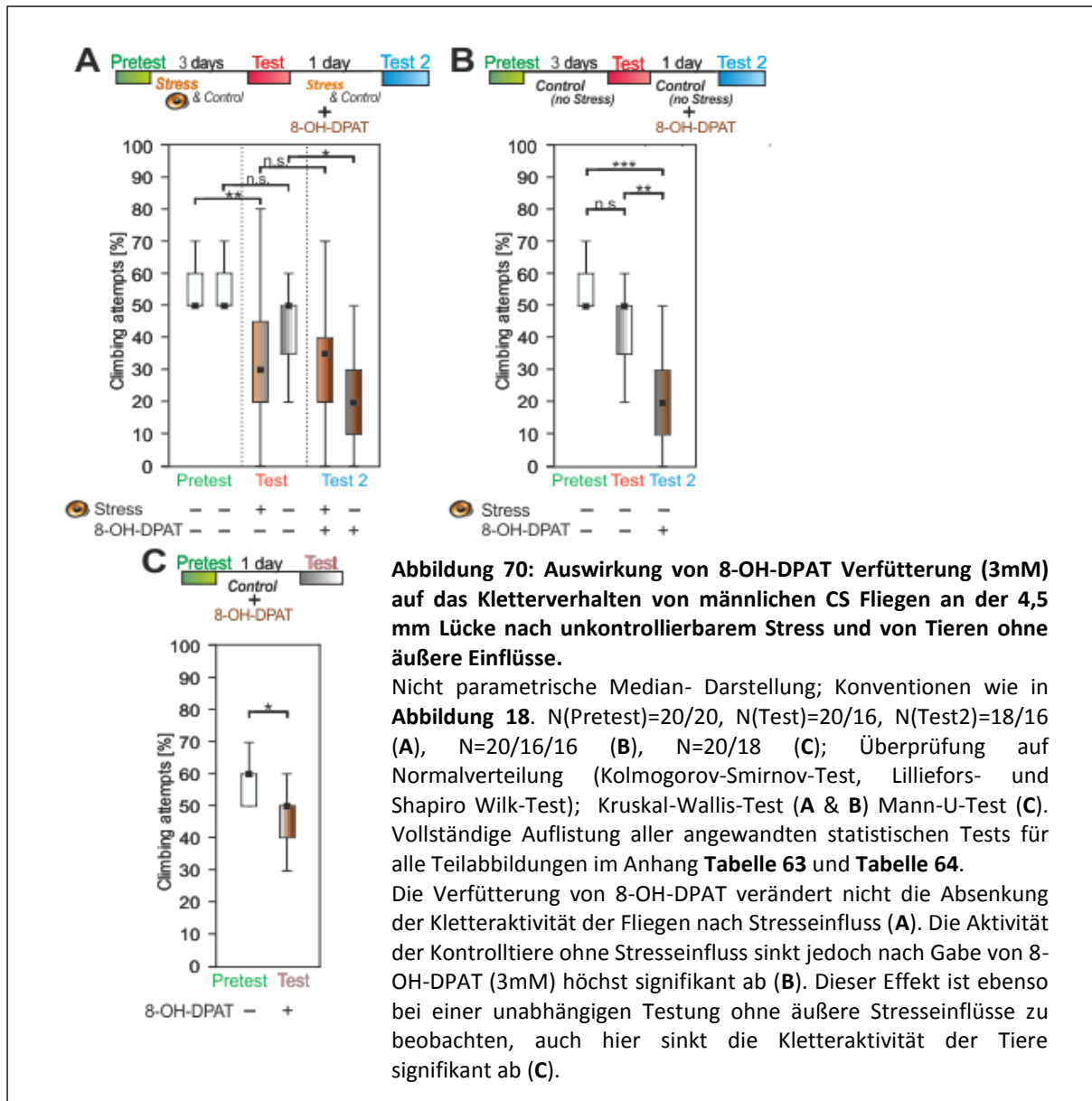
Erst bei einer Betrachtung der Tiere der Kontrollgruppe wird eine Diskrepanz zu den bisherigen Beobachtungen ersichtlich. Diese Tiere erfahren keinen Stress und verändern ihre Aktivität daher über die Zeitspanne auch nicht merklich. Wird diesen Tieren aus der Kontrollgruppe allerdings eine Nacht die Naratriptan-Lösung (100 μ M) gefüttert, kommt es zu einer deutlichen Veränderung im Kletterverhalten: ihre Kletteraktivität sinkt ohne Stressereignisse signifikant ab ($p=0,0101$) und befindet sich damit auf einem Aktivitätsniveau der Tiere mit depressionsartigem Verhaltensphänotyp nach Stresseinfluss ($p=1,0000$; **Abbildung 69A**).

Deutlich darstellen lässt sich diese Aktivitätsabnahme bei einer getrennten Betrachtung der Kletteraktivität der Kontrollgruppe. Im Test nach drei Tagen tritt keine Veränderung in ihrer Aktivität auf, eine Verfütterung von Naratriptan senkt ihre Aktivität hingegen hoch signifikant ab ($p=0,0024$) (**Abbildung 69B**).

Zur Überprüfung des Phänomens dieser plötzlichen Aktivitätsabnahme wird die unmittelbare Auswirkung von Naratriptan auf das Verhalten von *Drosophila* erneut validiert. Hierzu wird die Kletteraktivität von Fliegen an zwei aufeinanderfolgenden Tagen zur gleichen Tageszeit notiert bevor und nachdem ihnen Naratriptan verfüttert wird. Auf diese Weise sind weitere äußere Einflüsse, die sich auf das Verhalten der Tiere auswirken könnten, nahezu ausgeschlossen und eine Verhaltensänderung lässt sich damit direkt auf das Naratriptan zurückführen. In diesem Versuch bestätigt sich die Beobachtung aus der vorhergehenden Versuchsreihe; die Kletteraktivität der Fliegen sinkt nach Aufnahme des Naratriptans (100 μ M) über Nacht höchst signifikant ab ($p=0,0001$) (**Abbildung 69C**). Es kommt folglich zu einem depressionsartigen Phänotyp in den Fliegen ohne ein Einwirken äußerer Einflüsse.

Der Rezeptoragonist Naratriptan führt demzufolge in *Drosophila* zu derselben Aktivitätsabnahme, die auch mehrtägiger Stress bewirkt.

Darüber hinaus wird ein weiterer Agonist der Serotonin-Rezeptoren eingesetzt. Aus der humanen Forschung ist bekannt, dass 8-Hydroxy-2-(di-*n*-Propylamino)Tetralin (8-OH-DPAT) an den 5HT-1A-Rezeptor bindet (LUCKI I. et al, 1994). In *Drosophila* bindet der Agonist mit einer niedrigeren Affinität an die 5HT-1A-Rezeptoren (SAUDOU F. et al., 1992), er bewirkte bei Untersuchungen an *Drosophila* aber Verhaltensveränderungen, die dem 5-HT-1A-Rezeptor zugeschrieben wurden (JOHNSON O. et al., 2009). Außerdem konnte YUAN Q. et al. 2005 nachweisen, dass 8-OH-DPAT funktional den 5HT-1B-Rezeptor in *Drosophila* aktiviert. Daher wird in einer weiteren Versuchsreihe 8-OH-DPAT (3mM) in einer wässrigen Lösung für 16h an *Drosophila* verfüttert.



Eine Verfütterung von 8-OH-DPAT (3mM) bewirkt einen Verhaltensphänotyp in *Drosophila*, der stark dem Verhalten nach Gabe von Naratriptan gleicht (**Abbildung 70**). Die Reaktion auf eine mehrtägige Stressbelastung verändert sich auch in diesem Versuchsdurchlauf nicht, es tritt wie gewohnt eine hoch signifikant verminderte Kletteraktivität bei den Fliegen auf, während die Aktivität der Kontrollgruppe nahezu unverändert bleibt.

Auch die Verfütterung von 8-OH-DPAT (3mM) bewirkt den neuartigen Verhaltensphänotyp. Die Zugabe des Stoffes (3mM) führt zwar zu keiner Veränderung im Phänotyp der stressbelasteten Fliegen ($p=0,0012$), aber wiederum kommt es bei den Tieren der Kontrollgruppe ohne Stresseinwirkung ebenfalls plötzlich zu einem starken Aktivitätsabfall ($p<10^{-5}$). Ihre Kletteraktivität vermindert sich nach der Gabe von 8-OH-DPAT signifikant ($p=0,0128$; **Abbildung 70A**).

Bei einem direkten Vergleich der Datensätze der Tiere aus der Kontrollgruppe wird der Einschnitt in ihrem Verhalten deutlich (**Abbildung 70B**). Ohne die Verfütterung von 8-OH-DPAT (3mM) gibt es bei einer wiederholten Testung keine Veränderung in ihrem

Verhalten, erst die 16 stündige 8-OH-DPAT Verfütterung führt zu einem hoch signifikanten Abfall ihrer Aktivität.

Das Ergebnis bestätigt sich (analog zu Naratriptan) in Versuchen, in denen die Tiere an zwei aufeinanderfolgenden Tagen getestet werden und über Nacht ohne weitere äußere Einflüsse den Wirkstoff verfüttert bekommen (**Abbildung 70C**).

Es wird deutlich, dass 8-OH-DPAT in vergleichbaren Maße wie Naratriptan und ohne Stresseinwirkung einen Aktivitätsabfall in den Fliegen bewirkt, die der Aktivitätsreduktion nach mehrtägigem Stresseinfluss entspricht.

3.2.6 Die Auswirkung von Lithium auf das depressionsartige Verhalten von *Drosophila melanogaster*

Ein weiterer pharmakologischer Versuchsansatz soll den Blick für weitere pharmakologische Substanzen öffnen, ob nach der Verfüterung von Rezeptor-Agonisten, eventuell auch die Futterzugabe von Lithium eine Auswirkung auf den Depressionszustand von *Drosophila* hat. Lithium wird in humanen klinischen Studien häufig als sehr hilfreiches Medikament eingesetzt; es wirkt sich bei einem Drittel der Patienten sowohl bei bipolaren Störungen als auch bei langanhaltenden depressiven Episoden positiv auf den Zustand der Patienten aus und kann die Rückfall-Wahrscheinlichkeit sehr stark vermindern (RYBAKOWSKI J., 2014).

Daher wird den Tieren nach einer mehrtägigen Stressbehandlung Lithiumchlorid in einer Konzentration von 80 mM ins Wasser gegeben und ihr Verhalten – nach einer erneuten Stressbeeinflussung am nächsten Tag – dokumentiert.

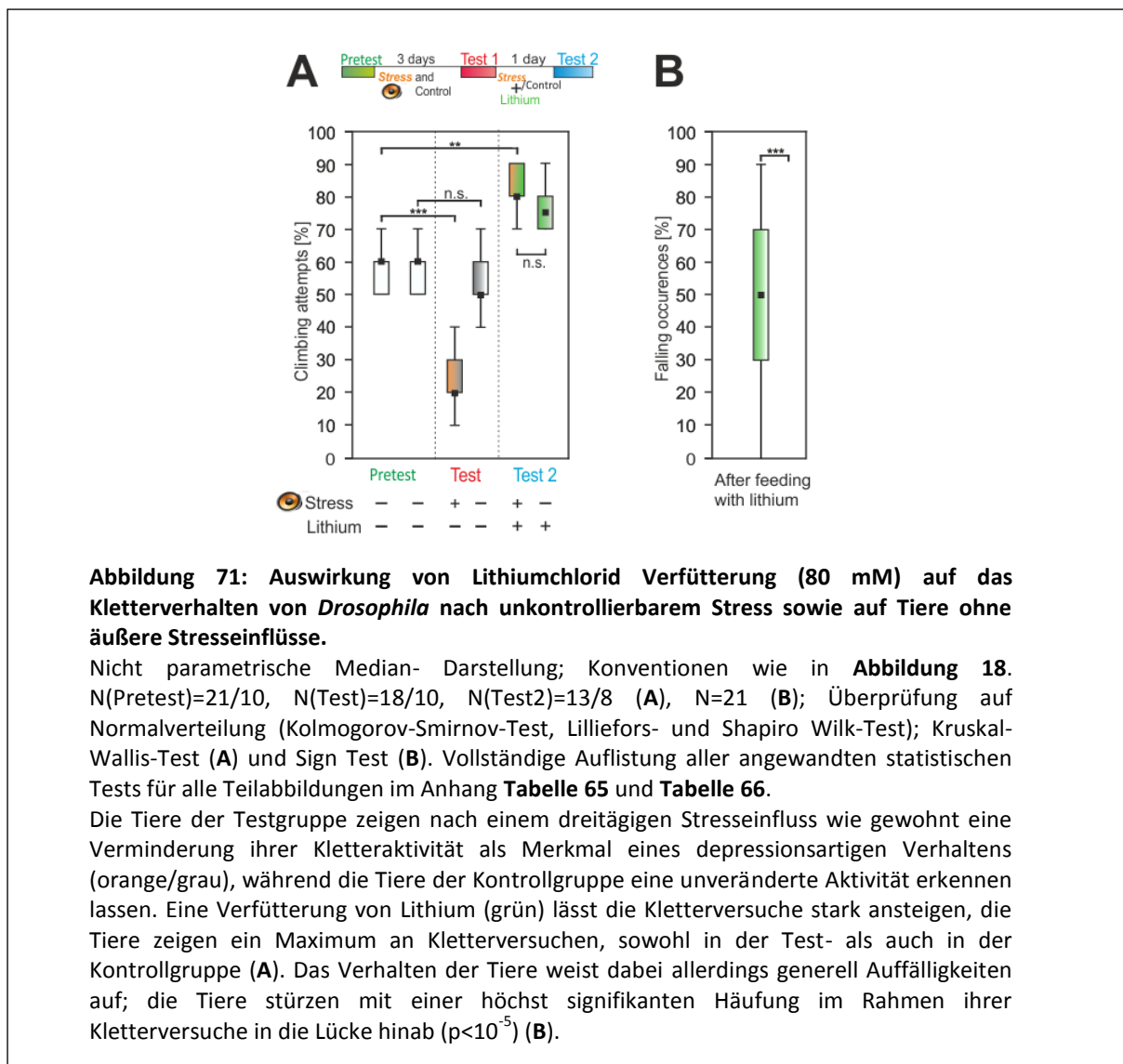


Abbildung 71: Auswirkung von Lithiumchlorid Verfütterung (80 mM) auf das Kletterverhalten von *Drosophila* nach unkontrollierbarem Stress sowie auf Tiere ohne äußere Stresseinflüsse.

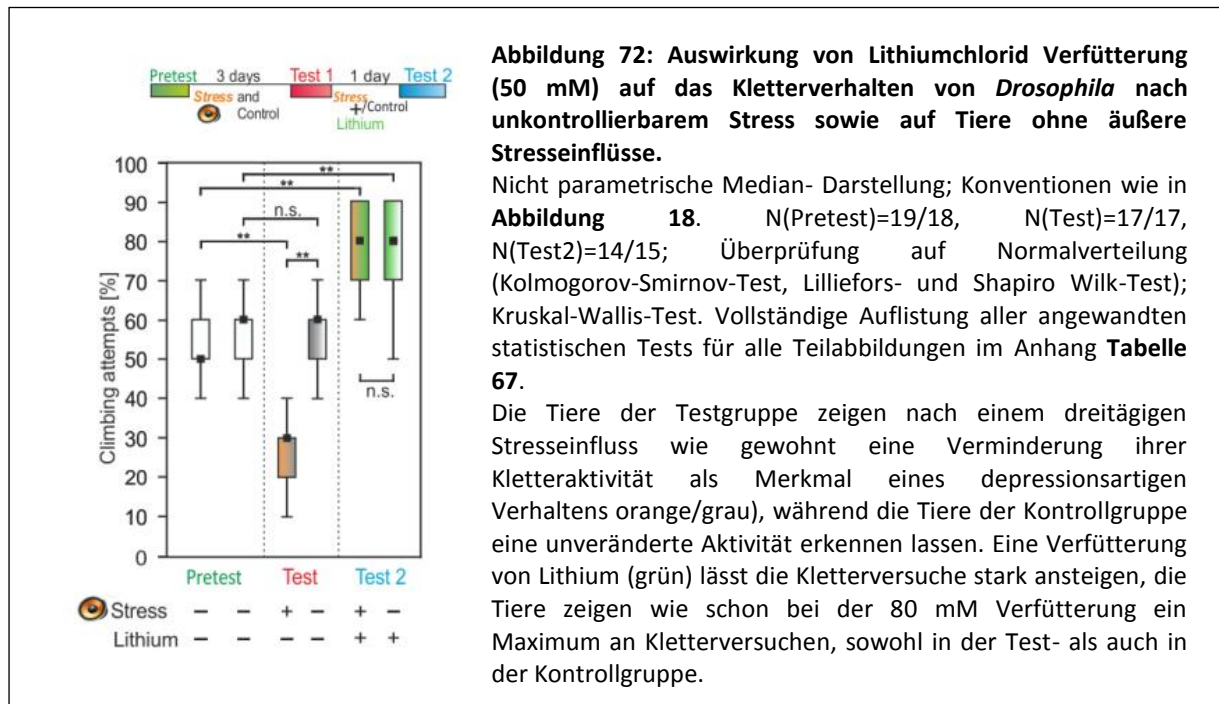
Nicht parametrische Median- Darstellung; Konventionen wie in **Abbildung 18**. $N(\text{Pretest})=21/10$, $N(\text{Test})=18/10$, $N(\text{Test2})=13/8$ (**A**), $N=21$ (**B**); Überprüfung auf Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test, Lilliefors- und Shapiro Wilk-Test); Kruskal-Wallis-Test (**A**) und Sign Test (**B**). Vollständige Auflistung aller angewandten statistischen Tests für alle Teilabbildungen im Anhang **Tabelle 65** und **Tabelle 66**.

Die Tiere der Testgruppe zeigen nach einem dreitägigen Stresseinfluss wie gewohnt eine Verminderung ihrer Kletteraktivität als Merkmal eines depressionsartigen Verhaltens (orange/grau), während die Tiere der Kontrollgruppe eine unveränderte Aktivität erkennen lassen. Eine Verfütterung von Lithium (grün) lässt die Kletterversuche stark ansteigen, die Tiere zeigen ein Maximum an Kletterversuchen, sowohl in der Test- als auch in der Kontrollgruppe (**A**). Das Verhalten der Tiere weist dabei allerdings generell Auffälligkeiten auf; die Tiere stürzen mit einer höchst signifikanten Häufung im Rahmen ihrer Kletterversuche in die Lücke hinab ($p < 10^{-5}$) (**B**).

Das Verhalten der Fliegen verändert sich nach der Aufnahme von Lithiumchlorid aus dem Wasser drastisch (**Abbildung 71**). Die Kletteraktivität der Tiere an der 4,5 mm Lücke, die aufgrund der Stressbelastung ein depressionsartiges Verhalten ausgebildet haben, steigt unvermittelt wieder sehr stark an. Sie übersteigt in Folge dieser Zunahme sogar den Level der Kletteraktivität, der im Ausgangszustand (Pretest) vorlag. Die Fliegen zeigen daher nach oraler Aufnahme von Lithiumchlorid hoch signifikant mehr Kletterversuche als ihrer Grundaktivität im Vortest entspricht ($p=0,0094$).

Lithiumchlorid wirkt überdies in ähnlicher Weise auf die Kontrollgruppe, die keinen Stress erfährt. Auch diese Tiere zeigen tendenziell vermehrte Kletterversuche an und übersteigen dabei tendenziell ihre anfänglich im Vortest beschriebene Grundaktivität ($p=0,4269$; **Abbildung 71A**). Lithiumchlorid als Substanz scheint unabhängig des Zustands der Tiere eine starke Wirkung auf ihre Aktivität auszuüben, es bedingt stets eine Zunahme der Kletterbemühungen. Allerdings muss bei der Betrachtung der aufgeführten Ergebnisse aus **Abbildung 71** beachtet werden, dass das Lithiumchlorid sich – vermutlich bedingt durch Überdosierung – auf das generelle motorische Verhalten der Fliegen auswirkt. Daher könnte der beobachtete generelle Aktivitätsanstieg in ihrem Verhalten ebenfalls durch die Überdosierung bedingt sein. Dies führt dazu, dass ein weiterer Versuch einer erniedrigten Lithiumkonzentration unbedingt nötig ist, denn die Tiere lassen eine leichte Desorientierung in der Arena erkennen. Da sie aber nach Eingewöhnung trotzdem meist gerade auf die Lücke zu laufen, können ihre Anläufe unter Vorbehalt gewertet werden. An der Lücke angekommen, lehnen sie sich im Zuge ihrer Kletterbemühungen zu weit in die Lücke hinein, verlieren die Kontrolle und stürzen herab. Diesen Verhaltensphänotyp wiederholen sie oft, dies lässt sich an einer höchst signifikant erhöhten Wahrscheinlichkeit für Stürze im Verlauf des Klettervorgangs erkennen ($p<10^{-5}$; **Abbildung 71B**). Außerdem ist ein Anstieg in ihrer Sterberate und ein teilweise leichter Kontrollverlust über ihre motorische Koordination im Laufverhalten zu beobachten, daher ist bei der Auswertung dieses Ergebnisses Vorsicht geboten, eine Überdosierung könnte das Verhalten entscheidend beeinflusst haben.

Aufgrund der motorischen Probleme bei den CS Fliegen wird überprüft, ob eine Absenkung der Konzentration von Lithiumchlorid die Ausfälle im motorischen Verhalten abmildern kann und ob dabei der starke Aktivitätsanstieg in ihrem Verhalten trotzdem bestehen bleibt. Deshalb wird in einem weiteren Versuchsansatz die Dosierung von Lithiumchlorid in wässriger Lösung nahezu halbiert auf 50 mM.



Das Verhalten der CS Fliegen an der 4,5 mm Lücke verändert sich bei einer Reduzierung der Lithiumchlorid-Konzentration (**Abbildung 72**) stark im Vergleich zu den Ergebnissen bei einer 80 mM Konzentration (**Abbildung 71**) in Bezug auf ihre Motorik, sie zeigen keine motorischen Ausfälle mehr. Nach der Stressbelastung zeigen die männlichen CS Fliegen an der 4,5 mm Lücke eine hoch signifikante Abnahme ihrer Kletteraktivität ($p=0,0061$), während die die Kontrollgruppe ohne Stress keine Verhaltensveränderung in ihrer Kletterinitiation erkennen lässt ($p=1,0000$). Ein Verfütterung von Lithiumchlorid in 50 mM Konzentration führt wiederum zu einer hochsignifikanten Zunahme der Kletteraktivität, sowohl in der Gruppe von Tieren, die vorher Stress erfuhren ($p<10^{-5}$) als auch die ungestresste Kontrolltiere ($p=0,0062$). Auch in diesem Versuch übersteigt die Kletteraktivität beider Gruppen nach der Zugabe von Lithiumchlorid ihre im Pretest gezeigt Kletteraktivität hochsignifikant (Stress: $p=0,0029$, Kontrolle: $p=0,0039$). Die motorischen Auffälligkeiten sind bei dieser Dosierungsabschwächung auf 40 mM deutlich zurückgegangen, es lassen sich keine gehäuften Stürze in die Lücke mehr beobachten.

Die Verfütterung von Lithiumchlorid sorgt für einen hochsignifikanten Aktivitätsanstieg in *Drosophila*. Einerseits hebt die Zugabe von Lithiumchlorid den depressionsartigen Phänotyp in den Fliegen nach Stress auf, andererseits führt die Verfütterung generell zu einem hochsignifikanten Anstieg der Kletteraktivität an der 4,5 mm Lücke. Ein genereller Anstieg der Klettermotivation in *Drosophila* ließ sich mit bisherigen Pharmaka nicht erzeugen, dies liefert einen höchst interessanten Ansatzpunkt für weitere Experimente.

4 Diskussion

Zielsetzung dieser Dissertation ist die Analyse der neuralen und biochemischen Grundlagen der Kontrolle der Verhaltensaktivität in der Taufliege *Drosophila melanogaster*. Mithilfe äußerer Einflüsse lassen sich unterschiedliche Aktivitätszustände in *Drosophila* erzeugen und diese Veränderungen der Grundaktivität erweisen sich dabei als stabil. Es ist sowohl möglich, die Aktivität von *Drosophila* durch positive Anreize zu erhöhen, als auch durch Stressoren eine Aktivitätshemmung herbeizuführen. Anthropomorph würde man von Motivation und Depression sprechen. Die diesbezüglichen Funktionen und Hirnstrukturen des limbischen Systems in Säugern wurden vielfältig beschrieben. Ursprünglich wurde es lediglich als anatomische Grundlage für emotionale Reaktionen betrachtet (PAPEZ M., 1937), heutzutage wird dem limbischen und mesolimbischen System die Rolle eines Assoziationszentrums zugesprochen. Es verarbeitet Stimuli aus der Umwelt und bringt sie in Übereinstimmung mit den Bedürfnissen des zugehörigen Organismus. Somit steuert es in gewisser Form ein zielgerichtetes, aufmerksamkeitsbedingtes Triebverhalten des Organismus und spielt zusätzlich eine große Rolle in der Bildung, sowie Verarbeitung von Emotionen (RAJMOHAN V. UND MOHANDAS E., 2007). Da Emotionen in Invertebraten bisher nicht beschrieben sind und eine Untersuchung sich schwierig gestalten würde, soll sich der Idee eines Orthologs zum limbischen System anhand der Analyse der Motivationskontrolle und dem dadurch gesteuerten Verhalten genähert werden.

Für die Untersuchung zur extrinsischen Motivation von *Drosophila* liegt der Fokus auf dem Einsatz von attraktiven Umweltreizen, um die Tiere zu einer Verstärkung ihrer Anstrengungen im Verhalten zu animieren. Hierbei wurden sowohl olfaktorische als auch visuelle Reize auf die Fliegen ausgewählt. Die Zunahme in der Aktivität der Tiere lässt sich experimentell quantifizieren und mit bestimmten Hirnregionen in Verbindung bringen. Zudem wurden im zweiten Teil der Arbeit Reize eingesetzt, die den Fliegen unangenehm sind und dazu dienen sollen, ein gewisses Ausmaß an Stress in den Tieren zu erzeugen. Dieser über mehrere Tage wiederholt erhöhte Stresspegel versetzt die Tiere in einen Zustand erlernter Hilflosigkeit, der sich über reduzierte Aktivität in verschiedenen Lebensbereichen von *Drosophila* erkennen lässt und einer Depression ähnlich ist. Dieser Zustand lässt sich neuroanatomisch sowie pharmakologisch analysieren und mit Erkenntnissen aus der Vertebratenforschung vergleichen.

4.1 Manipulation der extrinsischen Motivation von *Drosophila melanogaster* und Quantifizierung im Kletterverhalten

Es wird angenommen, dass sich Motivation als Verhaltenstriebkraft evolutionär schon früh herausgebildet hat. Diese elementare Form des 'Wollens' lässt sich klar von den Eigenschaften des 'Mögens' und des 'Lernens' trennen, sie bedingt eine intrinsische Motivation, die von sensorischen Informationen, den Angeboten und Gefahren der Umwelt

gleitet wird. Grundlegend führt diese Triebkraft dazu, dass ein Lebewesen seinen inneren homöostatischen Zustand mit den Umweltreizen in Einklang bringt, beispielsweise über Futteraufnahme, Paarungsverhalten oder Verteidigung (BERRIDGE K. UND ROBINSON T., 2003).

Bei *Drosophila melanogaster* wird nun diese Motivation, die abhängig vom intrinsischen Zustand von externen Stimuli beeinflusst wird und die daraufhin eine Verhaltensveränderung hervorrufen kann, detailliert analysiert. "Motivation" lässt sich mit dem Kletterparadigma von PICK UND STRAUSS (2005) quantifizieren. Vergebliche Kletterversuche bedeuten für die Tiere einen Energieverlust, daher messen sie im Anlauf mithilfe ihres visuellen Systems die Weite der zu überwindenden Lücke und treffen bei einer Ankunft an der Kante unter Einbeziehung ihrer eigenen Körpergröße (KRAUSE T., 2015) eine Entscheidung, ob sie die Lücke als überwindbar und die Anstrengung als lohnenswert erachten. Diese Entscheidung lässt sich für einen außenstehenden Beobachter eindeutig an ihrem "Bein-über-Kopf"-Verhalten erkennen, mit dem die Fliege Kletterverhalten einleitet (PICK S. UND STRAUSS R., 2005).

Die ersten Versuche im Rahmen der vorliegenden Arbeit dienten der Feststellung, ob sich das Kletterverhalten als Indikator für die Motivationsbewertung eignet. Sowohl in Experimenten mit attraktiven visuellen als auch mit attraktiven olfaktorischen Reizen lässt sich erkennen, dass die Tiere an überwindbaren Lückenbreiten (3,5mm) verstärkte Kletterbemühungen aufzeigen. Zusätzlich zu der Steigerung ihrer Anstrengungen lässt sich an einer gerade noch überwindbaren Lückenbreite bestätigen, dass die Intensivierung der Anzahl an Kletterversuchen auch einen größeren Erfolg mit sich bringt. Die Tiere haben signifikant mehr erfolgreiche Überkletterungen, sobald ihnen auf der gegenüberliegenden Seite ein attraktiver Stimulus angeboten wird. Sie zeigen demnach nicht nur mehr Anstrengungen, sondern schaffen es öfter die Lücke zu überwinden. Die Zunahme der Kletterbemühungen lässt sich konsistent an einer Ausdehnung der Lückenbreite auf 4,5 mm beobachten.

Bei der olfaktorischen Stimulation der Tiere mit Futterduft ist zu beachten, dass die Hälfte der Tiere in jeder Versuchsgruppe vorgehungert wurde, um den inneren Stimulus "Hunger" mit in die Versuchsreihen einzubeziehen. Wie bereits in der Literatur vermerkt, zeigen die Fliegen im vorgehungerten Zustand auch ohne direkten Anreiz eine Tendenz zu verstärkter Lokomotion. Diese allgemeine Erhöhung der lokomotorischen Aktivität in den Tieren beruht auf dem Versuch, durch ein erhöhtes Explorationsverhalten mögliche Futterquellen auszumachen (YANG Z. et al., 2015). Diese Form der Aktivitätssteigerung lässt sich in den Experimenten tendenziell erkennen, ein starker Effekt beim Klettern tritt allerdings erst auf, wenn es zu einer Verknüpfung des internen Hungerzustands mit dem externen Reiz einer potentiellen Futterquelle kommt. Diese Addition aus internem und externem Anreiz führt dazu, dass die Tiere höchst signifikant mehr Bestrebungen erkennen lassen, die Gegenseite der Lücke zu erreichen. Es tritt deutlich hervor, dass der interne Zustand des Hungerns sich positiv verstärkend auf die Motivation der Tiere auswirkt, ein Hindernis zu überwinden (**Abbildung 21**).

Ebenso ließ sich ein additiver Effekt nachweisen, wenn den Tieren im vorgehungerten Zustand zwei attraktive Stimuli verschiedener Modalität gleichzeitig angeboten wurden.

Jeder Stimulus für sich gesehen löste bei den Tieren schon eine signifikante Steigerung ihrer Bemühungen aus. Die Kombination beider Reize steigerte synergistisch das Kletterverhalten der Fliegen; es werden bei einer Verbindung der beiden Anreize offensichtlich zusätzliche Energiereserven mobilisiert (**Abbildung 22**). Es lässt sich daher spekulieren, dass *Drosophila* den Ertrag der erwarteten Belohnung einschätzen und danach ihre Verhaltensanstrengung unterschiedlich stark steigern können. Ähnliche belohnungsabhängige Verhaltensveränderungen sind auch von anderen Tierarten bekannt, beispielsweise passen Stare (*Sturnus vulgaris*) die Höhe ihrer Energieinvestition beim Futtersuchverhalten (Lauf versus Flug) an ihren inneren Zustand und die erwartete Futterbelohnung an (BAUTISTA L. et al., 2001).

Im Rahmen einer Kartierung im Gehirn der Fliegen auf der Suche nach einem Verarbeitungszentrum des motivationsmodulierten Verhaltens wird der Einfluss des Pilzkörpers auf die Kletterbemühungen detaillierter dargestellt. Der Pilzkörper wurde als primäres Ziel in der Kartierung ausgewählt, da für *Drosophila* bereits bekannt war, dass die Pilzkörper sensorische Informationen aus der Umwelt integrieren und an Verhaltensentscheidungen der Fliegen beteiligt sind (LEWIS L. et al., 2015). Daher ließ sich spekulieren, dass der Pilzkörper auch bei Entscheidungen zu motiviertem Verhalten bei sensorischen Anreizen einen Einfluss nimmt. Eine bereits beschriebene, zentrale Aufgabe des Pilzkörpers in *Drosophila* ist allerdings die erfahrungsbasierte Prozessierung von Düften und die Bildung eines assoziativen Duftgedächtnisses (1.2.2 Wahrnehmung von Düften in *Drosophila melanogaster*, S.6). Es musste daher sichergestellt werden, dass die Manipulation von Pilzkörper-Eingängen oder Ausgängen und die weitgehende Extinktion der Pilzkörper bereits in der Entwicklung nicht den Verlust der Duftwahrnehmung in den Fliegen nach sich zieht. Einerseits wurde daher ein Duftgemisch (Apfelsaft-Hefe-Suspension) mit einem breiten Spektrum an Duftkomponenten angeboten, um eine breite neuronale Aktivierung zu erreichen (HALLEM E. UND CARLSON J., 2006). Andererseits wurde die Duftwahrnehmung und Präferenz der Fliegen mit ablatierten Pilzkörpern in einem Entscheidungs-Paradigma mit wildtypischen Daten verglichen. In diesen Experimenten (**Abbildung 24**) lässt sich erkennen, dass die Tiere mit ablatierten Pilzkörpern sich in der Apparatur – genau wie die Wildtypen – mit zunehmender Zeit zum Duft hin orientierten. In der ersten Minute in der Apparatur verteilten sich die Fliegen noch gleichmäßig auf beide Kammern. Nach zehn Minuten hielten sich aber signifikant mehr Tiere in der Kammer auf, in der ein Futterduft vorhanden war. Damit erfolgte die Orientierung hin zum appetitiven Reiz in den Tieren mit ablatierten Pilzkörpern sogar schneller als bei intakten Tieren, denn bei Letzteren war eine signifikante Ungleichverteilung erst nach 15 Minuten zu beobachten.

Die Beobachtung, dass die Fliegen mit weitgehend ablatierten Pilzkörpern eine normale Reaktion hin zu appetitiven Düften zeigten, deckt sich mit Ergebnissen aus der Literatur von DE BELLE UND HEISENBERG (1994); es kam bei den Fliegen ohne Pilzkörper zu keiner Beeinträchtigung der Wahrnehmung der Duftstoffe Benzaldehyd oder 4-Methylcyclohexanol. Die Fliegen orientieren sich spontan hin zu diesen Düften, nur in Gedächtnisexperimenten zeigen sie kein Gedächtnis für die entsprechenden Duftstoffe (DE BELLE J. UND HEISENBERG M., 1994). Weitere Studien haben bekräftigt, dass ein direkter

Verarbeitungsweg von der Duftwahrnehmung über die Antennalloben zum lateralen Horn ausreicht, um die Duftreaktionen der Fliegen zu steuern; die Pilzkörper sind in diese spontane Verhaltensantwort nicht im direkten Weg eingebunden (HEIMBECK G. et al., 2001; STRUTZ A. et al., 2014).

In den weiteren Experimenten der hier vorgelegten Arbeit zur Motivationssteuerung bei *Drosophila* wurde die Abschaltung der Pilzkörper auch über gezieltere Methoden – mit Hilfe des UAS-GAL4-Systems – vorgenommen (BRAND A. UND PERRIMON N., 1993). Bei dieser genetischen Manipulation wird durch Tetanustoxin in wählbaren Lobensystemen die synaptische Transmission unterbrochen (SWEENEY S. et al., 1995). Dabei ist der Vorteil, dass dieses Verfahren entgegen der Pilzkörperablation zu keinerlei Beeinträchtigung der Antennalloben führt. Bei Tieren, in denen durch TNT zunächst die synaptische Transmission der α -/ β - und γ -Loben unterbunden wurde, konnte keinerlei Steigerung der Kletteraktivität, weder bei dem Duft- noch dem visuellen Reiz, nachgewiesen werden. Ein Wegfall der synaptischen Transmission der α' -/ β' -Loben dagegen führte nicht zu einem vergleichbaren Ergebnis; die Tiere zeigten ein wildtypisches Verhalten (**Abbildung 27** und **Abbildung 29**).

Bei den Versuchen zur visuellen Motivationskontrolle musste die GAL4-Treiber-Linie zur Ausschaltung der α' -/ β' -Loben ausgetauscht werden. Tiere des zunächst benutzten Genotyps +;UAS-TNT/c305a-GAL4 ließen im naiven Kletterverhalten sowie bei einer Duftpräsentation eine gerichtete Orientierung hin zu der gegenüberliegenden Seite der Lücke erkennen. Visuelle Landmarken in der Arena ließen die Fliegen jedoch die gerichtete Orientierung auf dem Kletterblock verlieren, was die Auswertung unmöglich machte. Die visuelle Desorientierung ist durch Expression der Treiberlinie auch außerhalb der Pilzkörper in den R2 und R4d-Neurone des Ellipsoidkörpers zurückzuführen (KRASHES M. et al., 2007). Eine Blockade der chemischen Synapsen dieser Neurone nimmt den Tieren die Fähigkeit, sich gezielt auf Landmarken zu orientieren (NEUSER K. et al., 2008, unveröffentlichte Ergebnisse AG Strauß). Daher wurden bei den entsprechenden Versuchen Fliegen des Genotyps +; UAS-TNT/NP1131-GAL4 eingesetzt, da dieser GAL4-Treiber ebenfalls die α' -/ β' -Loben der Pilzkörper adressiert (ASO Y. et al., 2009), im Ellipsoidkörper allerdings nur R4d-Neurone (MARTÍN-PEÑA A. et al., 2014). Es traten keine Ablenkungs- oder Orientierungsprobleme in den Experimenten auf, das Verhalten dieser Fliegen ließ sich dokumentieren; es entsprach dem der Wildtypen (**Abbildung 29**).

Eine feinere Kartierung konnte durch Einschränkung des Expressionsmusters von TNT durch den Einsatz der GAL4-Linien c739-GAL4 (α -/ β -Loben) und H24-GAL4 (γ -Loben) (ASO Y. et al., 2009) erreicht werden. Die Tiere, in denen die synaptische Transmission ausschließlich in den γ -Loben unterbrochen wurde, zeigten daraufhin ebenfalls den wildtypischen Phänotyp. Lediglich die Tiere, in denen die synaptische Transmission der α -/ β -Loben unterbunden wurde, steigerten ihr Kletterverhalten weder bei einer olfaktorischen, noch bei einer visuellen attraktiven Reizeinwirkung. In den Grafiken (**Abbildung 28** und **Abbildung 30**) lässt sich daher jeweils – entgegen der höchst signifikanten Differenz im wildtypischen Verhalten – keine Differenz zwischen zwei Versuchsdurchläufen der Fliegen ablesen; ihr Differenzwert zwischen beiden Läufen liegt daher bei null. Somit zeigen die Fliegen mit Inhibition der chemisch-synaptischen Weiterleitung der α -/ β -Loben trotz eines attraktiven

Stimulus ein identisches Verhalten zum Vortag ohne Stimulus und es ist keine Modulation in ihrem Verhalten mehr auszumachen.

Dieser Phänotyp in den motivationsbedingten Kletteranstrengungen kann nicht mit einer generellen Rückgang der Kletteraktivität bei den Tieren, deren synaptische Transmission in den α -/ β -Loben über TNT ausgelöscht wurde, erklärt werden. Die Tiere, in denen die Transmission der α -/ β - und γ -Loben unterbrochen wurde (*mb247-GAL4*), zeigten dementsgegen eher ein signifikant erhöhtes inhärentes Kletterverhalten, wenn sie ohne Reizeinflüsse auf die Lücke trafen; bei den Tieren in denen die chemische Transmission der α -/ β -Loben unterbunden wurde, war das Verhalten dagegen wildtypisch (**Abbildung 31**). Daher kann ausgeschlossen werden, dass ein Ausbleiben des Motivationsanstiegs im Kletterverhalten mit einem Unvermögen oder einer generellen Abschwächung im Klettern begründet ist.

Darüber hinaus ist der Wegfall der reizbedingten Motivationssteigerung nicht entwicklungsbedingt. Tests mit temperaturgesteuerter Expression von TNT nur im Adultstadium zeigten, dass sowohl bei visueller als auch bei olfaktorischer Reizung sich die motivationsbedingte Steigerung in den Kletteranstrengungen über eine akute Blockade der Transmission der α -/ β -Loben auslöschen ließ (**Abbildung 32** und **Abbildung 33**).

Der zusätzliche Einbau von bakteriellen Natrium-Kanälen in die Kenyonzellen (NaChBac; NITABACH M. et al., 2006) der α -/ β - und γ -Loben, der zu einer stärkeren Erregbarkeit und damit zu einer generell höheren Transmissionsrate führt, konnte die Klettermotivation der Fliegen nicht zu einem Höchstwert in ihren Kletteranstrengungen nach Präsentation eines attraktiven Reizes führen. Die Tiere des Genotyps *+;;UAS-NaChBac/mb247-Gal4* zeigten jedoch gegenüber ihren Kontrollgruppen eine Intensivierung ihres spontanen Kletterverhalten (**Abbildung 34**). Dies könnte bedeuten, dass die Tiere von sich heraus, also bereits ohne äußere Reize, einen hoch signifikant verstärkten Antrieb zeigen, die andere Seite der Lücke zu erreichen. Dies käme einer leichten Erhöhung der intrinsischen Motivation gleich, während auf die extrinsische Motivation auf diese Art kein Einfluss möglich war.

Es konnte bewiesen werden, dass die visuellen Informationen über die Pilzkörper das Kletterverhalten steigern können. Dies beschreibt erstmalig, dass unterschiedliche sensorische Bedingungen im Pilzkörper verarbeitet werden. Die Verarbeitung von olfaktorischen und visuellen Informationen lässt sich bei der Motivationssteuerung im Pilzkörper lokalisieren und findet dabei sogar in denselben Kompartimenten des Pilzkörpers, den α -/ β -Loben, statt. Es lassen sich allerdings anhand der im Rahmen der vorliegenden Arbeit erzielten Ergebnisse keine Aussagen über unterschiedliche Beteiligungen funktioneller Subpopulationen von Neuronen in α -/ β -Loben in der Motivationssteuerung machen; deren unterschiedlicher Einflüsse sind in konditionierten Lernen von aversiven entgegen appetitiven Reizen bekannt (PERISSE E. et al., 2013).

In einer Studie von WOLF R. et al (1998) wurden die Pilzkörpern bei der visuellen Informationsverarbeitung zuerst nicht in den Fokus genommen, er postulierte, dass sie an visueller Mustererkennung und Farbunterscheidungen bei Lernprozessen im Flugsimulator nicht beteiligt seien (WOLF R. et al., 1998). Bereits ein Jahr später erschien jedoch eine Veröffentlichung von LIU L. et al. (1999), in der sie im Verhalten von *Drosophila* eine visuelle

Verarbeitung in den Pilzkörpern nachwiesen (LIU L. et al., 1999). Zudem konnten TANG S. UND GUO A. (2001) zeigen, dass die Pilzkörper beim visuellen Entscheidungsverhalten im Flugsimulator gebraucht werden (TANG S. UND GUO A., 2001). In Untersuchungen zum Balzverhalten konnten dagegen keine Verbindungen zwischen einem visuellen Informationsingang in die Pilzkörper und einer Beeinflussung des Verhaltens gefunden werden (JOINER M. UND GRIFFITH L., 2000). Im Gegensatz zu anderen Insekten konnte eine direkte neuronale Verbindung zwischen optischen Loben und Pilzkörpern bis heute in *Drosophila* nicht beschrieben werden (OTSUNA H. UND ITO K., 2006; MU L. et al., 2012). Mehrere Studien untermauerten in den nächsten Jahren jedoch die ersten verhaltensphysiologischen Nachweise von LIU L et al. und TANG S. UND GUO A., dass eine Verarbeitung visueller Informationen im Pilzkörper stattfindet. Es ließ sich nachweisen, dass die α -/ β -Loben des Pilzkörpers in der Auffälligkeitsverarbeitung visueller Reize entscheidend beteiligt sind und dabei einen großen Einfluss auf die selektive visuelle Aufmerksamkeit der Fliegen haben (VAN SWINDEREN B. UND GREENSPAN R., 2003). ZHANG K. et al. analysierten diese Funktion und zeigten endgültig, dass der Pilzkörper über dopaminerge Eingänge das visuelle Objektauffälligkeitsbasierte Entscheidungsverhalten von *Drosophila* steuert (ZHANG K. et al., 2007). 2014 wurde erstmals ein visuelles Gedächtnis mit Sitz in den Pilzkörpern von *Drosophila* beschrieben (VOGT K. et al., 2014). Es ließ sich zeigen, dass die Vermittlung eines visuellen wie auch eines olfaktorischen Gedächtnisses in dem Pilzkörper über dieselben Untergruppen dopaminerner Neuronen erfolgt. Sie postulieren, dass eine "Zentralisierung ähnlicher Gehirnfunktionen" (VOGT K. et al., 2014) eine evolutionär konservierte Art der Informationsprozessierung darstelle, da es Energie spare, wenn ähnliche Verarbeitungen nicht in unterschiedlichen Gehirnregionen unterhalten werden müssen. Es vermitteln, ihrer Studie zufolge, je nach Art des sensorischen Eingangs sowohl überlappende, wie auch unterschiedliche Teilgruppen von dopaminergen Neuronen den Eingang in die Kenyonzellen. Im olfaktorischen Gedächtnis sorgen ihrer Vermutung nach dabei mehr dopaminerge Neurone (beispielsweise spezifisch MB-M3 Neurone im PAM-Cluster) für Informationseingang in die Pilzkörper als im visuell-gesteuerten. Dies ist demnach die Begründung, dafür dass das olfaktorische Gedächtnis im Vergleich länger anhält (VOGT K. et al., 2014). Durch Inaktivierung unterschiedlicher Gruppen von Kenyonzellen (mittels *shi^{ts}*) können VOGT K. et al. (2014) nachweisen, dass die γ -Loben eine zentrale Rolle in der Gedächtnisbildung beider Sinnesmodalitäten spielen und vermuten daher, dass visuelle als auch olfaktorische Informationen in den γ -Loben repräsentiert werden. Dementgegen sind die α '-/ β '-Loben selektiv einzig an der olfaktorischen Gedächtnisbildung beteiligt, dies erklärt sich aber durch die von TURNER G. et al. 2008 beobachtete präferentielle Repräsentation von olfaktorischen Eingängen in diese Region. Wenig später konnten sie in einer weiteren Veröffentlichung hierzu zeigen, dass dieselben Ausgangs-Neurone der Pilzkörper des Zelltyps MBON- γ 1pedc α/β sowohl für ein olfaktorisches als auch für ein visuelles aversives Gedächtnis gebraucht werden; ebenso wie es auch zu Überschneidungen zwischen den beiden sensorischen Reizen bei den benötigten Ausgangs-Neuronen in der appetitiven Gedächtnisbildung kommt (Aso Y. et al., 2014). Dies weist Parallelen zu den hier vorliegenden Ergebnissen zur Motivationssteuerung auf, da ebenfalls vermutet wird, dass die Verarbeitung sowohl der visuellen als auch der

olfaktorischen Sinnesmodalitäten in denselben Pilzkörper-Regionen, den α -/ β -Loben, abläuft.

Eine kürzlich erschienene Untersuchung zu motiviertem Verhalten im Flugverhalten von *Drosophila* legt dar, dass ein Beibehalten des unmittelbaren Flugverhaltens in den Fliegen über die synaptische Aktivität in den α' -/ β' -Loben gesteuert wird. Eine Unterbrechung der synaptischen Transmission oder ein Knockdown des Dop1R2-Rezeptors in den α' -/ β' -Loben führten zu einer Verkürzung der Flugphasen und einem weniger konsistenten Flugverhalten (AGRAWAL T. UND HASAN G., 2015). Da im Kletterverhalten die α -/ β -Loben die zentrale Schaltstelle darstellen, könnte dies bedeuten, dass die Motivationssteuerung für unterschiedliche Verhaltensweisen in unterschiedlichen Lobensystemen der Pilzkörper verarbeitet und gesteuert wird.

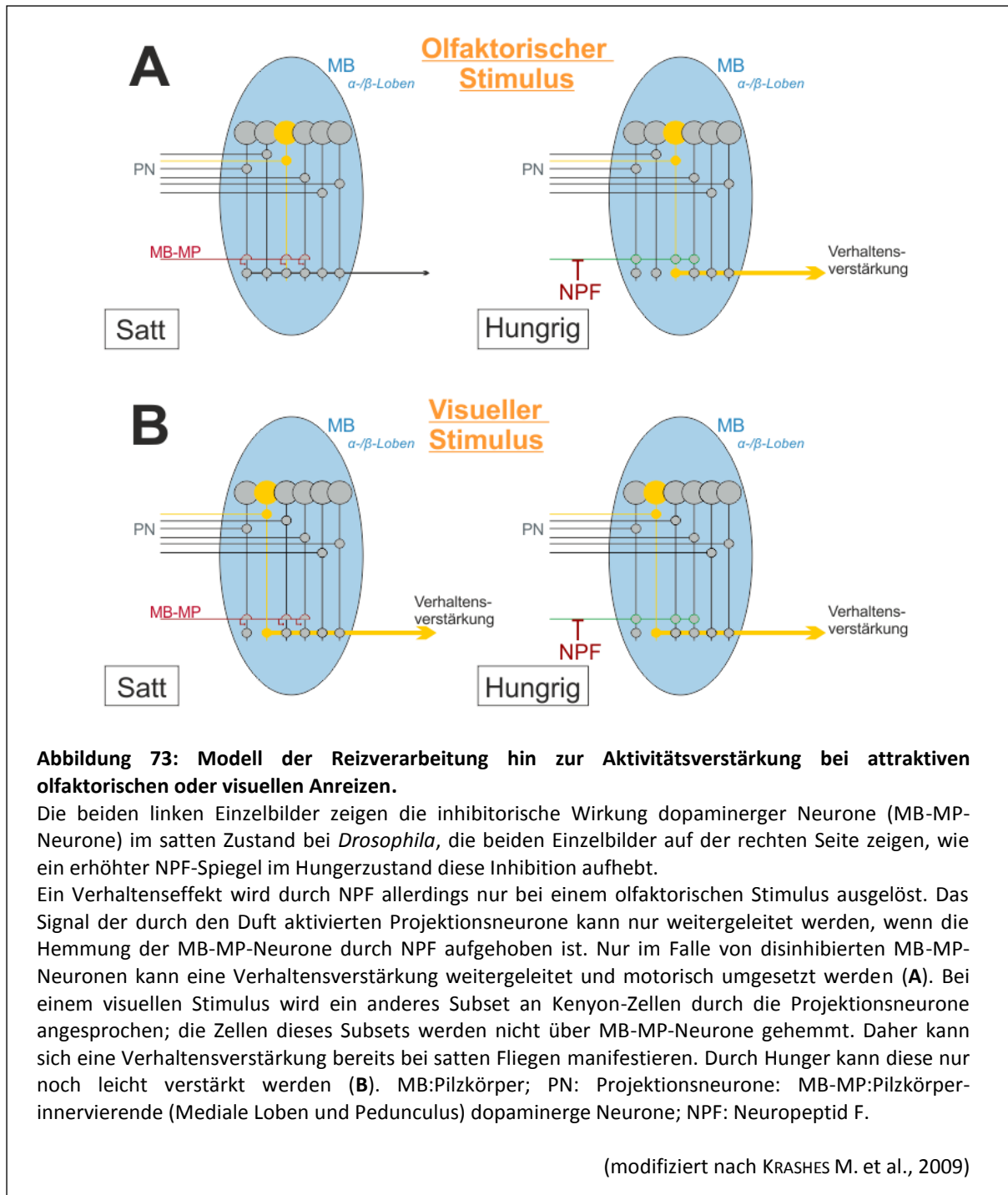
Interesse erweckt natürlich die Frage, welche Moleküle an der Vermittlung der Motivationssteuerung im Kletterverhalten beteiligt sind. Dieses Thema wurde mit einer Versuchsreihe angeschnitten, da Neuropeptid F (NPF) ein möglicher Kandidat zur Motivationssteigerung des Kletterverhaltens sein könnte. Dieser Signalstoff – das Ortholog in Säugern ist Neuropeptid Y – wird primär mit der Vermittlung von Stress und Emotionen in Verbindung gebracht (BEVILACQUA L. UND GOLDMAN D., 2011). Eine Literaturrecherche bezogen auf *Drosophila* zeigt jedoch zusätzlich, dass dieses Peptid eine Rolle im Futtersuch- und Fressverhalten der Tiere spielt, und das sowohl im Larven- als auch im Adultstadium. Wird die Leistungsfähigkeit der Fliegen im olfaktorischen, appetitiven Lernen mittels der Tully-Quinn-Maschine (TULLY T. UND QUINN W., 1985) abgefragt, müssen die Tiere sich in einem vorgehungerten Zustand befinden, um Gedächtnisleistungen aufzuzeigen. Eine Stimulation der NPF-Neurone löst eine vergleichbare Leistung bereits in satten Tieren aus, daher lässt sich mithilfe einer artifiziellen Stimulation der NPF ein Hungerzustand in den Tieren nachahmen (KRASHES M. et al., 2009). Ähnliche Ergebnisse zeigen Studien zu larvalem Fressverhalten, eine erhöhte Signalaktivität von NPF löst eine Futteraufnahme in eigentlich satten Larven aus, selbst wenn das Futter oder die Außenbedingungen widrig sind (WU Q. et al., 2005; LINGO P. et al., 2007). Dem Pilzkörper wird in diesem Verhalten eine zentrale Rolle zugeschrieben; Hunger lässt den NPF-Spiegel steigen und NPF wirkt wiederum enthemmend auf dopaminerge Neurone, die den α -Lobus des Pilzkörpers innervieren. Diese Innervierung bewirkt, dass die Neurone des Pilzkörpers, die von dem Duft angesprochen werden, ein Signal weiterleiten können und dadurch ein konditioniertes Verhalten auslösen (KRASHES M. et al., 2009).

Diese Verknüpfung von NPF mit hungerinduzierter Verhaltensverstärkung ist interessant, da bei Experimenten mit Kletterverhalten im Rahmen dieser Arbeit die Fliegen ebenfalls in einem vorgehungerten Zustand die besseren Ergebnisse erzielten. Außerdem zeigten die Tiere schon bei alleinigem Vorhungern ohne externen Duft die Tendenz zu verstärkten Kletterbemühungen; an der 3,5 mm Lücke prägte sich dies besonders stark aus (**Abbildung 20**). Der Einfluss des intrinsischen Motivators Hunger wird daher genutzt, um eine Reaktion auf ein extrinsisch gesteuertes Verhalten zu verstärken, ähnlich wie im appetitiven Lernen in der Tully-Quinn-Apparatur. Ein Knockdown der Expression von *npf* in NPF-exprimierenden Neuronen zeigt allerdings keine Auswirkung auf die

Motivationserhöhung im Kletterverhalten bei Präsentation einer attraktiven Landmarke. Basierend auf den Kenntnissen zu der Verhaltensverstärkung durch NPF im Fressverhalten wäre zu erwarten gewesen, dass eine Absenkung des NPF-Spiegels den Anstieg in den Bemühungen auslöscht, allerdings führt die künstliche Absenkung des NPF-Spiegels in den Fliegen nicht zu einer Unterdrückung des motivierten Verhaltens in Reaktion auf die Landmarke. Bei der Auswertung dieses Ergebnisses muss allerdings beachtet werden, dass in den Versuchen zur visuellen Landmarken-Motivation mit Knock-down von *npf*, die Fliegen nicht vorgehungert waren (**Abbildung 36**). Daher besteht die Möglichkeit, da der Parameter "Hunger" ein ausschlaggebender Faktor ist, sich die Wahl der attraktiven Landmarke als Reiz bei den vorliegenden Ergebnissen als ungünstig erwies. Eine Modulation des Kletterverhaltens im Zusammenhang mit einer Anhebung oder Absenkung des NPF-Spiegels hätte sich daher besser unter dem Einfluss von Futterduft in Kombination mit Vorhungern der Fliegen nachweisen lassen.

Eine mögliche Erklärung für diese Unterscheidung in der Bedeutung des Parameters Hungers bei visueller oder olfaktorischer Motivationssteuerung könnte im Modell von KRASHES gefunden werden. KRASHES postuliert, dass durch Hunger modulierte NPF-sensitive, dopaminerge Neurone (B-MP-Neurone) in den α -/ β -Loben eine Desinhibition verursachen und dazu führen, dass eine Verhaltensverstärkung im Sinne eines konditionierten Verhaltens möglich wird. Sie nehmen dabei allerdings keinen direkten Einfluss auf die sensorische Repräsentation des Duftes im Pilzkörper: eine alleinige Stimulation dieser Neurone ohne einen Duft reicht nicht für eine Konditionierung.

Der beobachtete Motivationsanstieg im Kletterverhalten, der durch eine Prozessierung visueller Landmarken-Stimuli im Pilzkörper ausgelöst wird, würde den vorliegenden Experimenten nach nicht über NPF-sensitive Neurone beeinflusst. Diese Beobachtung ließe sich eventuell durch eine Abwandlung des bestehenden Modells von KRASHES erklären, wenn ein Input in die Kenyon-Neurone der α -/ β -Loben der Pilzkörper über grundlegend verschiedene Neurone erfolgen würde (**Abbildung 73**). Dies würde bedeuten, dass durch visuelle Informationen im Vergleich zu olfaktorischem Input eine unterschiedliche Teilmenge Kenyon-Neurone in den α -/ β -Loben durch die dopaminergen Neurone aktiviert wird (**Abbildung 73B**). Diese Kenyon-Zellen liegen zwar in den gleichen Loben, weisen allerdings keine oder nur eine geringe Überlappung mit der Untergruppe von Kenyon-Neuronen auf, die durch die Projektionsneurone mit Duftinformationen aktiviert werden und hierbei über NPF modulierbar sind (**Abbildung 73A**). Unterstützt wird diese Hypothese von KRASHES' Feststellung, dass in bisherigen Studien die dopaminergen Neurone, die den Pilzkörper innervieren, stets als Gesamtheit angesprochen wurden, seinen Daten nach aber diese dopaminergen Neurone eher individuell oder in kleinen Gruppen behandelt werden sollten.



Ein Unterschied liegt natürlich in der Tatsache, dass in dem Modell nach KRASHES die Fliegen im Zuge der Konditionierung eine konkrete Belohnung erfahren, dabei ist es möglich, dass die Stärke der Belohnung in den Tieren über NPF moduliert wird. In dem Kletterparadigma dieser Arbeit erfahren die Tiere jedoch keine konkrete Belohnung, da die gegenüberliegende Seite unerreichbar bleibt. Daher besteht die Möglichkeit, dass Hunger zwar die Klettermotivation steigert, dies aber nicht über den NPF/MB-MP-Pfad reguliert wird.

Dieses Modell bietet aber einen interessanten Ansatz für weitere Experimente, da KRASHES die Vermutung äußert, dass die MB-MP-Neurone generell das Explorationsverhalten

fördern könnten und modulierend in voneinander unabhängigen Kreisläufen für verschiedene Aspekte des Futtersuch-Verhaltens eingreifen.

Zusammenfassend lassen sich einige Übereinstimmungen zwischen der humanen Motivations- und Entscheidungssteuerung und der Modulation in *Drosophila melanogaster* erkennen. Der Kernbefund der erzielten Ergebnisse zur Motivationssteuerung ist, dass die motivationsbeeinflusste Entscheidung von *Drosophila*, ein bestimmtes Verhalten trotz hoher Energiekosten einzuleiten, sowohl von visuellen als auch von olfaktorischen Stimuli ausgelöst werden kann und sie in den α -/ β -Loben der Pilzkörper verarbeitet wird. Über die hierbei involvierten Neurotransmitter-Systeme sind dabei nur Spekulationen möglich.

Wie bei Beobachtungen im Tierreich wird auch in humanen Modellen dargestellt, dass Motivation durch Belohnung die Leistung über die üblichen Grenzen hinaus treiben kann (ESTERMAN M. et al., 2015). Gerade in den motorischen Systemen humaner Probanden zeigen bestimmte Modelle, dass eine Belohnungsaussicht sowohl die Geschwindigkeit als auch die Präzision der Ausübung verbessert. Entscheidungen werden mit steigender Belohnung ebenfalls schneller und akkurater (MANOHAR S. et al., 2015). Als weitere Parallele ist bekannt, dass bei einer durch externe Faktoren angetriebenen Motivation, das ventrale Striatum eine wichtige Rolle spielt und dieses durch dopaminerge Neurone des mesolimbischen Systems innerviert wird. Die Vermittlung von Motivation über den Neurotransmitter Dopamin ist daher in Vertebraten wie in Invertebraten von zentraler Bedeutung (COOLS R., 2008). Ebenso bemerkenswert ist eine weitere Parallele: der Neurotransmitter NPY nimmt auch in Vertebraten in essensmotiviertem Verhalten eine wichtige Rolle ein. Studien belegen, dass eine Interaktion zwischen NPY und Dopamin auf der Ebene der *Area tegmentalis ventralis* im limbischen System die Motivation für Futterbelohnung steuert (PANDIT R. et al., 2013).

Diese großen Übereinstimmungen zwischen Vertebraten- und Invertebraten-Systemen verdeutlichen einmal mehr die grundlegende Bedeutung der Forschung in *Drosophila*, gerade auch dahingehend, wie aufschlussreich eine weitere Charakterisierung eines "limbischen Systems" in der Taufliege sein kann.

4.2 Charakterisierung eines depressionsähnlichen Verhaltens von *Drosophila* als Antwort auf konstante Stressreizung

4.2.1 Verhaltensanalyse von *Drosophila* bei unkontrollierbaren Vibrationsreizen

Die psychische Erkrankung Depression lässt sich durch vegetative und motorische Symptome wie Appetitlosigkeit, Müdigkeit, Antriebslosigkeit, Energieverlust und eine geringe Aktivitätsrate kennzeichnen (WITTCHEN H. et al., 2010). Aufgrund der hohen Prävalenz dieser Krankheit (Schätzungen zufolge litten im Jahr 2011 18,4 Mio. Menschen in Europa an Depression) findet eine intensive Forschung in diesem Bereich statt (BEESDO-BAUM K. UND WITTCHEN H., 2011). Die unmittelbare Betrachtung von Patienten steht dabei im Mittelpunkt, allerdings können auch Tiermodelle aufschlussreiche Grundlagenerkenntnisse liefern. Selbst wenn das gesamte Krankheitsbild mit all seinen Facetten sich in Tieren nicht nachbilden lässt, können doch einige aktuelle Tierparadigmen Einblick in neurobiologische Hauptkomponenten und -signalwege gewähren, besonders in Bezug auf verhaltensrelevante Faktoren (BERTON O. et al., 2012).

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein depressionsartiger Zustand in *Drosophila melanogaster* erzeugt. Hierbei sind besonders die Merkmale Antriebslosigkeit, kraftloses Verhalten und die geringe Aktivitätsrate von Interesse, da die sich bei den Tieren leicht beobachten lassen. Erste Experimente dazu entwickelte BROWN G. (1996) nach dem Prinzip des Learned Helplessness-Modells in *Drosophila*. In seinen Untersuchungen wurden Fliegen in einer Y-Labyrinth-Apparatur mithilfe eines Vortex-Schüttlers bestraft. Im Anschluss wurde ihr Fluchtverhalten zwölf Stunden später in einer "Shuttle-Box" überprüft, wobei die Tiere, die unkontrollierbaren Schüttelbestrafungen in der Apparatur ausgesetzt waren, eine stärker verlängerte Latenzzeit zur Flucht zeigten, als die Fliegen, die ihre Bestrafungen über ihr Verhalten kontrollieren konnten. Aus den Aufzeichnungen ist jedoch leider nicht ersichtlich, ob diese Versuchsreihe mit männlichen oder weiblichen Tieren durchgeführt wurde. Jahre später wurden diese Experimente von YANG Z. et al. (2013) wieder aufgenommen, bei ihnen erfolgte die Bestrafung jedoch über einen Hitzereiz von 37°C. YANG und Kollegen beobachteten bei den Fliegen, die eine unkontrollierbare Bestrafung erhalten hatten, sowohl eine kognitive Verhaltenskomponente als auch ein Learned Helplessness-Verhalten. Die kognitive Komponente beschrieben sie als erlernte Unkontrollierbarkeit, da die Tiere mit der Zeit keine unmittelbare Reaktion mehr auf den Bestrafungsreiz zeigten, wenn sie ihn nicht beeinflussen konnten. Als Learned Helplessness-Komponente beschrieben sie dagegen eine durch die unkontrollierbaren Bestrafungen ausgelöste verminderte Grundaktivität der Tiere, die sich in einer verminderten Laufgeschwindigkeit und -aktivität ablesen ließ. Interessant ist hierbei, dass dieser Verhaltensphänotyp geschlechtsspezifisch in einer unterschiedlichen Ausprägung auftrat. Weibliche Tiere zeigten eine höchst signifikant verminderte Laufgeschwindigkeit, während sich bei den Männchen lediglich eine Tendenz in den Daten erkennen ließ. Dies ist wenig überraschend, da bekannt ist, dass weibliche Tiere artübergreifend eine stärkere Anfälligkeit gegenüber Depressionsverhalten zeigen (KOKRAS N.

et al., 2012). Bei Menschen sind Frauen doppelt so häufig von Depressionen betroffen wie Männer (25% versus 12.3%) (BEESDO-BAUM K. UND WITTCHEN H., 2011).

Bei der Konzeption des in dieser Arbeit zur Erzeugung depressionsartiger Zustände verwendeten Versuchsaufbaus kam es zu einer grundlegenden Veränderung in der Art der Stressverabreichung. Nach bisherigen Vorgehensweisen im Sinne des Learned Helplessness-Protokolls erfolgte die Bestrafung der Tiere stets gekoppelt ("Triadic Design"; DURGAM R., 2001). Ein Tier kontrollierte sowohl seine eigene, als auch die Bestrafung eines weiteren Individuums, was einen direkten Vergleich der Datensätze möglich macht. Andererseits kann es den Stresslevel der beteiligten Tiere reduzieren, da das sogenannte "Master-Tier" die Bestrafung weitestgehend vermeidet und somit auch die Bestrafung des angekoppelten Tieres verringert wird. Diese Senkung der Stressreizung in dem Tier, das der unkontrollierbaren Bestrafung unterworfen ist, könnte einen verminderten, instabileren Phänotyp hervorrufen. Dies könnte die Ursache dafür sein, dass YANG Z. und Kollegen in ihren Experimenten nur einen Phänotyp in weiblichen und nicht in männlichen Tieren belegen konnten. Daher fließt in die Vorgehensweise dieser Arbeit auch das Modell des "Chronic Mild Stress" mit ein. Der Stress wird den Tieren über mehrere Tage etliche Stunden am Stück und in festgelegten Intervallen verabreicht, da sich dementsprechend die Behandlungen der Tiere nicht voneinander unterscheiden und dies keinen Einfluss auf den Phänotyp nimmt. Der Stressreiz wird in Form von mechanischer Vibration bei einer unangenehmen Frequenz produziert; diese Frequenz wurde bei vorhergehenden Untersuchungen auf Grund von Vermeidungsreaktionen festgelegt (RIES A., 2011). Ein Schütteln hat sich in vorhergehenden Studien bei Insekten als stressauslösend bestätigt; die ersten Ergebnisse zu *Drosophila* wurden 1996 mithilfe von Schüttelreizen auf einem Vortex-Schüttler erzielt (BROWN G., 1996). Ebenso ließ sich in einer späteren Studie aufzeigen, dass Bienen nach einem ein-minütigen heftigen Schüttelreiz zu einer pessimistischen Urteilsverzerrung in Entscheidungen neigen. Die Bienen bewerteten einen neutralen Reiz tendenziell verstärkt als negativ, zusätzlich ließ sich in der Hämolymphe der geschüttelten Tiere ein signifikant vermindertes Level an Serotonin, Dopamin und Octopamin messen; die Behandlung hat daher nachweisbare physische Auswirkungen auf die Tiere gezeigt (BATESON M. et al., 2011).

Die in dieser Arbeit verwendete Apparatur erfüllt ein wichtiges Kriterium, das sowohl bei Versuchen des Learned Helplessness-Modells, sowie dem "Chronic Mild Stress"-Modell gefordert wird: die unkontrollierbare Bestrafung der Tiere sollte in einem anderen Umfeld erfolgen als ihre anschließende Testung. Dies zeigt einerseits, dass eine nachhaltige Beeinträchtigung der Tiere stattgefunden hat, die nicht nur einer ortsgebundenen Konditionierung entspricht. Andererseits wird so eine Vergleichbarkeit zu den ursprünglichen Studien zu Learned Helplessness und "Chronic Mild Stress" in unterschiedlichen Organismen hergestellt, da diese immer mit einer Kontextänderung verknüpft waren (OVERMIER J. UND SELIGMAN M., 1967; MAIER S. UND WATKINS L., 2005). Daher wurde die – anschließend an die Vibrationsreize – durchgeführte Testung der Aktivität der Fliegen mehrheitlich im Kletterparadigma vorgenommen, das bereits bei den Verhaltensversuchen in Bezug auf Motivationssteigerung bei *Drosophila* verwendet worden

war. Aufgrund der dabei erzielten Ergebnisse konnte davon ausgegangen werden, dass sich in diesem Paradigma die intrinsische Motivation der Tiere und ihre Aktivität gut ablesen lassen. Die Wahl des Kletterparadigmas bedingte allerdings, dass die Versuche durchgehend mit männlichen Versuchstieren durchgeführt wurden. Weibliche Tiere eignen sich für diese Testung weniger gut, da sie starken hormonellen und Gewichtsschwankungen aufgrund ihrer Eiproduktion und ihrem Eiablageverhalten unterworfen sind. In Untersuchungen wird deutlich, dass sich das Verhalten der weiblichen Tiere nach der Paarung verändert, sie zeigen nach der Kopulation beispielsweise ein verändertes Schlafverhalten und eine erhöhte Lokomotion bedingt durch die Übertragung des "Sex Peptides" (ISAAC R. et al., 2010). Dies macht deutlich, wie stark Schwankungen im Hormonhaushalt der Weibchen ihr Verhalten beeinflussen, daher wird es schwierig eine Aussage zu machen, ob sich ihr Verhalten aufgrund der äußeren oder der inneren Faktoren verändert. Zudem verändert sich ihr Körpervolumen im Rahmen ihrer Eireifung sichtlich, sodass sie abhängig von ihrem Eiablagezyklus körperlich die Lücken möglicherweise schlechter überwinden können. Da Weibchen tendenziell einen stärkeren Phänotyp in dem Learned Helplessness-Verhalten aufzeigten (YANG Z. et al., 2013), lässt sich spekulieren, dass angewandte Prozedur bei ihnen einen ähnlichen, wenn nicht sogar stärker ausgeprägten Phänotyp hervorrufen würde.

Das benötigte Ausmaß der Stressbelastung wurde durch eine Versuchsreihe zur Entwicklung des depressionsartigen Phänotyps festgelegt (**Abbildung 37**). Wurden die Fliegen den Stressreizen in unterschiedlich lang andauernden Zeitabschnitten ausgesetzt, ließ sich klären, dass eine Zeitspanne von drei Tagen nötig ist, um einen ausreichenden Stressspiegel in den Tieren zu erzeugen, der sich dann in ihrem Verhalten niederschlägt. Daher wurde diese Dauer von drei Tagen Stress für alle weiteren Experimente zu Erzeugung eines Depressionsphänotyps definiert. Neben der benötigten zeitlichen Komponente ließ sich in diesem Experiment gut beobachten, dass es im Rahmen der mehrtägigen kontrollierten Stressbeeinträchtigung zu einer linearen Aktivitätsabnahme der Fliegen kam, die in gewissem Sinne antiparallel zu der linearen Zunahme der Stressdosis steht. Es fand kein plötzlicher Verhaltensumschlag ab einem gewissen Schwellenwert statt, sondern der Stress löste eine additive Verhaltensveränderung in den Tieren aus. Hierbei entstanden dosisabhängig intermediäre Zustände, in denen die Tiere sich in einem Stadium zwischen ihrer Ausgangsaktivität und der depressionsartig-verminderten Aktivität befanden. Diese lineare Aktivitätsabnahme lieferte einen ersten Hinweis darauf, dass die Fliegen während der Vibrationsreize keine Verletzungen erleiden, denn solch eine verletzungsbedingte Behinderung würde sich schlagartig in dem Verhalten durch plötzliche Inaktivität bemerkbar machen (MADABATTULA S. et al., 2015).

Unter den festgelegten Bedingungen zeigte die Messung der Auswirkung andauernder, unkontrollierbarer Stressreize auf die Aktivität von *Drosophila*, dass die Tiere nach mehreren Tagen eine hoch bis höchst signifikant verminderte Aktivität sowohl in der Kletter- als auch in der Laufaktivität erkennen lassen (**Abbildung 38** und **Abbildung 39**). Zudem lässt sich auch deutlich eine Verzögerung in ihrem Balzbeginn ablesen (**Abbildung 40**). Die männlichen Tiere wurden bei einer Testung im Balzparadigma sexuell unerfahren abgesammelt, analog zu dem Versuchsprotokoll der Balzfrustration. Nach einer mehrtägigen

Stressreizung begannen sie hoch signifikant später mit dem typischen Balzverhalten gegenüber einem Weibchen, als die Fliegen aus der Kontrollgruppe ohne Stresseinwirkung. Der Verhaltensphänotyp lässt sich bei Betrachtung der Latenzzeit mit dem der männlichen *Drosophila* vergleichen, die über eine identische Zeitspanne mit verpaarten Weibchen eine erlernte Balzkonditionierung erfahren haben (**Abbildung 40**). Die größere Streuung der Datensätze in der Kontrollgruppe der Fliegen mit Vibrationsstress im Vergleich zu der Kontrollgruppe der Balzkonditionierung lässt sich dadurch erklären, dass die zum ersten Mal in die Balzkammer eingesetzten männlichen Tiere sich erst orientieren und an die für sie unbekannte Umgebung gewöhnen müssen. Die Tiere der Balzkonditionierungs-Kontrollgruppe dagegen werden immer synchron zu den Tieren der Testgruppe in die leeren Balzkammern eingesetzt; daher ist ihnen das Paradigma vertraut, sie reagieren sofort auf das hinzugesetzte Weibchen.

Insgesamt lassen die gesammelten Daten zur Reaktion von *Drosophila* auf unkontrollierbare, andauernde Stressreize durch Vibration eine starke Veränderung im Verhalten der Fliegen nach der Vibrationseinwirkung erkennen. Die neu entwickelte Vibrations- Stressbehandlung zeigte in *Drosophila* Auswirkungen auf ganz unterschiedliche Lebensbereiche der Tiere. Da diese Auswirkungen sich dabei durchgängig durch eine deutliche Verminderung ihrer Aktivität manifestierten, lässt dies darauf schließen, dass es sich hierbei um eine depressionsartige Reaktion auf die vorherige konstante Stresssituation handelt.

Aufgrund dieser starken Verhaltensausrückung wurde die Verhaltensreaktion der Tiere während der unmittelbaren Applikation der Vibrationen bei 300 Hertz beobachtet. Die Aufnahmen der Hochgeschwindigkeitskamera (CD im Anhang) zeigen, dass die Tiere unmittelbar auf das Einsetzen des Schüttelns reagieren. Sie zeigen ein hektisches Fluchtverhalten und versuchen aus der Kammer zu entfliehen. Dabei klettern sie an der Innenwand des kleinen Plexiglas-Röhrchen hinauf, woraufhin sie häufig den Halt verlieren und auf den Rücken fallen. Dieser für sie ungewohnten, stressreichen Position versuchen sie durch starke Bewegung zu entkommen und sich wieder aufzurichten. Eine Verschärfung der Situation wird dadurch erreicht, dass etliche Fliegen zusammen in einem kleinen Röhrchen auf engen Raum gedrängt werden. Dadurch rempeln sie sich bei ihren hektischen, desorientierten Fluchtversuchen ständig an, reißen im Fallen andere Tiere mit oder stürzen auf Artgenossen. Dies führt zu zusätzlichen sozialen Stress in Form von Aggression, erkennen lässt sich dies in den Videoaufnahmen durch das mehrmalige Anzeigen von „Wing threats“ einzelner Fliegen. "Wing threats" sind ein typisches Anzeichen für wachsende Aggression, die bei Konkurrenz um Weibchen oder um knappe Futterressourcen zu Kampfhandlungen führt. Ein männliches Tier lässt bei Beginn der Aggressionsinteraktion beide Flügel in einen Winkel von 45° hochschnellen, um den Gegner einzuschüchtern (CHEN S. et al., 2002).

Dieser zusätzliche soziale Stress hat sich in Vorversuchen als entscheidend für die Entwicklung des depressionsartigen Verhaltens gezeigt. Eine Einzelhaltung der Tiere in den Röhrchen ließ den Phänotyp stark abgeschwächt ausfallen.

Es wurden mehrere Videos über die viertelstündige Vibrationssequenz aufgezeichnet, um das Verhalten der Tiere über eine größere Zeitspanne zu beobachten. Ebenso wurden

die Tiere an unterschiedlichen Tagen der Sequenz, sowie zu unterschiedlichen Tageszeiten betrachtet. Es zeigte sich, dass während einer viertelstündigen Einheit von Vibrationsreizen die Tiere gegen Ende weniger stark auf die Vibrationsreize reagieren, sie werden ruhiger und klammern sich an bestimmten Stellen fest. Es lässt sich spekulieren, dass die Tiere aufgrund der Ausweglosigkeit der immer wiederkehrenden Reizung ihre Aktivität drosseln, in der Situation ausharren und die Vibrationen erdulden. Nach einer halbstündigen Pause zeigen sie am Beginn einer neuen Vibrationseinheit dann wiederum erneut ein starkes Stressverhalten.

Über die gesamte Zeitspanne mehrerer Tage wurde an jedem Tag die Reaktion der Tiere auf den ersten Vibrationsreiz beobachtet. Die Tiere zeigten an allen Tagen ein hektisches, aufgeschrecktes Verhalten, sie waren äußerst aktiv, fast panisch. Daher ist nicht davon auszugehen, dass die Fliegen sich an die immer wiederkehrenden Stressreize in bestimmter Form gewöhnen. Die Reize erwiesen sich jeden Tag erneut als eine große Stressbelastung. Nur im *Verlauf eines Tages* ist eine Abschwächung des Panikverhaltens zu erkennen, die Tiere zeigen nach mehrstündigen Zyklen an Vibrationsreizen weniger Aktivität in ihrer Kammer. Dennoch kommt es auch zu einem späteren Zeitpunkt noch zu aggressivem Verhalten; die Tiere verdrängen sich gegenseitig von vermeintlich guten Plätzen durch Schieben und Treten. Das Verhalten der Tiere wird aber insgesamt weniger hektisch und aufgeregt. Es wäre möglich, dass die Tiere eine gewisse Apathie entwickeln. Da es kein Entkommen und kein Vermeiden der Stresssituation gibt, versuchen sie scheinbar die Situation durchzustehen und nicht mehr länger unnötige Energie auf erfolglose Fluchtversuche zu verschwenden. Soziale Interaktionen mit anderen Männchen führten aber bei nahem Kontakt dennoch dazu, dass sie sich wehren und aggressiv reagieren. Dies lässt deutlich werden, dass sie nicht in dem Maße geschwächt werden, dass sie sich nicht mehr wehren oder Reaktionen zeigen können. Die Fliegen zeigten in den längeren Erholungspausen, in denen keine Vibrationen stattfanden, später am Tag ein deutlich ruhigeres Verhalten. Während sie morgens währenddessen agiles Explorationsverhalten zeigten und die Wände des Röhrchens erklimmen, verhielten sie sich nachmittags ruhig und langsam. Ihr Verhaltensspektrum nimmt ab und reduziert sich größtenteils auf Putzverhalten, die Tiere wirken teilnahmslos. Dies könnte bedeuten, dass – wie schon im Laufe einer viertelstündigen Vibrationseinheit – die Tiere mit zunehmenden, wiederkehrenden Stressreizen eine Antriebs- und Teilnahmslosigkeit erkennen lassen. Eine Verringerung einer Vermeidungsreaktion könnte auf erste Ansätze eines Learned Helplessness-Verhaltens schließen lassen. Die Tiere zeigen aufgrund der Ausweglosigkeit keine Versuche mehr, den unangenehmen Einwirkungen zu entkommen, nur ein vermeintlicher Angriff eines Artgenossen kann noch Verteidigung hervorrufen.

Ein weiteres Argument für die Aktivitätsverminderung der Tiere in den unterschiedlichen Versuchsaufbauten wäre allerdings auch eine vollkommene Erschöpfung der Tiere. Dies hätte ihre motorische Agilität eingeschränkt und sich auch bei Verhaltensweisen wie beispielsweise Klettern negativ auf die Verhaltensabläufe und dadurch bedingt die Aktivität ausgewirkt. Die Beobachtung von Tieren im Anschluss an die mehrtägige Stressbelastung in einem weiteren Paradigma, der schnellen Phototaxis (BENZER

S., 1967; **Abbildung 41**) zeigte, dass die Tiere sich bei diesem Fluchtverhaltenstest gänzlich normal verhalten. Es gelingt ihnen dank hoher Laufgeschwindigkeit und gerichtetem Laufverhalten die Seite der Phototaxis-Röhren zu erreichen, die dem Licht zugewandt sind. Das Phototaxis-Paradigma wird für multiple Lauf- und Reaktionsgeschwindigkeitsanalysen gebraucht, es lässt daher zuverlässige Aussagen über die lokomotorische Fähigkeit der Tiere zu (STRAUSS R. UND HEISENBERG M., 1993). Der Unterschied in diesem Paradigma zu den vorherigen Aktivitätsanalysen besteht darin, dass in den Tieren durch das Schütteln eine Fluchtreaktion ausgelöst wird, ihre Aktivität wird durch diese Erschütterungen erzwungen. Diese Fluchtreaktion stellt in den Fliegen ein instinktives Verhalten dar, dieses ist unabhängig von ihrem intrinsisch motivierten Bewegungsverhalten. Diese Abgrenzung der Verhaltensanalyse von dem inneren Zustand und der intrinsischen Motivation machte es möglich, die rein körperliche Leistungsfähigkeit der Tiere zu ermitteln. Mögliche Verletzungen oder auch eine starke Erschöpfung der Fliegen hätte sich in diesem Paradigma sofort erkennen lassen, da diese Faktoren die Laufgeschwindigkeit der Tiere beeinträchtigt hätten.

Somit lässt sich festhalten, dass es möglich ist, in *Drosophila melanogaster* ein depressionsartiges Verhalten über andauernden, unkontrollierbaren Stress in Form von Vibrationsreizen zu erzeugen. Dieses depressionsartige Verhalten zeigt sich in einer starken Abnahme der Aktivität der Tiere auch in anderen, als den zur Erzeugung benutzten Verhaltenszusammenhängen, sofern diese Aktivität auf einer intrinsischen Motivation zu Bewegungen beruht. Der angeborene Fluchtreflex der schnellen Phototaxis ist dabei nicht beeinträchtigt.

Als nächstes stellte sich die Frage, ob es nach einer gewissen Phase ohne Stresseinwirkung wieder zu einer Erholung von dem depressionsartigen Zustand kommt. Nach einer Erholungsphase von drei Tagen, in der gestresste Fliegen keinen externen Einflüssen mehr ausgesetzt wurden und unbegrenzt Zugang zu Futter hatten, trat eine leichte (jedoch nicht signifikante) Verstärkung ihrer Kletteraktivität ein. Dieser tendenzielle Wiederanstieg in der Aktivität der Tiere wird in den Ergebnissen dadurch deutlich, dass ihre Kletteraktivität nach der Erholungsphase intermediär zwischen dem Zustand nach Stress und dem Zustand von Kontrollfliegen ohne Stress anzusiedeln ist (**Abbildung 42**).

Dies deutet darauf hin, dass es wahrscheinlich eine langsame Entwicklung zurück zu ihrem normalen Verhalten gibt, sobald die gestressten Fliegen einen gewissen Zeitraum von externen Stressfaktoren verschont bleiben; eine solche Erholung könnte daher eine langsame Wiederkehr in den ursprünglichen Grundzustand verursachen. Dies deckt sich mit Aufzeichnungen zu dem Learned Helplessness-Phänomen bei Mäusen und Ratten in der Shuttlebox oder in deren Schwimmverhalten. Hier konnte eine Verringerung in der Aktivität nur dann nachgewiesen werden, wenn eine Testung der Tiere 48 bis 72 Stunden nach der Erfahrung des unkontrollierbaren Stresses erfolgte (MAIER S. UND WATKINS L., 2005). Als Begründung dieses zeitlichen Verlaufs wird angeführt, dass die verringerte Aktivität durch eine motivationale/emotionale Zustandsveränderung gesteuert wird und dieser transitorische Wandel im Verhalten der Tiere alleine durch die Stresseinflüsse bedingt ist. Dies steht im Gegensatz zu einer assoziativen Konditionierung, die durch bestimmte

Umweltreize ausgelöst werden kann, wie beispielsweise die Angstkonditionierung (GREENWOOD B. et al., 2010). Bei einer motivational/emotional von innen heraus bedingten Verhaltensveränderung ist abzusehen, dass sie sich langsam abbaut, während eine Angstkonditionierung über einen langen Zeitraum stabil anhält (MAIER S. UND WATKINS L., 2005).

4.2.2 Vergleich zwischen dem depressionsartigen Verhalten und dem nach erlernter Balzkonditionierung erzeugten Frustrationszustand in *Drosophila*

Der oben beschriebene Zustand verminderter Aktivität lässt Ähnlichkeiten zu dem Phänotyp vermuten, der in der Balzfrustration von Männchen durch bereits verpaarte Weibchen ausgelöst wird. In der Balzfrustration minimiert das männliche Tier nach verstärkter Zurückweisung und stetig erfolgloser Balz sein Balzverhalten weiblichen Tieren gegenüber (SIEGEL R. UND HALL J., 1979). Das Absinken der Balzaktivität kann sowohl bei späterem Kontakt zu weiteren verpaarten als auch zu jungfräulichen Tieren beobachtet werden (KAMYSHEV N. et al., 1999). Dieses Verhalten ist allerdings eindeutig als assoziativer Lernprozess anzusehen, da die Männchen lernen, dass ihr gezeigtes Verhalten keinen Erfolg bringt und sie daraufhin ihre Bemühungen verringern. Daher ist dieses Verhalten ein oft gebrauchtes Beispiel für operante Konditionierung, da die Tiere lernen, ihre eigenen Handlungen an die bestehende Situation anzupassen (DISSEL S. et al., 2015). Tiere mit Defekten in der cAMP-Lernkaskade können diese Assoziation zwischen ihrem Balzverhalten und dem Misserfolg nicht bilden und zeigen trotz Zurückweisungen ein unverändertes Balzverhalten (GRIFFITH L. UND EJIMA A., 2009). Auch wenn anhand dieser Beobachtungen Parallelen zum olfaktorisch erlernten Verhalten klar hervortreten (PITMAN J. et al. 2009), entsteht in den Tieren zusätzlich eine Frustration, bedingt durch ihren andauernden Misserfolg in ihrem Fortpflanzungsverhalten. Dieser zunehmende Frustrationslevel lässt sich messbar darstellen, wenn den männlichen Tieren im Anschluss an ihre missglückten Balzversuche Alkohol bereitgestellt wird (SHOHAT-OPHIR G. et al., 2012). Die sexuell frustrierten Männchen zeigen im Vergleich zu den Kontrollgruppen eine deutlich messbare Zunahme in ihrem Alkoholkonsum. In Verbindung gebracht wurde diese Veränderung in der Alkoholpräferenz mit dem Neuropeptid F (NPF). Sexuell frustrierte Männchen zeigen in der Histologie einen nachweislich erniedrigten NPF-Spiegel im Gehirn einhergehend mit erhöhter Alkoholpräferenz. Eine künstliche Erhöhung des intrakraniellen NPF-Spiegels lässt den Alkoholkonsum wieder auf den Level der Kontrollgruppen absinken. Basierend auf diesen Beobachtungen wurde ein Modell konzipiert, dass dem NPF/NPFR-System auf neuronaler Ebene die Rolle des Belohnungssystems zuschreibt (SHOHAT-OPHIR G. et al., 2012). Es ist naheliegend, dass diese Befunde auch für den depressionsartigen Zustand interessant sein könnten, da in beiden Fällen ein Frustrationszustand in den Tieren bedingt wird. Anhand einer Versuchsreihe wurde daher überprüft, ob es Parallelen zwischen diesen beiden Frustrationszuständen in *Drosophila* gibt oder ob sich die Verhaltensphänotypen klar voneinander abgrenzen lassen.

Zu diesem Zweck wurden die Hauptmerkmale der Balzfrustration herausgearbeitet und mit dem Phänotyp der Tiere nach mehrtägiger Stresseinwirkung durch Vibrationen verglichen.

Ein zentrales Merkmal der Balzfrustration ist die Bindung des Verhaltens an das Paradigma, in dem es erzeugt wurde. Die Verminderung der Aktivität im Verhalten der männlichen Fliegen wird stets nur in Bezug auf ihren Kontakt zu den weiblichen Tieren und innerhalb der Balzkammern beschrieben (KAMYSHEV N. et al., 1999). Bei einer Überprüfung der Übertragbarkeit der Balzfrustration auf andere Verhaltensbereiche in dieser Arbeit zeigte sich, dass die Tiere in anderen Paradigmen keinerlei Verminderung in ihrem Verhalten erkennen lassen. Nach mehrtägiger Frustration durch verpaarte Weibchen im Balzparadigma zeigten sie weder eine Abnahme in ihrer Kletteraktivität noch eine Verminderung in ihrer Laufaktivität (**Abbildung 43**). Dies bestätigt die Vermutung, dass es sich bei der konditionierten Balzfrustration um eine orts- und situationsgebundene Verhaltensform handelt, die sich nicht auf unterschiedliche Lebensbereiche von *Drosophila* überträgt.

Ebenfalls von Bedeutung ist die oben beschriebene Auswirkung des Frustrationszustands auf den NPF-Spiegel in den Gehirnen der Tiere. Das Ausmaß der sexuellen Frustration korreliert direkt mit dem NPF-Level im Gehirn von *Drosophila*, sexuelle Frustration führt zu einem höchst signifikanten Absinken des NPF-Levels im Gehirn der Tiere (SHOHAT-OPHIR G. et al., 2012). In einer kürzlich erschienenen Studie ließ sich die Veränderung des NPF-Spiegels über einen transkriptionalen Reporter von intrazellulärem Calcium genauer lokalisieren, der NPF-Spiegel verändert sich durch das Auftreten einer Balzfrustration in einer oberen Schicht des Fächerförmigen Körpers (GAO X. et al., 2015). Zudem konnte nachgewiesen werden, dass sexuelle Frustration über längere Zeiträume bei männlichen Fliegen dazu führt, dass die Tiere weniger gut Fett einlagern können, eine verminderte Stressresistenz zeigen und eine höhere Sterberate aufweisen. Auffällig war hierbei, dass eine Blockade der synaptischen Transmission der *npf*-Neurone über *shi^{ts}* diese zuvor beobachteten Effekte aufhob. Nach einer lang anhaltenden Phase der sexuellen Frustration wurde in den Tieren ein Anstieg an NPF um 30% verzeichnet und bereits eine bloße Aktivierung der *npf*-Neurone verkürzte die Lebensspanne der männlichen Fliegen stark (GENDRON C. et al., 2014). Da all diese Ergebnisse darauf schließen lassen, dass eine sexuelle Frustration in direkter Korrelation mit einer Veränderung des NPF-Levels im Gehirn von *Drosophila* steht, wurde überprüft, ob eine Veränderung der Aktivität der *npf*-Neurone auch eine Auswirkung auf den durch Vibrationen ausgelösten depressionsartigen Zustand verminderter Aktivität zeigt. Sowohl eine Verstärkung der *npf*-Expression durch eine Überexpression mittels einer *npf*-GAL4- Treiberlinie, als auch eine Reduktion der NPF-Konzentration durch gezielte Expression eines RNAi-Konstrukts veränderte die Reaktion der Tiere auf die andauernde Stresseinwirkung nicht (**Abbildung 44**). Bei einem Einfluss von NPF auf diesen depressionsartigen Zustand wäre einerseits zu erwarten gewesen, dass die Tiere durch Erhöhung des NPF-Spiegels unempfindlich für die Stressreize werden und keine Verhaltensveränderung am Ende der Zeitspanne mit Vibrationsreizen mehr aufzeigen. Andererseits hätte eine Erniedrigung des NPF-Spiegels eine Verstärkung der Aktivitätsminderung auslösen können. Da sich keine Wirkung als Reaktion auf Veränderungen der NPF-Regulierung zeigte, lässt sich davon ausgehen, dass die hier

betrachtete Aktivitätsminderung nicht durch NPF gesteuert wird. Dies bildet einen weiteren grundlegenden Unterschied zu dem Zustand konditionierter Frustration durch sexuellen Misserfolg.

Von zentraler Bedeutung in der Balzfrustration ist, dass es sich hierbei um einen assoziativen Lernprozess handelt. Die männlichen Fliegen benötigen eine intakte Funktion der cAMP-Lernkaskade, um eine Verbindung zwischen der Zurückweisung des Weibchens und dem eigenen Balzverhalten herstellen zu können (DISSEL S. et al., 2015). Bei den bekannten Lernmutanten in *Drosophila*, wie beispielsweise Männchen der Stämme *rut*¹ und *dnc*¹ kann diese Assoziation nicht gebildet werden und die Tiere verändern ihr Verhalten auch nach andauerndem Misserfolg in der Balz nicht. Eine Überprüfung unterschiedlicher Trainingsprotokolle zeigt, dass diese Tiere weder ein Kurzzeit- noch ein Langzeitgedächtnis ausbilden können und gleichbleibend stark die Weibchen bebalzen (GRIFFITH L. UND EJIMA A., 2009). Dies wirft die Frage auf, ob der Zustand verminderter Aktivität nach den mehrtägigen Vibrationseinflüssen ebenfalls einer assoziativen Gedächtnisleistung bedarf. Die Wahrscheinlichkeit, dass die Tiere eine Form der Assoziation bilden können, ist relativ gering, da sie nach den andauernden Stressreizen in eine vollkommen neue Umgebung eingebracht werden, in der es keine Verknüpfungspunkte zu ihrer bisherigen Stresssituation gibt. Um diese Vermutung zu untermauern, wurden *rut*¹- ebenso wie *dnc*¹-mutante Stämme auf ihr Verhalten nach mehrtägiger Stresseinwirkung überprüft. Es lässt sich eindeutig nachweisen, dass sich bei den Lernmutanten kein weniger reduziertes Verhalten als in wildtypischen Tieren manifestiert (**Abbildung 45**). Beide Linien zeigen im Kletterverhalten einen höchst signifikanten Rückgang ihrer Aktivität, genau wie die *dnc*¹ mutanten Tiere in der Laufaktivität. Die *rut*¹ mutanten Tiere konnten nicht auf ihre Laufaktivität überprüft werden, da sie sich im Buridan's Paradigma nicht auf die Landmarken orientieren. Diese Ergebnisse belegen eindeutig, dass das depressionsartige Verhalten von *Drosophila* nicht mit cAMP-abhängigen assoziativen Lernprozessen einhergeht, sondern als emotional/motivationsbedingte Verhaltensänderung anzusehen ist.

Anhand von Ergebnissen, die im Rahmen einer weiteren Versuchsreihe später diskutiert werden, war zu sehen, dass Saccharose-Aufnahme sich positiv auf den Depressionsphänotyp in *Drosophila* auswirkt. Die Verfütterung einer 5%igen Saccharose-Lösung bewirkte, dass sich in den Fliegen die Kletteraktivität ihres Ausgangszustands vor dem andauernden Stress wieder einstellte (**Abbildung 49**). Da diese Versuche belegen, dass Zuckeraufnahme demnach eine Aufhebung der Aktivitätsminderung bewirkt, soll die Wirkung von Saccharose auch auf die konditionierte Balzfrustration überprüft werden. Beide Testgruppen wurden zeitlich parallel über mehrere Tage der jeweiligen Stresssituation unterworfen; die einen Tiere bekamen über drei Tage Vibrationsreize, die anderen erduldeten ebenfalls an drei Tagen zweimal täglich die Balzfrustration. Bei allen Tieren wurde anschließend zum gleichen Zeitpunkt im Test die Latenzzeit zur ersten Balzaktivität in der Balzkammer abgefragt. Bei beiden Gruppen trat unabhängig von der Art der Stressvorbehandlung eine vergleichbar hoch bzw. höchst signifikante Verzögerung in der Latenzzeit bis zum Balzbeginn auf. Allerdings führte die anschließende Verfütterung einer Saccharose-Lösung über 16 Stunden mit erneuter Stressbehandlung zu einer Divergenz in

den Verhaltensphänotypen der beiden betrachteten Gruppen (**Abbildung 46**). Bei Tieren, die eine mehrmalige sexuelle Frustration erfahren hatten, blieb die Latenzzeit bis zum Auftreten des Balzverhaltens weiterhin trotz Zuckeraufnahme in fast unveränderter Form verzögert. Dagegen war diese Verzögerung in der Testgruppe, die unkontrollierbare Vibrationsreize erhalten hatte, wieder aufgehoben und ihre Latenzzeit entsprach den Werten der Tiere, die keine Stressreizung erfahren hatten.

Es zeigt sich, dass die Zuckeraufnahme die beiden unterschiedlich erzeugten Balzverzögerungen verschiedenartig beeinflusst, daher lässt sich die Wirkung von Zucker als weiterer Unterschied zwischen konditionierter Frustration und Depressionsphänotyp festhalten. Auf die Wirkung von Saccharose im Depressionsverhalten wird später noch genauer eingegangen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Frustration, die im Zuge der konditionierten Balzunterdrückung entsteht, in keinem der untersuchten Aspekte mit dem Depressionsverhalten nach mehrtägigen Stressreizen durch Vibrationen übereinstimmt. Daher ist davon auszugehen, dass es sich um zwei verschiedene Verhaltensmechanismen handelt, die nicht miteinander verwechselt werden dürfen.

4.2.3 Auswirkung von Serotonin auf den depressionsartigen Verhaltensphänotyp

Serotonin ist einer der Schlüssel-Neurotransmitter in der Erforschung von Depression und Angstverhalten (CANLI T. UND LESCH K., 2007). Im Menschen ist bekannt, dass Serotonin bei Depression, Manie und bipolaren Störungen modulierend wirkt und diese zumindest teilweise durch eine verminderte Verfügbarkeit von Serotonin im ZNS bedingt werden. Daher basieren viele handelsübliche Antidepressiva auf einer Erhöhung des Serotoninspiegels an zerebralen Synapsen (MOHAMMED-ZADEH L. et al., 2008). Besonders interessant wird Serotonin dadurch, dass es omnipräsent im Tierreich ist. Es tritt sowohl in Vertebraten als auch Invertebraten auf und moduliert zentrale Aspekte des Verhaltens (HAINER C. et al., 2015). So ist aus der Forschung an Tiermodellen zu dem Learned Helplessness-Verhalten in etlichen Studien ein Einfluss von Serotonin auf das depressionsartige Verhalten berichtet worden. In Tieren ließ sich nach Stresseinfluss eine Absenkung des Serotoninlevels in wichtigen kortikalen Arealen verzeichnen und sie sprechen gut auf humane Antidepressiva an (PETTY F. et al., 1992). Daher wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen dem depressionsartigen Verhalten in *Drosophila* und dem Neurotransmitter Serotonin besteht. Eine Serotonin-Vorstufe wurde den Fliegen hierbei oral verabreicht, denn es muss beachtet werden, dass Serotoninmoleküle die Blut-Hirn-Schranke in Organismen nicht passieren können (LIMMER S. et al., 2014). Auch in *Drosophila* existiert eine Blut-Hirn-Schranke, sie separiert das Nervensystem von der Hämolymphe, isoliert es so von potenziell schädlichen Komponenten, die in der Hämolymphe transportiert werden und erhält so die sensible Homöostase im Gehirn aufrecht. Die Blut-Hirn-Schranke wird in *Drosophila* von Gliazellen in zwei Schichten gebildet, den perineuralen und den

subperineuralen Gliazellen. Anhand von evolutionären Grundlagen wird vermutet, dass viele der wichtigen Transport- und Bezugssysteme der Blut-Hirn-Schranke in Säugern auch bei Invertebraten vorkommen (SCHIRMEIER S. UND KLÄMBT C., 2015). Daher musste in allen Experimenten, in denen eine Serotonin-Aufnahme der Fliegen betrachtet wurde, eine Synthesevorstufe des Serotonins, das L-5-Hydroxytryptophan (5-HTP), zugeführt werden. Von dem Molekül ist bekannt, dass es die Blut-Hirn-Schranke leicht passieren kann und im zentralen Nervensystem messbar die Synthese von Serotonin erhöht (TURNER E. et al., 2006). In *Drosophila* konnte eine messbare Veränderung der Serotoninkonzentration in den Köpfen der Tiere nach einer 24-stündigen Verfütterung von in Wasser mit Saccharose gelöstem 5-HTP mittels ELISA belegt werden, die Konzentration steigt um das 4-fache (RITZE Y., 2007). Zudem beschreiben weitere Studien Verhaltensveränderungen bei *Drosophila*, wenn den Tieren über 24 Stunden 5-HTP verabreicht worden war (YUAN Q. et al., 2005). Daher ist davon auszugehen, dass sich eine Verfütterung über 16 Stunden erhöhend auf den Serotoninspiegel in den Gehirnen der im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Versuchstiere auswirkt.

Tatsächlich zeigen die Daten der Verfütterung über Nacht, dass die Serotonin- und Zuckergabe sich in ihrer Wirkung nicht voneinander trennen lassen. Sowohl 5-HTP plus Saccharose in Wasser gelöst, sowie Saccharose alleine als Kontrolle übten eine positive Wirkung auf die Aktivität der Fliegen trotz vorheriger Stresseinwirkung aus. Ihre Aktivität erhöhte sich signifikant im Vergleich zu ihrem Depressions-Verhalten vor der Futterzugabe (**Abbildung 47**). Der Stoff 5-HTP wurde den Tieren mit Saccharose in Wasser gelöst angeboten, da davon ausgegangen wird, dass sich durch diesen schmackhaften Zusatz die Aufnahmerate erhöht. Dies erfolgte angelehnt an die Daten von RITZE Y. (2007), die das 5-HTP ebenfalls im Rahmen ihrer Konzentrationsmessungen zusammen mit Saccharose verfütterte. Die Kontrollgruppe erhielt daher eine reine 5%ige Saccharose-Lösung, um die Futterbedingungen zu berücksichtigen. Da diese Gruppe ebenfalls trotz Stress eine Zunahme ihrer Aktivität nach der Zuckeraufnahme zeigte, kann anhand dieses ersten Experiments (**Abbildung 48**) keine Aussage zur Wirkung von Serotonin auf den depressionsartigen Zustand der Fliegen getroffen werden. Es besteht die Möglichkeit, dass die beigemischte Saccharose die beschriebene Wirkung über einen unbekanntem Signalweg auslöst und somit die Wirkung des Serotonins überlagert. Um zu klären, ob tatsächlich Serotonin der Auslöser für die wiedergewonnene Aktivität ist, wurde daher die Wirkung eines Inhibitors der Serotoninsynthese auf die Aktivität der Tiere analysiert. In diesem Experiment bestätigte sich, dass Saccharose trotz Stresseinfluss positiv auf die Aktivität einwirkt und sie stark anhebt. Bei einer Zugabe des Serotoninsynthese-Inhibitors α -Methyltryptophan (α MTP) in die Saccharose-Lösung, blieb die Aktivität hingegen auf dem gleichen Niveau wie am Vortag der Verfütterung (**Abbildung 49**).

α MTP ist ein Inhibitor der Tryptophan Hydroxylase, das "Schlüsselprotein" der Serotoninsynthese, da es sehr spezifisch für Tryptophan und somit ratenlimitierend für Serotonins ist (MOHAMMAD-ZADEH L. et al., 2008). Es ist bekannt, dass die Tryptophan Hydroxylase durch verschiedenen Faktoren inhibiert wird, zu denen auch Stress gehört (TURNER E. et al., 2006). Seine Wirkung in Invertebraten ist belegt, da Untersuchungen an *Drosophila*

zeigen, dass α MTP zu einem Abfall der Serotoninkonzentration in den Fliegen führt (DIERICK H. UND GREENSPAN R., 2007).

Die Ergebnisse der hier aufgeführten Versuchsreihe zeigen, dass α MTP einen inhibierenden Einfluss auf den Anstieg der Aktivität nach Saccharose-Aufnahme der Tiere nimmt. Dies lässt den direkten Rückschluss zu, dass die aktivitätsfördernde Wirkung von Saccharose über Serotonin vermittelt wird. Somit findet sich in diesem Experiment die entscheidende Bestätigung, dass Serotonin einen maßgeblichen Einfluss auf den Depressionszustand von *Drosophila* hat.

Eine Überprüfung der Wirkung des Inhibitors auf die Aktivität der Tiere bereits ohne Stresseinfluss und bei einer einmaligen Verfütterung zeigt hingegen keine Verhaltensveränderung (**Abbildung 80**). In einem weiteren Ansatz wurde deshalb α MTP häufiger verfüttert; statt nur eine Nacht erhalten die Tiere die Lösungen über vier Nächte, da in der Studie von DIERICK H. eine lineare Abnahme der Serotoninkonzentration in den Köpfen der Tiere gemessen wurde und nach vier Tagen eine höchst signifikante Abnahme gefunden worden war. Bei dieser häufigeren Verfütterung ließ sich eine höchst signifikante Abnahme der Aktivität der Tiere bei einer Verabreichung von α MTP in Kombination mit Saccharose dokumentieren (**Abbildung 50**). Dies liefert einen Hinweis darauf, dass ein Serotoninmangel auch ohne Stress zu depressionsartigem, vermindertem Verhalten führt.

Eine Verfütterung des Inhibitors α MTP alleine in Wasser gelöst, zeigte allerdings nur eine tendenzielle Aktivitätsabnahme, die Daten liegen intermediär zwischen der Kletteraktivität der α MTP/Saccharose-Mischung und der Saccharose alleine. Dies könnte mit der Menge an aufgenommener Substanz zusammenhängen. Die Vermischung mit Saccharose dürfte dazu führen, dass die Lösung für die Tiere schmackhafter wird und sie daher größere Mengen davon aufnehmen, während sie von dem reinen Lösungsgemisch nur verhältnismäßig wenig aufnehmen. Es wäre wünschenswert, diese Hypothese mengenanalytisch zu überprüfen, allerdings war dies im Rahmen dieser Untersuchungen nicht möglich. Hier bieten sich Möglichkeiten der Analyse in späteren Arbeiten.

Der Serotoninspiegel in den Köpfen der Tiere ließ sich allerdings anhand der Quantifizierung von Antikörperfärbungen mittels konfokaler Mikroskopie gut darstellen. Eine Antikörperfärbung gegen Serotonin macht anschaulich, dass durch die Verfütterung von Saccharose der Serotoninspiegel im gesamten Gehirn von *Drosophila* stark ansteigt (**Abbildung 51**). Es ließ sich quantitativ eine signifikante Erhöhung des Serotoninlevels in den Gehirnen der Tiere nachweisen, die Saccharose zu sich nehmen durften (**Abbildung 52**). Dies war bei den Tieren, die entweder nur Wasser bekamen oder bei denen die Saccharose mit α MTP vermischt war, nicht feststellbar. Daher bietet diese Darstellung einen anschaulichen Nachweis, dass Saccharose-Zufuhr zu einer Erhöhung des Serotonins im gesamten Gehirn führt. Andererseits wird ebenfalls deutlich, dass α MTP ein wirksamer Inhibitor ist, der die Wirkung der Saccharose zu einem Anstieg des Serotoninspiegels vollständig unterbindet, wodurch seine pharmakologische Wirkung unterstrichen wird. Eine ähnliche Beobachtung wurde 2011 von LEE P. et al. veröffentlicht; auch er konnte mittels konfokaler Mikroskopie dokumentieren, dass die Verfütterung einer 5%igen Saccharose-Lösung über Nacht zu einem Anstieg der Serotoninkonzentration im Gehirn von *Drosophila* führt. Er verwendete jedoch

einen anderen Inhibitor (DL-p-Chlorophenyl-Alanin (pCPA)), um diesen durch die Saccharose hervorgerufenen Effekt zu unterbinden.

Um die Einwirkung des Serotonins auf die Verhaltensanalysen endgültig zu belegen, wurde die synaptische Transmission der Mehrzahl der serotonergen Neurone im Gehirn von *Drosophila* durch TNT inhibiert. Die serotonergen Neurone lassen sich hierbei durch die Treiberlinie *Trh-GAL4* adressieren (BIRMAN S., 2012), wobei ihr Expressionsmuster $73\% \pm 6\%$ der serotonergen Neurone in den Gehirnhemisphären der Fliegen umfasst (PECH U. et al., 2013). Es lässt sich erkennen, dass diese Inhibition der serotonergen Neurone, den durch die Saccharose hervorgerufenen Aktivitätsanstieg verhindert. Die Tiere verbleiben trotz Zucker-Aufnahme in dem Zustand des depressionsartigen Verhaltens, da die Saccharose im Gehirn der Tiere keine verstärkte Ausschüttung von Serotonin auslösen kann (**Abbildung 53**).

Diese Ergebnisse belegen, dass der Serotoninspiegel im Phänotyp des Depressionsverhaltens in *Drosophila melanogaster* eine maßgebliche Rolle spielt und die Modulation der Verhaltensaktivität steuert.

4.2.4 Rolle der serotonergen Neurone der Pilzkörper im depressionsartigen Verhalten von *Drosophila melanogaster*

Eine Rolle der Pilzkörper bei Steuerung der lokomotorischen Aktivität ist schon mehrmals beobachtet und beschrieben worden (MARTIN J. et al., 1998; HELFRICH-FÖRSTER C. et al., 2002; SERWAY C. et al., 2009). Auch bei der Betrachtung der Kletteraktivität im Rahmen dieser Arbeit zeigt sich, dass die Tiere bei einer Blockade der α -/ β - und γ -Loben (*w**;UAS-TNT/II;*mb247-GAL4/III*) eine *Erhöhung* ihrer Kletteraktivität aufweisen (**Abbildung 31**). Daher ist von großem Interesse, ob die Pilzkörper auch einen Einfluss auf die *Verminderung* der Kletteraktivität im Depressionsphänotyp haben und inwiefern sich Serotonin (5HT) in dieses Bild einpasst.

Um der Hypothese nachzugehen, dass die Pilzkörper eine maßgebliche Rolle in diesem Depressionsverhalten spielen könnten, wurde – ähnlich wie zur Überprüfung der Wirkung des Serotoninsynthese-Inhibitors – der 5HT-Level in Tieren nach mehrtägiger Stresseinwirkung mit Hilfe einer 5-HT-Antikörperfärbung quantifiziert (**Abbildung 51**). In einer ersten Berechnung zeigt sich bei einem Vergleich mit Köpfen von Fliegen ohne Stress, dass der Stressfaktor Vibration den 5HT-Spiegel in den Loben des Pilzkörpers stark erniedrigt. Hierbei hat der Stress allerdings nicht automatisch eine Auswirkung auf den generellen 5HT-Spiegel im Gehirn der Tiere, denn bei einer Messung im Ellipsoidkörper ließ sich keine signifikante Veränderung quantifizieren (**Abbildung 57**). Dies lässt darauf schließen, dass eine selektive Absenkung des Serotoninspiegels in den Pilzkörpern stattfindet. Eine anschließende Verfeinerung der histologischen Quantifizierung durch eine interne Verrechnung der 5HT-Intensität des Ellipsoidkörpers mit den 5HT-Intensitäten der einzelnen Lobensysteme der Pilzkörper in jeder einzelnen Fliege macht deutlich, dass es in den Fliegen nach Stresseinwirkung zu einem signifikanten Abfall der 5HT-Konzentration in den α -Loben der Pilzkörper kommt. In den β - und γ -Loben der Fliegen lässt sich nach Stresseinwirkung dagegen keine Absenkung des 5HT-Spiegels quantifizieren (**Abbildung 58**).

Der Stress senkt den 5HT-Spiegel demnach spezifisch nur in dem Bereich der α -Loben der Pilzkörper und hat nicht automatisch eine Auswirkung auf den generellen 5HT-Spiegel in den Pilzkörpern der Tiere. Somit lässt sich schlussfolgern, dass anhand des 5HT-Levels eine Übermittlung des Stresszustands der Tiere an die Pilzkörper – insbesondere im Bereich der α -Loben – stattfindet und diese Information von den Pilzkörpern verarbeitet wird. Eben diese Verarbeitung hat eine konkrete Verhaltensveränderung hin zu einem passiveren Verhalten zur Folge.

Diese besondere Bedeutung der Pilzkörper ließ sich durch ein Verhaltensexperiment darstellen, denn eine synaptische Blockade der α -/ β - und γ -Loben – mittels Tieren des Genotyps *w^{*};UAS-TNT/II;mb247-GAL4/III* – verhinderte eine Verminderung ihrer Kletteraktivität als Reaktion auf den Stresseinfluss (**Abbildung 59**). Die Tiere können demnach die über Serotonin vermittelten, einkommenden Stressinformationen nicht mehr verarbeiten und reagieren daher nicht mit einer Verhaltensänderung.

Die bedeutende Rolle der Pilzkörper in der Auswertung und Verarbeitung von äußeren Stresszuständen lässt sich demnach histologisch und verhaltensphysiologisch nachweisen und weist den Pilzkörpern eine Schlüsselfunktion in dem depressionsartigen Verhalten der Fliegen zu.

Da Serotonin ein entscheidender Neurotransmitter in der Vermittlung depressionsartiger Zustände ist und die Pilzkörper als Gehirnstruktur einen großen Einfluss auf dieses Verhalten haben, kann ein Zusammenhang zwischen diesen beiden Faktoren angenommen werden. Entscheidend für diese Untersuchung ist, dass die serotonergen Neurone in den Pilzkörpern spezifischer angesprochen werden können, ohne dabei den Großteil aller serotonerger Neurone im Gehirn gleichzeitig zu aktivieren. Tatsächlich ist es möglich, spezifische Teilgruppen serotonerger Neurone im Gehirn von *Drosophila* mittels verschiedener GAL4-Linien anzusprechen, denn das Expressionsmuster der *Trh-GAL4*-Treiberlinie wurde in mehrere Teilmuster aufgegliedert (Li H. et al., 2000). Eine dieser spezifischen Linien zeigt ein distinktes 5HT-immunoreaktives Expressionsmuster in den Pilzkörperneuronen (LEE P. et al., 2011). Antikörperfärbungen, bei denen gleichzeitig jeweils eine Gegenfärbung mit Fasciclin (FasII) und Trio durchgeführt wurde – da diese aufgrund ihrer bekannten Proteinexpressionsmuster eine Orientierungshilfe in den Pilzkörpern sind (Xu S. et al., 2014) – belegen diese Angaben. Die Färbungen dokumentieren, dass die *Trh493-GAL4* Neurone ein distinktes Expressionsmuster in den α - und γ -Loben der Pilzkörper aufweisen (**Abbildung 60**). In den β -Loben fällt die Färbung der *Trh493-GAL4*-Linie nach den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Antikörperfärbungen dagegen nur schwach aus (**Abbildung 82**). Durch ihr insgesamt aber sehr ausgeprägtes, distinktes Expressionsmuster in den Pilzkörpern konnte diese GAL4-Linie genutzt werden, um die Rolle der serotonergen Neurone im Pilzkörper genauer zu analysieren.

Eine Inaktivierung der chemischen Synapsen dieser speziellen serotonergen Neurone änderte nichts an dem depressionsartigen Zustand, in dem sich die Tiere nach mehrtägigem Stresseinfluss befanden. Allerdings war eine maßgebliche Wirkung auf den von Zucker hervorgerufenen Aktivitätsaufschwung abzulesen. Die Tiere zeigten keine Verhaltensverbesserung mehr, die eine Wirkung des Zuckers erkennen ließ, sondern sie

verharrten in dem Depressionsverhalten (**Abbildung 61**). Im Gegensatz dazu bewirkte eine Erhöhung der Aktivität derselben Neurone mittels Expression von *NaChBac* eine Verhinderung der Entstehung des depressionsartigen Verhaltens. Der mehrtägige Stress schien keinen Einfluss mehr auf die Aktivität der Fliegen zu haben (**Abbildung 62**). Eine Kontrolle mithilfe einer Inhibition der 5HT-Synthese über α MTP bestätigte, dass dieser Effekt ausschließlich durch die 5HT-Ausschüttung dieser Neurone bedingt wird, da eine Verfütterung von α MTP und die dadurch bedingte Unterbindung des 5HT-Nachschubs wieder ein Depressionsverhalten auslöste.

Da mithilfe einer gezielten Manipulation dieser serotonergen Neurone in den Pilzkörpern die Ausprägung des Depressionsverhaltens der Tiere mit beiderlei Vorzeichen manipuliert werden kann, lässt sich folgern, dass diese Neurone für den relevanten serotonergen Input in die Pilzkörper verantwortlich sind. Somit bündelt sich in ihnen die Information über den jeweiligen Stresszustand des Tieres und sie leiten diese Informationen weiter, indem ihre 5HT-Ausschüttung den 5HT-Spiegel in den Loben der Pilzkörper anhebt oder senkt.

Dieser Schritt der Ausschüttung von Serotonin der *Trh493*-Neurone in die Pilzkörper lässt sich daher als ein ausschlaggebender Faktor für die Verarbeitung der Stresseinflüsse in den Tieren identifizieren.

4.2.5 Rolle der Serotoninrezeptoren 5HT-1A und 5HT-1B im depressionsartigen Verhalten von *Drosophila melanogaster*

Mithilfe der bisherigen experimentellen Ergebnisse lassen sich einige Einblicke in das Depressionsverhalten von *Drosophila* gewinnen:

- Die α -/ β - und γ -Neurone der Pilzkörper vermitteln das depressionsartige Verhalten, da ihr Output nötig ist, um einen Aktivitätsabfall auszulösen.
- Die Linderung des Depressionszustands wird von Serotonin verursacht, denn Saccharose induziert eine Ausschüttung von Serotonin im Gehirn der Fliegen. Entscheidend ist hierbei die Transmitterfreisetzung der Neurone im *Trh493*-GAL4-Expressionsmuster im Bereich der Pilzkörper.

Auf welche Art und Weise die Stressinformation als Signal zu den Kenyonzellen gelangt, ist damit noch nicht geklärt, es lässt sich aufgrund der anatomischen Präparate vermuten, dass ein Mangel an 5HT im Bereich der Pilzkörper ausschlaggebend ist. Da allerdings allein die TNT-vermittelte Blockade der synaptischen Transmission in den *Trh493*-GAL4 Neuronen die Aktivität der Fliegen nicht senken konnte, wurden die 5HT-Rezeptoren in den Fokus genommen um diesen scheinbaren Widerspruch zu klären.

Aus der Literatur ist ersichtlich, dass sowohl der Rezeptortyp 5HT-1A als auch 5HT-1B im Pilzkörper exprimiert werden (YUAN Q. et al., 2006; YUAN Q. et al., 2005), daher werden diese beiden Rezeptortypen genauer analysiert. Zu beachten ist hierbei allerdings, dass die Bezeichnung der 5HT-Rezeptoren in *Drosophila* nicht mit der Annotation der humanen übereinstimmt. Aufgrund von Sequenzhomologien werden sowohl die 5HT-1A- als auch die

5HT-1B-Rezeptoren von *Drosophila* dem menschlichen 5HT-1A-Rezeptor zugeordnet (SAUDOU F. et al., 1992).

Besonders fällt ins Auge, dass ein Knockdown jeweils einer der beiden Rezeptortypen im Pilzkörper mittels RNAi gegensätzliche Verhaltensweisen bei Stresseinwirkung auslöste (**Abbildung 63** und **Abbildung 64**). Ein Knockdown von *5HT-1A* in den Pilzkörpern über RNAi (mittels der Treiberlinie *mb247-GAL4*) bedingte keine Veränderung im depressionsartigen Verhalten als Antwort auf den Stress an sich. Jedoch wurden die über Saccharose vermittelte Linderung des Zustands und der damit verbundene Wiederanstieg der Aktivität der Tiere verhindert. Die Tiere verblieben somit trotz Verfütterung von Saccharose unverändert in ihrem depressionsartigen Zustand der verminderten Aktivität. Dementgegen war als Folge eines Knockdowns von *5HT-1B* im Pilzkörper mit derselben Treiberlinie (*mb247-GAL4*) zu beobachten, dass der unkontrollierbare Stress keinen Effekt mehr auf die Aktivität der Tiere ausüben konnte. Sie blieben trotz mehrtägigem Stresseinfluss auf demselben Niveau ihrer Kletteraktivität und ließen keinerlei Beeinflussung durch das Stresssignal erkennen.

Dieser scheinbare Widerspruch im Verhalten lässt darauf schließen, dass eine Aktivierung der beiden Rezeptortypen jeweils eine unterschiedliche Verhaltensmodulation in den Tieren auslöst. Eine Aktivierung des 5HT-1B-Rezeptors vermittelt vordergründig eine Aktivitätsverminderung, während die Aktivierung des 5HT-1A-Rezeptors eine Aktivitätszunahme bedingt.

Um dieser Annahme genauer auf den Grund zu gehen, wurde die Lokalisation der beiden Rezeptortypen in den Pilzkörpern betrachtet. Hierbei lag das Interesse bei der Frage, ob die beiden Rezeptortypen gleichmäßig in den Pilzkörpern verteilt sind oder ob sich eine gewisse Kompartimentierung erkennen ließe. In einer Studie von GNERER J. et al. (2015) sind die Expressionsmuster dieser beiden Rezeptortypen einander gegenübergestellt worden; eine deutliche Auftrennung der unterschiedlichen Expressionsmuster fällt ins Auge. Die Färbung der *5HT-1A-GAL4*-Linie ist markant in den α -/ β -Loben zu erkennen und beschränkt sich darüber hinaus auf diese beiden Loben. Dem gegenüber ist eine starke Expression der *5HT-1B-GAL4*-Linie in den γ -Loben, sowie eine leichte Färbung in den α' -/ β' -Loben zu lokalisieren. In den α -/ β -Loben wird den abgebildeten Färbungen zufolge dieser Rezeptortyp allerdings nicht exprimiert.

Nach Betrachtung der anatomischen Analysen von GNERER J. et al. wurde mit den im Rahmen dieser Arbeit verwendeten GAL-Treiberlinien ebenfalls eine Antikörperfärbung durchgeführt. Zur Lokalisation der Expressionsmuster wurden dabei wiederum Gegenfärbungen mit Fasciclin, Trio (Xu S. et al., 2014) und 5HT durchgeführt. Es lässt sich in den histologischen Präparaten der Linie *w^{*}::UAS-mCD8::GFP/5HT1B-GAL4* deutlich erkennen, dass sich – den Ergebnissen von GNERER J. et al. entsprechend – der 5HT-1B Rezeptortyp fast ausschließlich in den γ -Loben der Pilzkörper lokalisieren lässt. Zudem ist eine schwache Färbung in den α' -/ β' -Loben auszumachen. Die Gegenfärbung mit 5HT stellt zudem heraus, dass in den γ -Loben eine starke Co-Lokalisation mit Serotonin zu finden ist (**Abbildung 65**). Dies versichert, dass eine direkte Einwirkung des Neurotransmitters auf diesen Rezeptor erfolgt.

Bei der Betrachtung der Lokalisation der 5HT-1A-Rezeptoren wird sich aufgrund von Schwierigkeiten bei der Antikörperfärbung auf die Darstellung der Färbung in der Literatur berufen, hier ist eine Lokalisation der 5HT-1A-Rezeptoren in den α -/ β -Loben deutlich zu erkennen (GNERER J. ET AL., 2015).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Expression der beiden Rezeptortypen in unterschiedlichen Kompartimenten der Pilzkörper lokalisiert ist und es keine Bereiche mit Überlappungen gibt.

Eine Unterbrechung der synaptischen Transmission in unterschiedlichen Loben der Pilzkörper mittels TNT spiegelt diese histologischen Beobachtungen anschaulich wider, denn diese Experimente reproduzierten die Ergebnisse der RNAi-Knockdowns der beiden 5HT-Rezeptoren (**Abbildung 66**). Eine Inhibition der γ -Loben (*H24-GAL4*) führte zu einer gleichbleibenden Kletteraktivität trotz Stress, wie es auch ein Knockdown des 5HT-1B-Rezeptors hervorrief. Dagegen war bei einer Inhibition der α -/ β -Loben (*c739-GAL4*) ein normales Depressionsverhalten als Reaktion auf Stress zu beobachten, die Verfütterung von Zucker zeigte allerdings keine Wirkung; dies ist der gleiche Effekt wie bei einem Knockdown des 5HT-1A-Rezeptors. Diese Beobachtungen verbinden die Ergebnisse der RNAi-Experimente mit den histologischen Auswertungen und bestätigen eine Bedeutung der klar differenzierten Aufteilung der verschiedenen 5HT-Rezeptoren in den Pilzkörpern.

Die unterschiedlichen Wirkungsweisen der beiden Rezeptortypen wurden durch eine weitere Methode analysiert, indem die Membranerregbarkeit in den Neuronen des Expressionsmusters der jeweiligen Rezeptoren erhöht wurde (**Abbildung 67** und **Abbildung 68**). Der artifizielle Einbau von NaChBac-Kanälen je nach 5HT-Rezeptor-Treiberlinie rief wiederum unterschiedliche Verhaltensveränderungen im Depressionsverhalten der Tiere hervor. Während die Verminderung des Membranpotentials in den Neuronen der UAS-5HT-1A-Linie die Reaktion der Fliegen gegenüber Stress auslöschte, rief eine verstärkte Membranerregbarkeit in den Neuronen der UAS-5HT-1B-Linie eine beschleunigte Depressionsreaktion der Tiere auf Stress hervor. Eine künstliche Aktivierung der 5HT-1A-Neurone führt demnach dazu, dass Stress keine Auswirkung mehr auf die Tiere ausüben kann, während eine Aktivierung der 5HT-1B-Neurone eine Sensibilisierung gegenüber dem Stressreiz hervorruft.

Diese Ergebnisse unterstreichen die Aussage, dass die jeweiligen Rezeptortypen eine unterschiedliche Wirkung auf das Depressionsverhalten in *Drosophila melanogaster* haben. Während der 5HT-1B-Rezeptor die Information über empfangenen Stress weiterleitet und dabei die Passivität im depressionsartigen Verhalten vermittelt, scheint der 5HT-1A-Rezeptor in einem antagonistischen System zu wirken und könnte dadurch die Reaktion der Tiere bei schwachen oder kürzeren Stresseinflüssen – wie nach einem Tag Stress in **Abbildung 37** – im Gleichgewicht zu halten. Eine unterschiedliche, wenn auch nicht antagonistische Wirkung dieser beiden Rezeptortypen in *Drosophila* wurde schon von YANG Q. et al. (2005) beschrieben. Sie beobachteten, dass die Wirkung von Serotonin auf die circadiane Rhythmik nur durch den 5HT-1B-Rezeptor moduliert wird, während der 5HT-1A-Rezeptor sich auf die Schlafregulation auswirkt. Da keiner der beiden Rezeptortypen einen Einfluss auf das Verhalten hat, das durch den wiederum anderen Rezeptortyp moduliert wird, stellten sie die

Hypothese auf, dass unterschiedliche von 5HT beeinflusste Verhalten in *Drosophila* von 5HT-1A- und 5HT-1B-Rezeptoren in getrennten Gehirnregionen bearbeitet werden (YUAN Q. et al., 2006).

Zudem war für die Untersuchungen der Rollen der beiden Rezeptortypen die direkte Beeinflussung der 5HT-Rezeptoren sehr interessant, um die Erkenntnisse aus den genetischen Manipulationen mit pharmakologischen Daten untermauern zu können. Daher wurden Rezeptor-Agonisten verfüttert, die die unterschiedlichen Subtypen der 5HT-Rezeptoren ansprechen und eine Aktivierung bewirken sollen. In der Literatur lassen sich zu humanen Wirkstoffen viele Angaben finden, da Agonisten der Serotonin-Rezeptoren sowohl zur Bekämpfung von Migräne, als auch in der neurogastroenterologischen Forschung (5HT-1B-Agonisten), sowie bei Angststörungen (5HT-1A-Agonisten) eingesetzt werden (TEPPER S. et al., 2002; TEBBE J. UND ARNOLD R., 2004; CELADA P. et al., 2013).

Basierend auf Studien an Vertebraten wurden Rezeptor-Agonisten ausgewählt, einerseits die 5HT-1A-Agonisten Tansospiron und 8-Hydroxy-2-(di-*n*-Propylamino)Tetralin (8-OH-DPAT), andererseits der 5HT-1B-Agonist Naratriptan (SHIMIZU S. UND OHNO Y., 2013; LAMBERT G., 2005). Auffällig ist, dass sowohl 8-OH-DPAT als auch Naratriptan in *Drosophila* die gleiche Wirkung auf das Verhalten der Fliegen zeigten (**Abbildung 69** und **Abbildung 70**), einzig Tansospiron schien sich in der verwendeten Konzentration nicht auf die Tiere auszuwirken. Eine Verfütterung von Naratriptan/8-OH-DPAT führte zu einem starken Abfall der Kletteraktivität in der Kontrollgruppe ohne Stressreizung, während das Verhalten der Tiere mit Vibrationsstress unbeeinflusst blieb. Diese Wirkung auf Stress-unbelastete Fliegen ließ sich bestätigen, dadurch dass einer Gruppe von Fliegen über 16 Stunden jeweils eine der beiden Substanzen erneut verfüttert wurde; diese Tiere zeigten ebenfalls eine Aktivitätsabnahme. Die Aktivität von wildtypischen Fliegen im Klettern wurde folgerichtig einzig infolge der Lösungsaufnahme und ohne Stress signifikant (8-OH-DPAT) bis höchst signifikant (Naratriptan) verringert. Dies lässt schließen, dass in *Drosophila* – in Gegensatz zu den Erkenntnissen aus Vertebraten – beide Agonisten an denselben Rezeptor binden. Die Literatur zeigt, dass beide Rezeptoren aus *Drosophila* eine starke Sequenzhomologie zu dem 5HT-1A-Rezeptor in Säugern aufweisen. Hierbei wird für den *dro5HT-1B* die höchste Homologie mit 43% zu dem Vertebraten-Rezeptor angegeben; untereinander sind die beiden *Drosophila*-Rezeptoren zu 84,3% homolog. Zudem ist für den agonistischen Wirkstoff 8-OH-DPAT bei beiden Rezeptortypen in *Drosophila* ein Einfluss beschrieben, wobei der *dro5HT-1B*-Rezeptor im direkten Vergleich allerdings eine doppelt so hohe Bindungswahrscheinlichkeit für 8-OH-DPAT aufweist wie der *dro5HT-1A*-Rezeptor ($K_i(\text{dro5HT-1B})$: 27; $K_i(\text{dro5HT-1A})$: 43) (SAUDOU F. et al., 1992). In Verhaltensexperimenten zum Aggressionsverhalten und der circadianen Anpassung bestätigte sich diese duale Wirkung. Einerseits wurden nach Verabreichung von 8-OH-DPAT in Fliegen eine Zunahme des Aggressionsverhaltens beschrieben, das dem 5HT-1A-Rezeptor zugeordnet wurde (JOHNSON O. et al., 2009), andererseits beschrieb YUAN Q. 2005, dass der *dro5HT-1B*-Rezeptor in Zellkultur sensitiv auf den Agonisten reagiert. Wichtig ist hierbei, dass 8-OH-DPAT keine generellen Defekte des lokomotorischen Systems in *Drosophila* bedingt, da es in der Studie von JOHNSON O. et al (2009) keine Auswirkungen auf das Laufverhaltens zeigte.

Basierend auf diesen Aussagen ist anzunehmen, dass bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Verfütterungs-Experimenten sowohl 8-OH-DPAT als auch Naratriptan verstärkt auf den *dro5HT-1B*-Rezeptor eingewirkt haben. Eine unvermittelt erhöhte Aktivierung des *dro5HT-1B*-Rezeptors löst demnach ein depressionsartiges Verhalten in Tieren aus, die ansonsten keinerlei äußere Einflüsse erfahren. Dies steht in Einklang zu den vorherigen Ergebnissen, da eine NaChBac-bedingte Aktivierung der *5HT-1B*-Neurone in *Drosophila* ein beschleunigtes Auftreten des Depressionsphänotyps bei Stress bewirkt, während die RNAi gegen *5HT-1B* ein depressionsartiges Verhalten verhindert. Eine unvermittelte, verstärkte Stimulation des 5HT-1B-Rezeptors in *Drosophila* kann eine depressionsartig verminderte Aktivität ohne vorherige Stressfaktoren auslösen.

4.2.6 Ein Modell für das Depressionsverhalten in *Drosophila melanogaster*

Die aufgeführten Ergebnisse lassen die Entwicklung eines Modells zu, das komprimiert die Entstehung des Depressions-Phänotyps in *Drosophila* veranschaulicht. Als zentrale Schaltstelle des Verhaltens bilden die Pilzkörper das Zentrum des Modells (**Abbildung 74**). In diese Gehirnstrukturen werden die einkommenden Informationen bezüglich des Stresszustands eingebracht, dort verarbeitet und schließlich als Output an die motorischen Zentren weitergeleitet.

Ein Cluster von serotonergen Neuronen (*Trh493*) liefert die Information über den Stresszustand mittels einer synaptischen Transmitterausschüttung an die Pilzkörper. In den Pilzkörperloben wird der freigesetzte Neurotransmitter über Serotoninrezeptoren rezipiert. Diese 5HT-Rezeptoren sind G-Protein-gekoppelte Rezeptoren; eine Stimulierung bewirkt eine Inhibierung der Adenylat-Zyklase und infolgedessen ein Absenken des cAMP-Levels in den Neuronen. Die Rezeptoren bewirken allerdings einen dualen Effekt, denn gleichzeitig führt die Rezeptorstimulierung zu einer Aktivierung der Phospholipase C; dies verursacht einen 1,5 bis zweifachen Anstieg an Inositolphosphat (IP_3) in der Zelle (SAUDOU F. et al., 1992). Die Aktivierung des Inositolphosphat-Signalwegs führt zu einem verstärkten Calciumeinstrom, dies beeinflusst die Signalweiterleitung dieser Neurone an die motorischen Zentren entscheidend und kann so eine Modulation der Aktivität in *Drosophila* bewirken. Es sind zwei Typen von Serotoninrezeptoren in den Pilzkörpern zu finden, 5HT-1A und 5HT-1B. Sie sind in unterschiedlichen Kompartimenten der Pilzkörper zu finden, der Rezeptortyp 5HT-1A ist vorwiegend in den α -/ β -Loben, der Typus 5HT-1B dagegen in den γ -Loben lokalisiert. Neben der Unterteilung in der Lokalisierung ist ein weiterer wichtiger Unterschied zwischen den beiden Rezeptoren, dass der 5HT-1B-Rezeptortyp im Vergleich zu 5HT-1A in *Drosophila* eine achtfach höhere Affinität für den Neurotransmitter Serotonin aufweist (TIERNEY A., 2001). Die unterschiedlichen Loben der Pilzkörper wirken sich dabei unterschiedlich auf die motorische Aktivität der Fliegen aus; während der γ -Lobus die initiale Aktivität hemmt, erzielen die α -/ β -Loben eine Verstärkung der initialen Aktivität.

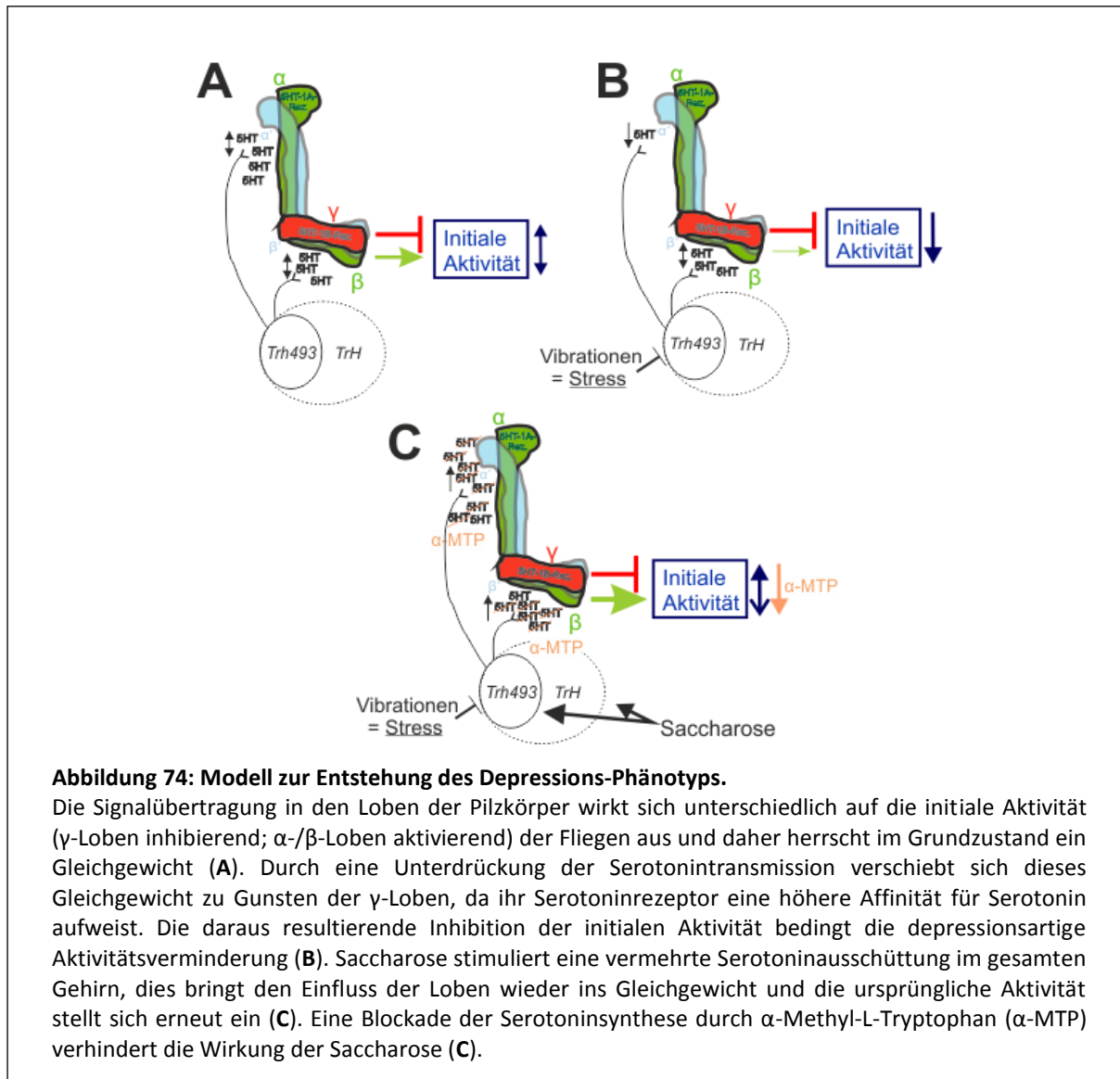
Im Grundzustand, d.h. ohne äußere Stressfaktoren, findet eine regulierte Serotonin-Freisetzung durch die *Trh493*-Neuronen im Bereich der Pilzkörper statt. Dies bewirkt einen konstanten, definierten Serotoninspiegel in diesem Gehirnbereich, wodurch die

Serotoninrezeptoren in den Pilzkörperloben stimuliert werden. Die erhöhte Sensitivität des 5HT-1B-Rezeptors gegenüber Serotonin erregt über Inositolphosphat (IP₃) eine verstärkte Calciumantwort in den entsprechenden Kenyonzell-Neuronen (GASQUE G. et al., 2013). Daher ist davon auszugehen, dass die γ -Loben gegenüber den α -/ β -Loben eine stärkere Aktivierung erfahren. Die Verschaltung der γ -Loben wirkt inhibierend auf die nachfolgenden Strukturen, deshalb erfährt die initiale Aktivität von *Drosophila* im Grundzustand stetig eine leichte Inhibierung, was in einem definierten Aktivitätsgleichgewicht resultiert. Somit wird die Grundaktivität der Fliegen in dieser Balance trotz leichter Inhibierung zu einem gewissen Maße konstant gehalten (**Abbildung 74A**). Die Einwirkung der Stressreize bewirkt in sukzessivem Maße eine Reduktion der Transmitterfreisetzung des *Trh493*-Neuronenclusters, wodurch es zu einer lokal begrenzten Absenkung des Serotoninspiegels in den Loben der Pilzkörper kommt, besonders im Bereich der α -Loben. Eine einmalige oder zeitlich kurz begrenzte Stresssituation hat keine nachhaltige Auswirkung auf den Serotoninspiegel im Bereich der Pilzkörper. Vielmehr müssen die Tiere sich in einem zeitlich länger anhaltenden Zustand erhöhten Stresses befinden, bis eine so maßgebliche Absenkung des Serotoninspiegels erreicht wird, die sich im Verhalten niederschlägt (**Abbildung 37**). Befinden die Tiere sich in solch einer anhaltenden Stressepisode, führt die dauerhaft verminderte Transmitterfreisetzung durch die *Trh493*-Neurone im Bereich der Pilzkörperloben zu einem signifikant herabgesetzten Serotoninspiegel im Bereich dieser Gehirnstruktur, besonders in Bereich des α -Lobensystems. Dieses schwache Serotoninsignal kann nur noch von den 5HT-1B-Rezeptoren in den γ -Loben – aufgrund ihrer starken Affinität gegenüber Serotonin – in ausreichendem Maße rezipiert werden, zudem ist im Bereich der γ -Loben die Absenkung des Serotoninspiegels weniger deutlich als im Bereich der α -Loben. Die α -/ β -Loben erhalten daher einen deutlich verringerten Input von den 5HT-1A-Rezeptoren, ihre Weiterleitung an nachfolgende motorische Systeme ist dementsprechend deutlich reduziert. Das Gleichgewicht verschiebt sich so stark auf die Seite der inhibitorischen Signalwirkung der γ -Loben, die initiale Aktivität wird gehemmt und die Tiere zeigen den Depressionsphänotyp mit verringerter Aktivität (**Abbildung 74B**).

Eine Verfütterung von Saccharose verursacht in *Drosophila* im gesamten Gehirn einen messbaren Anstieg des Serotoninspiegels, da ein Großteil der serotonergen Neurone zu einer verstärkten Neurotransmitterausschüttung angeregt wird. Die Neurone des *Trh493*-Clusters sind ebenfalls von dieser Anregung betroffen, wodurch es zu einem unvermittelt starken Anstieg des Serotoninspiegels in den Pilzkörpern kommt. Eine solche Erhöhung der Transmitterkonzentration bewirkt, dass der Serotoninspiegel im Bereich der α -Loben wieder ansteigt, die 5HT-1A-Rezeptoren wieder ausreichend stimuliert werden und eine Aktivierung der α -/ β -Loben verursachen. Das Gleichgewicht in der Signalwirkung in den Pilzkörperloben verschiebt sich demnach wieder zu Gunsten der α -/ β -Loben, sie können der durch die γ -Loben bedingten Inhibition entgegenwirken und die initiale Aktivität anheben. Der Zustand depressionsartiger Inaktivität wird dadurch aufgehoben und die Tiere lassen keine Veränderung mehr in ihrem Verhalten erkennen (**Abbildung 74C**).

Die Wirkung der Saccharose kann allerdings durch die Beimischung des Serotoninsynthese-Inhibitors α MTP unterbunden werden. Durch eine Unterbrechung der

Serotoninsynthese wird der Anstieg des Serotoninspiegels infolge der Saccharose-Zufuhr unterbunden, die Prävalenz der γ -Loben kann nicht eingeschränkt werden und die Fliegen verbleiben in ihrem depressionsartigen Zustand verminderter Aktivität (**Abbildung 74C**).



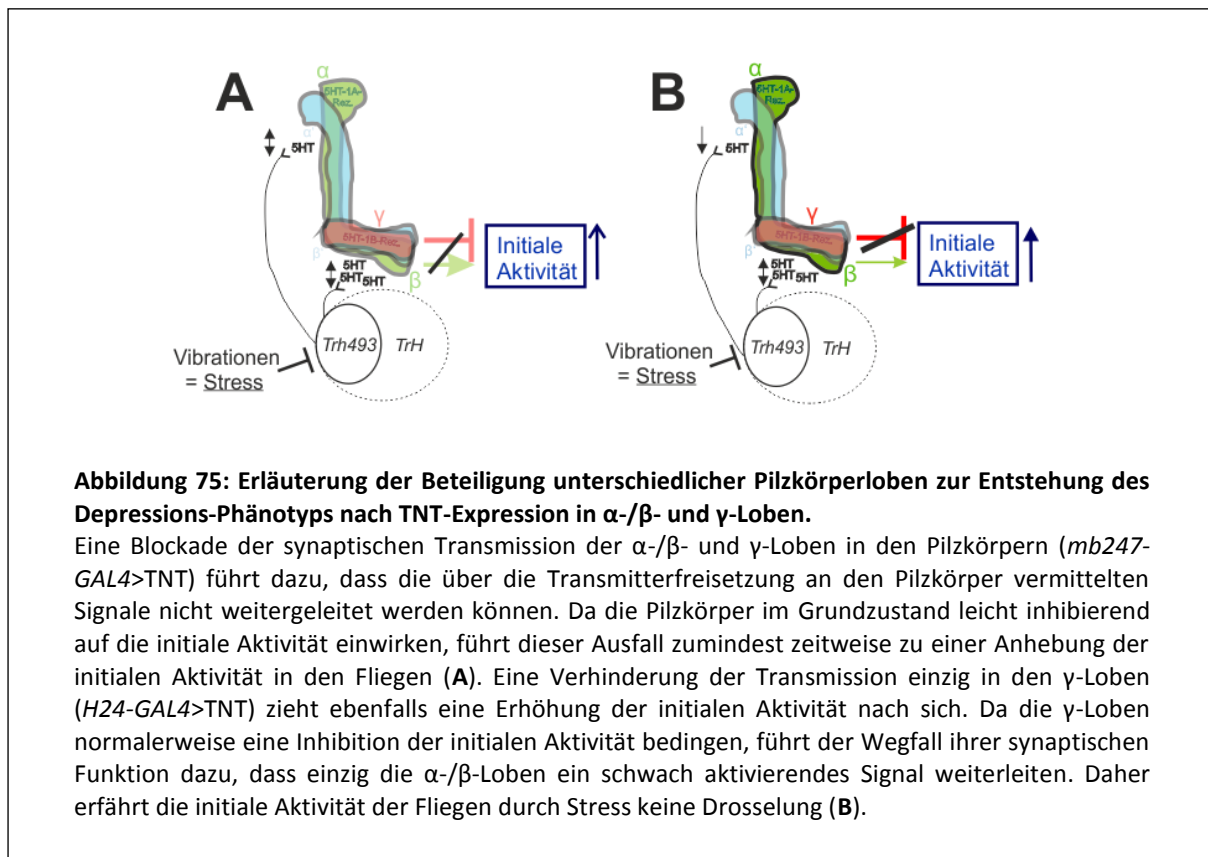
Die detaillierte Betrachtung des Modells zeigt, dass sich die Ergebnisse bezüglich der Manipulation des Subsets der *Trh493*-Neurone gut darin einordnen lassen; diese Neurone melden den Stresszustand des Tiers im Gehirn an die Pilzkörper. Kommt es zu einer Unterbrechung der Vesikelfreisetzung dieser serotonergen Neurone mithilfe von TNT, kann die aktuelle Information über eine Verminderung des Stresspegels nicht übermittelt werden. Eine Verfütterung von Saccharose kann sich nicht über Nacht manifestieren, da die serotonergen Neurone des *Trh493-GAL4*-Clusters nicht mit einer verstärkten Serotoninausschüttung reagieren. Daher bleibt der Serotonin-Spiegel im Bereich der Pilzkörper, insbesondere der α -Loben nahezu unverändert niedrig und die Tiere verharren in ihrem depressionsartigen Zustand der verminderten Aktivität. Dieser Verhaltensphänotyp manifestiert sich in ähnlicher Weise, wenn $73\% \pm 6\%$ aller serotonergen Neurone im Gehirn

von *Drosophila* mithilfe der *Trh-GAL4* Treiberlinie (PECH U. et al., 2013) wiederum durch TNT inhibiert werden. Daher lässt sich bestätigen, dass es sich bei der Gruppe von Neuronen, die durch die *Trh493-GAL4*-Linie adressiert wird, um eine Untergruppe der *Trh-GAL4* Linie handelt. Beide Treiberlinien liefern gleiche Verhaltensergebnisse, in der *Trh493-GAL4*-Linie ist die Menge der adressierten Neurone allerdings deutlich verringert (25-30 Neurone) und lokal im Gehirn auf die Pilzkörper begrenzt (LEE P. et al., 2012). Trotz der unterschiedlichen Menge an Neuronen, liefern die Linien *Trh*- und *Trh493-GAL4* die gleichen Verhaltensergebnisse, da die 25-30 Neurone serotonergen Neurone, die die Pilzkörper innervieren, hinreichend sind, um Veränderungen des Depressionsphänotyps zu bewirken.

Ein konträres Verhalten zeigt sich, wenn es mithilfe eines künstlichen Einbaus von NaChBac-Kanälen zu einer verstärkten Aktivierung der *Trh493*-Neurone kommt. Eine Meldung der Stressreize entfällt in diesem Fall, da die Neurone trotz Vibrationen aufgrund ihrer Erregungsverstärkung weiterhin Serotonin ausschütten und den Serotoninspiegel auf einem hohen Level halten. Aufgrund dieser lokal begrenzten Erhöhung des Serotoninspiegels im Bereich der Pilzkörperloben können die 5HT-1A-Rezeptoren den Neurotransmitter binden und ihre Aktivierung erhöht den Calciumspiegel in den α -/ β -Loben. Auf diese Weise kann das Gleichgewicht zwischen den beiden Pilzkörperloben aufrechterhalten werden und ein depressionsartiger Phänotyp bleibt aus. Erst eine Verfütterung des Syntheseinhibitors α MTP greift entscheidend in diese Balance ein, da ein ausreichender Nachschub an Serotonin für eine wirksame Vesikelausschüttung fehlt. Die Neuronen können trotz erhöhter Erregung keine Signalmoleküle ausschütten, der Serotoninspiegel sinkt ab, und die 5HT-1A-Rezeptoren in den α -/ β -Loben können Serotonin nicht mehr rezipieren. Daher dominieren die γ -Loben, da deren 5HT-1B-Rezeptoren besetzt sind (5HT-1B achtmal affiner als 5HT-1A; SAUDOU F. et al., 1992) und inhibieren die initiale Aktivität. Dies spiegelt sich im Depressions-Phänotyp der Fliegen.

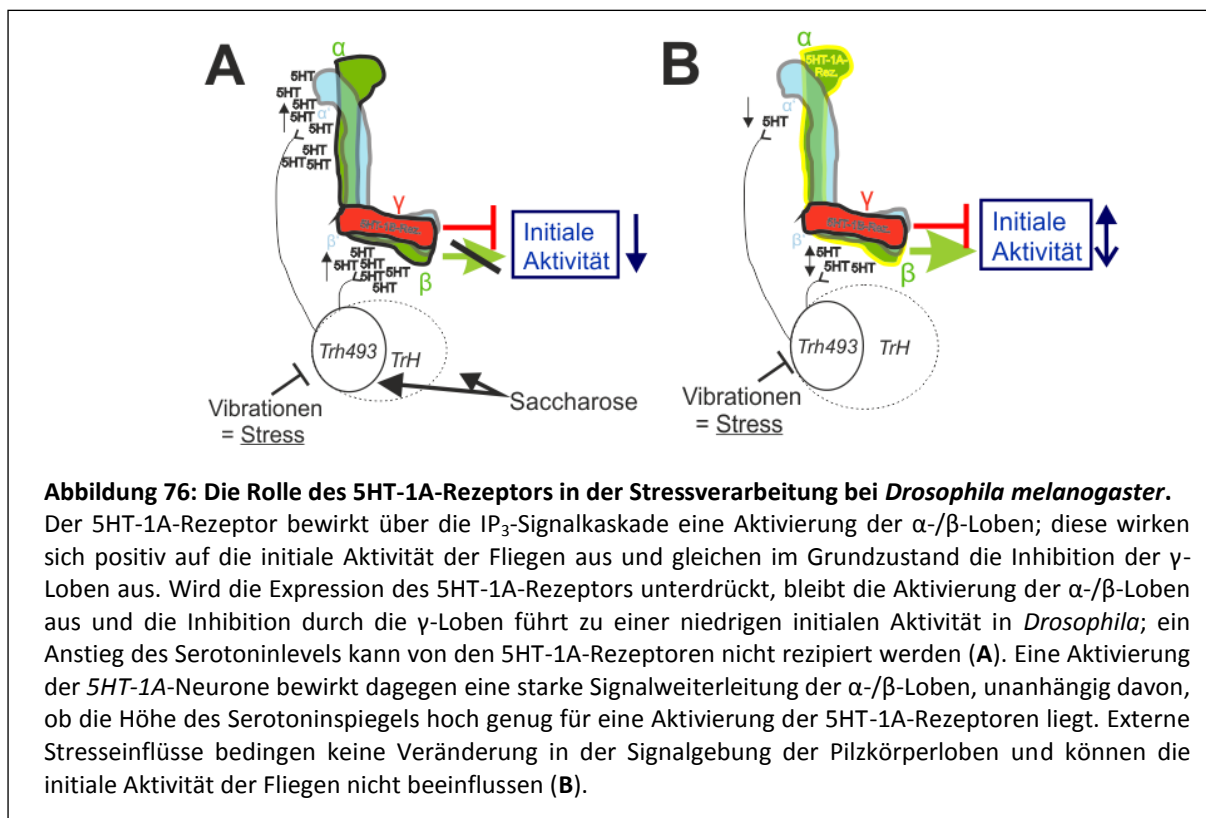
Der Wirkmechanismus anhaltender Stressreize auf die Transmission der unterschiedlichen Pilzkörperloben wird auch durch Experimente mit einer artifiziellen Blockade der chemischen Synapsen in differenten Subsets von Pilzkörperloben bestätigt (**Abbildung 74**). Ein Wegfall der Signalvermittlung von bestimmten Lobensystemen der Pilzkörper (α -/ β - und γ -Loben über TNT in *mb247-GAL4*) bedingt in den Fliegen eine erhöhte Grundaktivität im Klettern und verhindert ein depressionsartiges Verhalten. Da die Pilzkörperloben im Grundzustand der Tiere (**Abbildung 74A**) ein leicht inhibitorisches Signal an die initiale Aktivität vermitteln, führt ein Ausfall der Signalvermittlung aus den α -/ β - und γ -Loben der Pilzkörper zum Verlust dieser Aktivitätsunterdrückung und die Tiere zeigen eine leichte Erhöhung in ihrer initialen Aktivität (**Abbildung 75A**). Dieser Effekt ist aus der Literatur bekannt, jedoch hält diese Aktivitätszunahme in der Laufaktivität nur über eine gewisse Zeitspanne an (SERWAY C. et al., 2009). Da die Fliegen beim Klettern im Vergleich zum Laufverhalten nur über eine relativ kurze Zeit betrachtet werden, kann hierbei keine Aussage über ein Anhalten der Aktivitätserhöhung getroffen werden. Es ist aber gut vorstellbar, dass bei einer Blockade der α -/ β - und γ -Lobensysteme der Pilzkörper eine Erhöhung der initialen Aktivität nach einer gewissen Eingewöhnung wieder herunterreguliert wird, um Energie zu sparen. Ein Depressionsphänotyp lässt sich in den Fliegen nicht erzeugen, da das

Serotoninsignal, das über die *Trh493*-Neurone vermittelt wird, nicht verarbeitet werden kann. Die Stresssignale laufen daher ins Leere (**Abbildung 75A**). Ein ähnlicher Effekt entsteht, wenn die Signaltransmission der γ -Loben unterbunden wird. Die Inhibition der initialen Aktivität kann nicht vermittelt werden und damit ist keine Beeinflussung der Fliegen durch mehrtägigen Dauerstress zu beobachten. Ohne die Aktivität der γ -Loben kann demnach kein Depressionsphänotyp in *Drosophila* erzeugt werden, sie sind *der* ausschlaggebende Vermittler des Serotoninspiegels in diesem Gehirnbereich (**Abbildung 75B**).

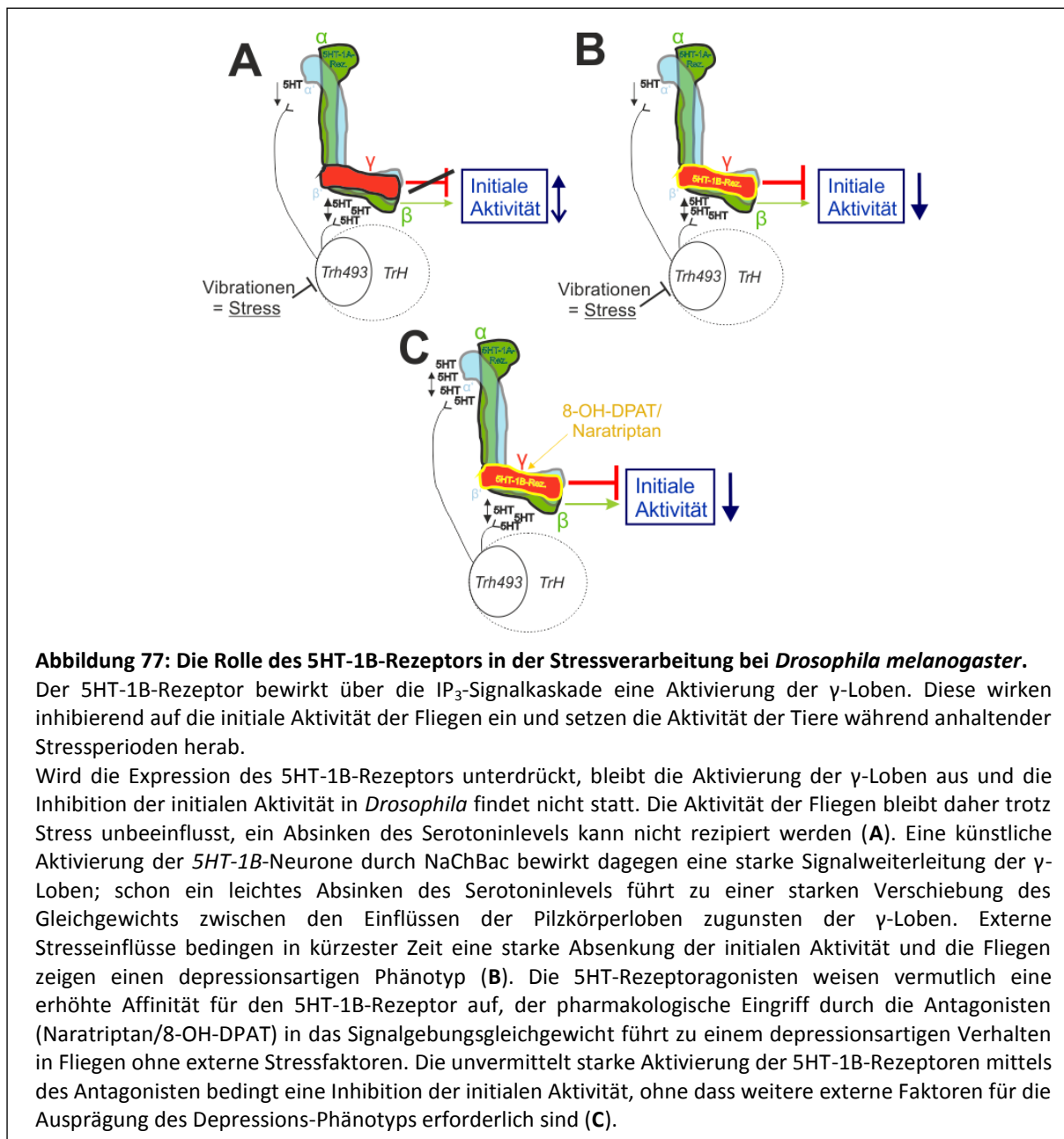


In diesem Modell stehen die beiden unterschiedlichen 5HT-Rezeptoren im Fokus, da anhand ihrer Aktivierung die Informationen zur Stressbelastung und Stresslinderung im Pilzkörper verarbeitet werden können. Die große Differenz in ihrer Affinität (5HT-1B achtmal affiner als 5HT-1A; SAUDOU F. et al., 1992) ermöglicht es schon bei leichten Veränderungen im Serotoninspiegel über das Ausmaß ihrer jeweiligen Aktivierung disparate Zustände im Verhalten der Fliegen zu erzeugen. Mithilfe des beschriebenen Modells lässt sich diese zentrale Verarbeitung eines lokalen Serotoninlevels veranschaulichen (**Abbildung 76** und **Abbildung 77**).

Die α -/ β -Loben bewirken durch eine Aktivierung des 5HT-1A-Rezeptors eine Anhebung der initialen Aktivität. Wichtig ist hierbei vor allem, einer Inhibierung durch die γ -Loben entgegenzuwirken und so ein optimales Gleichgewicht in der Aktivität der Fliegen zu erzeugen. Deutlich wird diese Rolle des Rezeptors durch einen Knockdown der 5HT-1A-Expression im Pilzkörper mittels RNAi (*mb247-GAL4*), da hier der Einfluss der Saccharose auf einen Wiederanstieg des Serotoninlevels in den Pilzkörpern nicht rezipiert und weitergeleitet werden kann. Die Fliegen bleiben trotz einer starken Erhöhung des Serotoninspiegels im Zustand der depressionsartig-verminderten Aktivität, da die Sensoren zur Detektion dieser Erhöhung fehlen, keine Aktivität der α -/ β -Loben bedingt wird und das Gegengewicht zu den γ -Loben ausbleibt (**Abbildung 76A**). Wird hingegen die Erregbarkeit der 5HT-1A-exprimierenden Neurone künstlich durch den Einbau von NaChBac verstärkt, so bleibt die Aktivität der Neurone auch bei einem abgesenkten Serotoninlevel erhalten und sie verhindern ein Absinken der initialen Aktivität. Stress kann daher von den Fliegen nicht als solcher wahrgenommen und verarbeitet werden; ihre Aktivität erfährt trotz massiver externer Stresseinflüsse keine Veränderung (**Abbildung 76B**).



Die 5HT-1B-Rezeptoren sind für die Vermittlung der depressionsartigen Aktivitätsverminderung als Antwort auf anhaltende externe Stresseinflüsse verantwortlich. Wird ihre Expression in den γ -Loben verhindert, so wird *Drosophila* immun gegen die Einwirkung von Stress (**Abbildung 77A**). Dementgegen führt eine künstliche Erregungsverstärkung der *5HT-1B*-Neurone dazu, dass sich das Gleichgewicht in der Signalweiterleitung bereits bei minimaler Absenkung des Serotoninspiegels zugunsten der Inhibition der γ -Loben verschiebt. Daher zeigen die Fliegen nach einer erheblich verkürzten Phase des Stresseinflusses bereits einen depressionsartigen Verhaltensphänotyp mit stark verminderter Aktivität (**Abbildung 77B**). In den Kontrollfliegen stellt sich eine vergleichbare Aktivitätsabsenkung erst nach mehreren Tagen Stress ein (**Abbildung 67**).



Auf den ersten Blick überraschend präsentieren sich die Ergebnisse der Verfütterung von 5HT-Rezeptoragonisten. Es wurden zwei unterschiedliche Agonisten verabreicht, die in

humanen Studien für verschiedene Rezeptortypen eingesetzt werden (Naratriptan: humaner 5HT-1B-Rezeptoragonist (LAMBERT G., 2005); 8-OH-DPAT: humaner 5HT-1A-Rezeptoragonist (SHIMIZU S. UND OHNO Y., 2013)). Beide Substanzen zeigen bei *Drosophila* die gleiche Wirkung und anhand des resultierenden Verhaltensphänotyps lässt sich darauf schließen, dass in beiden Fällen der 5HT-1B-Rezeptor in den Fliegen verstärkt aktiviert wird.

Von 8-OH-DPAT ist bekannt, dass es die 5HT-1B-Rezeptoren in *Drosophila* im Gegensatz zu Vertebraten aktiviert. YUAN Q. zeigte 2005 in einer S2-Zellkultur, dass 8-OH-DPAT eine Aktivierung der 5HT-1B-Rezeptoren auslöst und dies wiederum in den Zellen zu einer MAPK-Aktivierung führt. Eine ähnliche Wirkung zeigte sich auch im Kriechverhalten von *Drosophila* Larven, wo beobachtet werden konnte, dass eine Verfütterung von 8-OH-DPAT (5mM) eine Rückzugsbewegung abschwächt, die durch den 5HT-1B-Rezeptor moduliert wird. Ein Knockdown des Rezeptors erzielte in dieser Studie – und damit auch passend im Gegensatz zur Aktivierung durch 8-OH-DPAT – eine Verstärkung dieser Rückzugsbewegung (OKUSAWA S. et al., 2014). In Verbindung mit den Werten zur Affinität der beiden Rezeptoren gegenüber 8-OH-DPAT aus der Studie von SAUDOU F. et al. ist daher davon auszugehen, dass vornehmlich der 5HT-1B-Rezeptor mittels 8-OH-DPAT aktiviert wird. Da zu Naratriptan Wirkungen keine Beobachtungen in *Drosophila* vorliegen, muss anhand der Verhaltensdaten spekuliert werden, dass Naratriptan eine ähnliche Wirkpräferenz innehat. Dies ist überraschend, da diese beiden Agonisten in Vertebraten jeweils einen unterschiedlichen Rezeptortyp ansprechen.

Bei *Drosophila* jedoch zeigt der pharmakologische Eingriff in den Fliegen bei beiden Substanzen als Resultat der Aufnahme ein depressionsartiges Verhalten in Tieren, die keinerlei externen Stressfaktoren ausgesetzt sind (**Abbildung 69** und **Abbildung 70**). Durch die orale Aufnahme der beiden mutmaßlichen 5HT-1B-Agonisten kommt es abrupt zu einer verstärkten Aktivierung des 5HT-1B-Rezeptors und das Gleichgewicht der Signalgebung der Pilzkörper verschiebt sich unmittelbar zugunsten der γ -Loben. Daher wird ohne Veränderung des Serotoninspiegels eine Inhibition der initialen Aktivität ausgelöst, die Tiere zeigen ohne sichtbaren Stressfaktor eine depressionsartig verminderte Aktivität (**Abbildung 77**).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass eine länger andauernde Stressphase *Drosophila* in einen Zustand verminderter Aktivität versetzt, der sich in vielen Eigenschaften mit den Symptomen der humanen Depression vergleichen lässt. Die stressbedingte Aktivitätsregulierung wird durch den Neurotransmitter Serotonin vermittelt, einerseits der Depressionszustand nach Stress, andererseits auch der durch Zucker vermittelte Wiedergewinn der Aktivität. Die Vibrationen senken die Serotoninausschüttung der *Trh493*-Neurone und damit verbunden den Serotoninspiegel im Bereich der Pilzkörper, insbesondere im Bereich der α -Loben der Pilzkörper. Eine Absenkung des 5-HT-Spiegels führt zu einer Dominanz der γ -Loben, einerseits da der Serotoninspiegel in ihrem Bereich weniger stark abgesenkt wird und andererseits da ihr 5HT-1B-Rezeptor eine höhere Aktivität zu Serotonin aufweist; beides führt dazu dass der 5HT-1B-Rezeptor weiterhin aktiviert wird. Durch Zucker wird die Ausschüttung von Serotonin wieder angeregt, der Serotoninspiegel an den Pilzkörperloben wird durch die *Trh493*-Neurone wieder erhöht, die 5HT-1A-Rezeptoren

werden ausreichend aktiviert und die α -/ β -Loben können die Aktivität wieder nach oben treiben.

4.3 Die Wirkung von Lithium im Depressionszustand von *Drosophila melanogaster*

Nach der Entwicklung eines komplexen Modells zum stressbedingten Depressionsverhalten in *Drosophila* lässt sich dieses Verhaltens unter weiteren Blickwinkeln betrachten. Klinische Studien belegen, dass sich in besonders schweren Fällen der Depression bei einer Behandlung mit Selektiven Serotonin-Wiederaufnahmehemmern (SSRIs) keine Verbesserung des Krankheitsbildes einstellt (EDWARDS S. et al., 2013). Eine zusätzliche Behandlung mit Lithium ist in diesen Fällen ein Therapieansatz, der bei schweren Formen von Depression und bipolaren Störungen eine positive Wirkung auf Patienten zeigt (RYBAKOWSKI J., 2014). Obwohl Lithium seit mehr als 60 Jahren erfolgreich in der Therapie bei affektiven Störungen und Depressionen verabreicht wird und etliche Effekte einer Lithiumverabreichung bekannt sind, ist der zugrundeliegende biochemische Wirkmechanismus noch nicht vollständig aufgeklärt. Ein Forschungsansatz basiert auf der Beobachtung, dass Lithium die Glykogen-Synthase-Kinase-3 (GSK-3 β) über eine Phosphorylierung inhibiert (BEUREL E. et al., 2015). GSK-3 β hat breit gefächerte Funktionen, sie reguliert beispielsweise die Überlebensdauer von Neuronen, hat Einfluss auf den Insulin-Signalweg und hormonell bedingte Zellantworten. Außerdem wirkt sich eine Inhibition der GSK-3 β positiv stabilisierend auf den Gemütszustand depressiver Patienten aus (GOULD T. UND MANJI H., 2005). Zudem ist bekannt, dass Lithium eine Hemmung des Inositol-Phosphatase-Signalwegs bedingt (QUIROZ J. et al., 2004) und in unterschiedlichen Hirnregionen den intrazellulären cAMP-Spiegel stabilisiert (MARMOL F., 2008). Außerdem ist beschrieben, dass Lithium die serotonerge Neurotransmission steigert und präsynaptisch eine verstärkte Serotoninausschüttung bedingt (LENOX H. UND HAHN C., 2000). Auch eine spezifische Hemmung des 5HT-1B-Rezeptors durch die Interaktion mit Lithium wurde beobachtet (MASSOT O. et al., 1999).

Sowohl die beschriebene Wirkung einer verstärkten Serotoninfreisetzung durch Lithium, als auch eine spezifische Hemmung des 5HT-1B-Rezeptors bilden Anknüpfungspunkte in Bezug auf die Ergebnisse in der hier vorgelegten Arbeit. Die Betrachtung des Modells aus **Abbildung 74** zeigt, dass die beschriebene Steigerung der präsynaptischen Serotoninausschüttung (LENOX H. UND HAHN C., 2000) die unmittelbare Aktivitätssteigerung der Fliegen nach Lithiumaufnahme erklären könnte (**Abbildung 76**). Im Fall einer gesteigerten präsynaptischen Serotoninfreisetzung käme es zu einer Aktivierung der α -/ β -Loben durch den 5HT-1A-Rezeptor, was sich wie im Modell dargestellt positiv auf die initiale Aktivität der Tiere auswirkt.

Ebenso passt die Hypothese einer Inhibition des 5HT-1B-Rezeptors in das ausgearbeitete Modell zur Entstehung des Depressionsphänotyps, da auf diese Weise die γ -Loben blockiert würden, was eine Disinhibition der initialen Aktivität in den Fliegen zur Folge hätte. Allerdings muss bei dieser hypothetischen Erörterung beachtet werden, dass die Lithiumdosierung in dem ersten, vorliegenden Experiment nicht optimal ausfiel. Die Verfütterung orientierte sich an einer vorhergehenden Studie, bei der die Auswirkung von

Lithiumchlorid-Aufnahme von zwölf Stunden in einer Konzentration von 80 mM auf das Gedächtnis von *Drosophila* im Flugsimulator geprüft wurde (XIA S. et al., 1997). Im Rahmen der Untersuchungen von XIA S. wurden keine motorischen Ausfälle im Verhalten der Fliegen beschrieben; in den Experimenten zur Kletter- und Laufaktivität dieser Arbeit traten solche Störungen jedoch auf, ebenso wie eine erhöhte Sterberate. Dies könnte durch eine ausgeprägte Phase des Vorhungerns der Fliegen bedingt gewesen sein. Die Tiere nahmen aufgrund der Phase ohne Futter und Wasser in der Vibrationsapparatur verhältnismäßig mehr Lithiumlösung auf als in den Experimenten von XIA S., in denen keine Phase des Vorhungerns beschrieben ist. Die beschriebenen motorischen Störungen könnten auf eine Überdosierung von Lithium hindeuten, denn aus klinischen Studien an Ratten ist bekannt, dass eine kurzzeitige hochdosierte Verabreichung von Lithium zu dem sogenannten Serotonin-Syndrom führen kann. Dabei wird durch die gesteigerte Serotoninausschüttung eine Hyperaktivität ausgelöst (BAUER M. et al., 2003). Die in der Literatur beschriebenen Symptome des Serotonin-Syndroms passen sehr gut auf den beobachteten Zustand der Tiere: kognitive Verwirrung/Desorientierung, Agitation, krampfartige Muskelzuckungen und Tremor. Dies führte im Rahmen der Kletterbemühungen zu einer hohen Rate an Abstürzen von dem Kletterblock. Die Hypothese der Überdosierung ließ sich durch die Durchführung eines weiteren Experiments mit Lithiumverfütterung in niedrigerer Dosierung (50 mM) bestätigen. Motorische Ausfälle ließen sich bei diesem Experiment nur bei einem Tier beobachten, alle anderen getesteten Tiere verhielten sich normal (**Abbildung 72**).

Auffallend in den Verhaltensmessungen nach Gabe von Lithium ist, dass sich bei beiden Experimenten im Verhalten der Fliegen erstmalig eine Steigerung des Verhaltens über ihre Grundaktivität hinaus auch in der nicht gestressten, aber mit Lithium gefütterten Kontrollgruppe beobachten lässt. Eine derartige Aktivitätssteigerung über das Normalmaß hinaus konnte bei einer bloßen Anhebung des Serotoninspiegels in den Köpfen der Fliegen nie beobachtet werden, weder nach Verfütterung der Serotonin-Vorstufe 5-HTP plus Saccharose (RIES A., 2011), noch nach Verfütterung von Saccharose alleine. Diese Substanzen können zwar eine Erholung der Aktivität nach Stress bewirken, nicht aber in unbehandelten Tieren vermehrte Aktivität über ihre bisher gezeigte Leistung hinausgehend verursachen. Daher kann vermutlich einzig die Anhebung des Serotoninspiegels nicht der alleinige Faktor sein, der diese gesteigerte Aktivität auslöst. Eine mögliche Erklärung wäre, dass Lithium mit weiteren serotonergen Neuronen im Gehirn von *Drosophila* hemmend interagiert, die ebenfalls die Aktivität der Fliegen modulieren (POORYASIN A. UND FIALA A., 2015) und dadurch einen synergistischen Effekt auslöst. Zudem könnte ein direktes Zusammenspiel von Dopamin und Serotonin für die Aktivität von *Drosophila* hierbei entscheidend sein. Es ist für die Fliege bekannt, dass Dopamin entscheidend an der Aktivitätserregung beteiligt ist und auch, dass Dopamin und Serotonin in der Aktivitätsregulierung kompensierend aufeinander wirken können (RIEMENSPERGER T. et al., 2011). Auch wenn bislang in *Drosophila* noch keine Wirkung von Lithium auf Dopamin belegt ist, in Säugermodellen sind Wirkungen von Lithium auf den Dopamin-Signalweg belegt, ebenso wie sich Hinweise auf Lithium-bedingte Interaktionen zwischen den Signalwegen dieser beiden Neurotransmitter in psychischen Störungen finden lassen (BEAULIEU J., 2012).

Daher ergeben sich aus diesen weiterführenden Experimenten der Wirkung von Lithium auf das Depressionsverhalten von *Drosophila* viele interessante Fragestellungen, in Bezug auf Interaktionen zwischen Dopamin und Serotonin ebenso wie zur Wirkungsweise von Lithium in diesem Verhalten. In folgerichtiger Konsequenz der bisher erarbeiteten Ergebnisse wäre es daher vorstellbar und spannend, weiterführende Studien mit Lithium an *Drosophila* durchzuführen.

5 Zusammenfassung

5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit wurde die Kontrolle der Verhaltensaktivität durch das Nervensystem in Reaktion auf Umwelteinflüsse und innere Zustände bei *Drosophila melanogaster* analysiert. Eine Erhöhung der Verhaltensaktivität durch positive Reize wird anthropomorph auch als erhöhte Motivation bezeichnet. Demgegenüber kann länger anhaltender Stress oder Versagenserfahrung zu einer allgemeinen Verringerung der Aktivität führen, woraus langfristig eine Depression entstehen kann.

Der Motivationszustand einer Fliege kann anhand ihrer Bereitschaft breite Lücken im Laufweg kletternd zu überwinden quantifiziert werden. Von einer normalen Aktivität ausgehend (satt, keine äußeren Reize) erhöhen Fliegen ihre Bereitschaft zu klettern, wenn attraktive olfaktorische (Futterduft) oder visuelle Reize (Fluchtmöglichkeit) jenseits der Lücke präsentiert werden. Diese Effekte sind additiv und können durch innere Zustände (Hunger) weiter verstärkt werden. Durch Experimente, in denen spezifisch Neurone des Pilzkörpers von *Drosophila* inaktiviert wurden, konnte gezeigt werden, dass deren α -/ β -Neurone sowohl die Duft-, als auch die visuelle Motivation vermitteln. Es ist damit gelungen nachzuweisen, dass unterschiedliche sensorische Einflüsse in denselben Schaltkreisen des Pilzkörpers integriert werden, um Motivation zu kontrollieren.

Andererseits erniedrigt „erlernte Hilflosigkeit“, ein anerkanntes Tiermodell für Depression, die Motivation der Fliegen zu klettern. Erlernte Hilflosigkeit entsteht durch wiederkehrende, nicht kontrollierbare Stressereignisse, wofür ein zuverlässiges Paradigma zur Erzeugung dieses Zustandes in dieser Arbeit entwickelt wurde. Erlernte Hilflosigkeit wurde durch mehrtägige Behandlung mit wiederholten, nicht vorsehbaren und nicht vermeidbaren Vibrationsreizen von 300 Hz für 20s in 15-Minuten-Blöcken über acht Stunden täglich ausgelöst. Es konnte gezeigt werden, dass die Vibrationsbehandlung nicht nur die Klettermotivation, sondern auch die Verhaltensaktivität in Lauf- und Balzparadigmen erniedrigt, was die Bezeichnung eines depressionsähnlichen Zustandes als zulässig erscheinen lässt.

Dieser Zustand kann klar von der Balzfrustration von Fliegenmännchen nach Anbalzen nicht-rezeptiver Weibchen abgegrenzt werden, da diese keine Aktivitätsreduktion im Kletter- oder Laufparadigma bewirkt. Darüber hinaus ist Balzfrustration von den Lerngenen *dunce* und *rutabaga* abhängig, die vibrationsverursachte erlernte Hilflosigkeit dagegen nicht.

Die gegenüber Kontrollfliegen reduzierte Kletteraktivität ging einher mit einer reduzierten Serotoninkonzentration im Bereich der α -Loben der Pilzkörper. Durch Gabe von Saccharose über Nacht ließ sich der depressionsähnliche Zustand aufheben. Sowohl in histologischen als auch in pharmakologischen Experimenten konnte eine Verbindung zwischen Zuckeraufnahme und der vermehrten Ausschüttung des Neurotransmitters Serotonin im ganzen Gehirn hergestellt werden. Im Folgenden wurde nachgewiesen, dass

Vibrationsstress eine verminderte Serotoninfreisetzung durch einen Teil der serotonergen Neurone bewirkt, welche die α -Loben der Pilzkörper innervieren. Eine Blockade der chemischen Synapsen der Kenyonzellen des α -/ β -Lobus, oder eine Reduktion der Expression des 5-HT_{1A} Rezeptors in diesen Zellen, verhindert die Reversion der erlernten Hilflosigkeit durch anschließende Saccharose-Gabe.

Im Gegensatz dazu verhindert eine Blockade der Synapsen der Kenyonzellen des γ -Lobus, welche den 5HT_{1B} Rezeptor exprimieren, eine reduzierte Kletteraktivität durch Vibrationsstress. Die gleiche Resilienz konnte auch durch eine RNA-Interferenz vermittelte Reduktion des 5-HT_{1B} Rezeptors in den γ -Neuronen erreicht werden. Diese Ergebnisse werden gestützt durch Experimente, in denen die Erregbarkeit der Neurone mit 5-HT_{1A} oder 5-HT_{1B} Rezeptoren durch Expression des bakteriellen Natriumkanals NaChBac erhöht wurde. Expression im 5-HT_{1A} Muster bewirkt, dass sich die Kletteraktivität der entsprechenden Tiere durch Vibrationsbehandlung nicht mehr vermindern lässt, wohingegen Expression im 5-HT_{1B} Muster dafür sorgt, dass die Aktivität der betroffenen Tiere bereits bei wenigen Stresseinheiten absinkt. Verfütterung von mutmaßlichen Agonisten des 5-HT_{1B} Rezeptors führen zu erlernter Hilflosigkeit ganz ohne Stress Einwirkung.

Auf Grundlage dieser experimentellen Ergebnisse wird ein Modell der Aktivitätsregulierung in den Pilzkörpern vorgeschlagen: Vibrationsvermittelter Stress wird durch reduzierte Ausschüttung von Serotonin in die α -Loben des Pilzkörpers vermittelt und positive Ereignisse, wie Zuckergabe, dagegen durch vermehrte Ausschüttung. Der γ -Lobus ist bezüglich der Aktivitätskontrolle der Gegenspieler zum α -Lobus, denn bei künstlicher Aktivierung der γ -Kenyonzellen mit 5-HT_{1B} Rezeptoren sind die Tiere schneller „depressiv“ und bei künstlicher Inaktivierung derselben Kenyonzellen lassen sie sich nicht mehr „depressiv“ machen. Ein von außen kommender Grund für eine Modulation der Serotonin-Ausschüttung in die γ -Loben ist bisher nicht bekannt. Die Modulation der Aktivität durch attraktive olfaktorische oder visuelle Reiz erfolgt jedenfalls über die α -/ β -Loben, denn nur dort konnte die Modulation durch Blockade der chemischen Synapsen unterbunden werden.

5.2 Summary

It was the aim of this thesis to analyze the control of behavioral activity in response to environmental and internal stimuli in *Drosophila melanogaster*. An increase in behavioral activity in response to positive stimuli is anthropomorphically called enhanced motivation, whereas repeated or long-lasting stress or failure may lead to a decrease in behavioral activity and in the long run to major depression.

The motivational state of a fly can reliably be quantified by its willingness to overcome broad gaps in a narrow catwalk by a complex climbing action. Starting from a normal activity level (fly saturated, no external stimuli) flies increase their willingness to climb the gap, whenever attractive olfactory (food odor) or visual stimuli (means of escape) are presented beyond the gap. These effects are additive and can be further enhanced by internal states (hunger). By neuronal inactivation experiments of specific mushroom body sub-compartments in *Drosophila* it was shown, that the α -/ β -neurons convey olfactory- as well as visual motivation. Therefore sensory cues of different modalities are integrated in the same neuronal circuits of the mushroom bodies in order to control the motivational state of the fly.

On the other hand “learned helplessness“, an accepted animal model of major depression diminishes the motivation of flies to climb the gap. Learned helplessness can emerge by repeated stressful events unavoidable to the animal. A robust paradigm to generate learned helplessness in flies has been developed in the current study. Learned helplessness was reliably elicited by repeated, not foreseeable, unavoidable vibrations of 300 Hz and 20s duration during 8h per day and over the course of several days. In comparison to control flies not just the climbing activity of the treated flies was reduced but also their behavioral activity in walking and courtship; the term “depression-like state“ seems therefore justified.

This state can be distinguished from the courtship frustration state of male flies after having courted unreceptive females; the latter does neither reduce their climbing nor their walking activity. Moreover, courtship frustration is dependent on the learning genes *dunce* and *rutabaga*, whereas this is not the case for learned helplessness.

Reduced climbing activity of vibration-treated flies was accompanied by a reduced concentration of the neurotransmitter serotonin in their brains, specifically in the region of the mushroom body α -lobes. The depression-like state could be reverted by feeding sucrose to the flies overnight. A combination of histological and pharmacological experiments connected the sugar intake with increased serotonin levels in the entire fly brain. Following experiments elucidated that the vibration treatment causes reduced serotonin release by a subset of serotonergic neurons, which innervate the α -lobes of the mushroom bodies. Blocking the chemical synapses of the α -/ β -lobe Kenyon cells or reducing expression of the 5-HT1A receptor in these cells prevented the reversion of learned helplessness by subsequent sucrose intake. Conversely, blocking the synapses of γ -lobe Kenyon cells, which express the 5-HT1B receptor, prevented the reduction of the climbing activity by the

vibration treatment. The same resilience was found when the expression of the 5-HT1B receptor in the γ -neurons had been down-regulated by RNA interference.

These results are supported by the outcome of experiments, in which the excitability of either the neurons - with 5-HT1A receptor or those with 5-HT1B receptor - had been increased by expression of the bacterial sodium ion channel NaChBac. Expression of this channel in the pattern of 5-HT1A prohibits that the climbing activity of flies can be reduced by the harsh vibration treatment. On the contrary, expression in the pattern of 5-HT1B leads to increased sensitivity for vibrational stress so that less punishment trails are effective to reduce climbing activity. Feeding putative agonists of the 5-HT1B receptor leads to learned helplessness entirely without stress treatment.

A model for the regulation of behavioral activity by the mushroom bodies has been developed on basis of the experimental results. Vibrational stress is mediated by reduced release of serotonin into the α -lobes of the mushroom bodies, whereas positive events, like sugar intake, are signaled by an overall increased release of this neuromodulator. The γ -lobes act antagonistically to the α -lobes, because artificial activation of the γ -Kenyon cells with their 5-HT1B receptors let the animals become „depressive“ more easily, whereas artificial inactivation of the same γ -Kenyon cells let the flies resist the depression-like state. A natural cause for the modulation of the serotonin release into the γ -lobes has yet to be found. Modulation of activity by attractive olfactory or visual stimuli, however, acts through the α -/ β -Lobes, because only there the modulation could be stopped by blocking the chemical synapses.

6 Verzeichnis

6.1 Literaturverzeichnis

- ABELAIRA H., RÉUZ G. AND QUEVEDO J. (2013) "Animal Models as Tools to Study the Pathophysiology of Depression" *Rev. Bras. Psiquiatr.*, **35**(Suppl.2): 112-20
- ADAMS M., CELNIKER S., HOLT R., EVANS C., GOCAYNE J., AMANATIDES P., SCHERER S., LI P., HOSKINS R., GALLE R., GEORGE R. et al. (2000) "The Genome Sequence of *Drosophila melanogaster*" *Science*, **287**(5461): 2185-95
- ADRIAN T., ALLEN J., BLOOM S., GHATEI M., ROSSOR M., ROBERTS G., CROW T., TATEMOTO K. AND POLAK J. (1983) "Neuropeptide Y Distribution in Human Brain" *Nature*, **306**(5943): 584-86
- AGRAWAL T. AND HASAN G. (2015) "Maturation of a Central Brain Flight Circuit in *Drosophila* Requires Fz2/Ca²⁺ Signaling" *eLife*, **4**: e07046
- ALCARO A., HUBER R. AND PANKSEPP J. (2007) "Behavioral Functions of the Mesolimbic Dopaminergic System: An Affective Neuroethological Perspective" *Brain Res. Rev.*, **56**(2): 283-321
- ALLANDA R. AND CHUNG B. (2010) "Circadian Organization of Behavior and Physiology in *Drosophila*" *Annu. Rev. Physiol.*, **72**: 605-624
- ANDRETIC R., VAN SWINDEREN B. AND GREENSPAN R. (2005) "Dopaminergic Modulation of Arousal in *Drosophila*" *Curr. Biol.*, **15**(13): 1165-75
- ARENDE D. AND NÜBLER-JUNG K. (1999) "Comparison of Early Nerve Cord Development in Insects And Vertebrates" *Development*, **126**(11): 2309-25
- ARGUE K. AND NECKAMEYER W. (2013) "Sexually Dimorphic Recruitment of Dopamine Neurons Into the Stress Response Circuitry" *Behav. Neurosci.*, **127**(5): 734-43
- ARMSTRONG J., TEXADA M., MUNJAAL R., BAKER D. AND BECKINGHAM K. (2006) "Gravitaxis in *Drosophila melanogaster*: A Forward Genetic Screen" *Genes Brain Behav.*, **5**(3): 222-39
- ARTIGAS F. (2013) "Serotonin Receptors Involved in Antidepressant Effects" *Pharmacol. Ther.*, **137**(1): 119-31
- ASO Y., GRÜBEL K., BUSCH S., FRIEDRICH A., SIWANOWICZ I. AND TANIMOTO H. (2009) "The Mushroom Body of Adult *Drosophila* Characterized by GAL4 Drivers" *J. Neurogenet.*, **23**(1): 156-72

- ASO Y., SITARAMAN D., ICHINOSE T., KAUN K., VOGT K., BELLART-GUÉRIN G., PLAÇAIS P., ROBIE A., YAMAGATA N., SCHNAITMANN C., ROWELL W. et al. (2014) "Mushroom Body Output Neurons Encode Valence and Guide Memory-Based Action Selection in *Drosophila*" *eLife*, **3**: e04580
- BAINES R., ROBINSON S., FUJIOKA M., JAYNES J. AND BATE M. (1999) "Postsynaptic Expression of Tetanus Toxin Light Chain Blocks Synaptogenesis in *Drosophila*" *Curr. Biol.*, **9**(21): 1267-70
- BAINTON R., TSAI L., SINGH C., MOORE M., NECKAMEYER W. AND HEBERLEIN U. (2000) "Dopamine Modulates Acute Responses to Cocaine, Nicotine and Ethanol in *Drosophila*" *Curr. Biol.*, **10**(4): 187-94
- BAKER B., TAYLOR B. AND HALL J. (2001) "Are Complex Behaviors Specified by Dedicated Regulatory Genes? Reasoning from *Drosophila*" *Cell*, **105**(1): 13-24
- BARNES N. AND SHARP T. (1999) "A Review of Central 5-HT Receptors and Their Function" *Neuropharmacology*, **38**(8): 1083-152
- BATESON M., DESIRE S., GARTSIDE S. AND WRIGHT G. (2011) "Agitated Honeybees Exhibit Pessimistic Cognitive Biases" *Curr. Biol.*, **21**(12): 1070-73
- BAUER M., ADLI M., BAETHGE C., BERGHÖFER A., SASSE J., HEINZ A. AND BSCHOR T. (2003) "Lithium Augmentation Therapy in Refractory Depression: Clinical Evidence and Neurobiological Mechanisms" *Can. J. Psychiatry*, **48**(7): 440-48
- BAUTISTA L., TINBERGEN J., KACELNIK A. (2001) "To Walk or to Fly? How Birds Choose Among Foraging Modes" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**(3): 1089-98
- BEAR M., CONNORS B. AND PARADISO M. (2009) "Neurowissenschaften" **3.**Auflage, *Springer Verlag*, Heidelberg
- BEAULIEU M. (2012) "A Role for Akt and Glycogen Synthase Kinase-3 as Integrators of Dopamine and Serotonin Neurotransmission in Mental Health" *J. Psychiatry. Neurosci.*, **37**(1): 7-16
- BECNEL J., JOHNSON O., LUO J., NÄSSEL D. AND NICHOLS C. (2011) "The Serotonin 5HT7Dro Receptor Is Expressed in the Brain of *Drosophila*, and is Essential for Normal Courtship And Mating" *PLoS One*, **6**(6): e20800
- BEESDO-BAUM K. AND WITTCHEN H. (2011) "Klinische Psychologie und Psychotherapie" Kapitel 40 "Depressive Störungen: Major Depression und Dysthymie" (S.879) **24.** Auflage, *Springer Verlag*, Heidelberg
- BELLEN H., TONG C. AND TSUDA H. (2010) "100 Years of *Drosophila* Research and its Impact on Vertebrate Neuroscience: A History Lesson for the Future" *Nature Rev. Neurosci.*, **11**(7): 514-22

- BENZER S. (1967) "Behavioral Mutants of *Drosophila* Isolated by Countercurrent Distribution" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **58**(3): 1112-19
- BERMAN R., CAPIELLO A., ANAND A., OREN D., HENINGER G., CHARNEY D. AND KRISTAL J. (2000) "Antidepressant Effects of Ketamine in Depressed Patients" *Biol. Psychiatry*, **47**(4): 351-54
- BERRIDGE K. (1996) "Food Reward: Brain Substrates of Wanting and Liking" *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **20**(1): 1-25
- BERRIDGE K. (2007) "The Debate over Dopamine's Role in Reward: The Case for Incentive Salience" *Psychopharmacology*, **191**(3): 391-431
- BERRIDGE K. AND KRINGELBACH M. (2008) "Affective Neuroscience of Pleasure: Reward in Humans and Animals" *Psychopharmacology*, **199**(3): 457-80
- BERRIDGE K. AND KRINGELBACH M. (2015) "Pleasure Systems in the Brain" *Neuron*, **86**(3): 646-64
- BERRIDGE K. AND ROBINSON T. (2003) "Parsing Reward" *Trends Neurosci.*, **26**(9): 507-13
- BERTOLUCCI F. (2008) "Operant and Classical Learning in *Drosophila melanogaster*: the ignorant-Gene (*ign*)" *Dissertation*, Julius-Maximilians-Universität, Würzburg
- BERTON O., HAHN C. AND THASE M. (2012) "Are We Getting Closer to Valid Translational Models For Major Depression?" *Science*, **338**(6103): 75-79
- BEUREL E., GRIECO S. AND JOPE R. (2015) "Glycogen Synthase Kinase-3 (GSK3): Regulation, Actions, and Diseases" *Pharmacol. Ther.*, **148**:114-31
- BEVILACQUA L. AND GOLDMAN D. (2011) "Genetics of Emotion" *Trends Cogn. Sci.*, **15**(9): 401-08
- BLENAU W AND THAMM M. (2011) "Distribution of Serotonin (5HT) and Its Receptors in the Insect Brain with Focus on the Mushroom Bodies: Lessons from *Drosophila Melanogaster* and *Apis mellifera*" *Arthropod. Struct. Dev.*, **40**(5): 381-94
- BRAND A. AND DORMAND E. (1995) "The GAL4 System as a Tool for Unravelling the Mysteries of The *Drosophila* Nervous System" *Curr. Opin. Neurobiol.*, **5**(5): 572-78
- BRAND A. AND PERRIMON N. (1993) "Targeted Gene Expression as a Means of Altering Cell Fates and Generating Dominant Phenotypes" *Development*, **118**(2): 401-15
- BREMBS B. AND HEISENBERG M. (2000) "The Operant and the Classical in Conditioned Orientation Of *Drosophila melanogaster* at the Flight Simulator" *Learning & Memory*, **7**(2): 104-15

- BROOKESHIRE B. AND JONES S. (2009) "Direct and Indirect 5-HT Receptor Agonists Produce Gender Specific Effects on Locomotor and Vertical Activity in C57 BL/6J Mice" *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **94**(1): 194-203
- BROWN G., DAVENPORT D. AND HOWE A. (1994) "Escape Deficits Induced by a Biological Relevant Stressor in the Slug (*Limax Maximus*)" *Psychol. Rep.*, **75**(3 Pt 1): 1187-92
- BROWN G., MITCHELL A., PEERCY A. AND ROBERTSON C. (1996) "Learned Helplessness in *Drosophila melanogaster*?" *Psychol. Rep.*, **78**(3 Pt 1): 962
- BROWN G. AND STROUP K. (1988) "Learned Helplessness in the Cockroach (*Periplaneta Americana*)" *Behav. Neural. Biol.*, **50**(2): 246-50
- BROWN M., CRIM J., ARATA R., CAI H., CHUN C. AND SHEN P. (1999) "Identification of a *Drosophila* Brain-Gut Peptide Related to the Neuropeptide Y Family" *Peptides*, **20**(9): 1035-42
- BSCHOR T. AND ADLI M. (2008) "Therapie Depressiver Erkrankungen" *Dtsch. Ärzteblatt*, **105**(45): 782-91
- BUCKINGHAM S., ESMAEILI B., WOOD M. AND SATTELLE D. (2004) "RNA Interference: From Model Organisms towards Therapy for Neural and Neuromuscular Disorders" *Hum. Mol. Genet.*, **13**(2): R275-88
- BÜLTHOFF H., GÖTZ K. AND HERRE M. (1982) "Recurrent Inversion of Visual Orientation in the Walking Fly, *Drosophila melanogaster*" *J. Comp. Physiol. A.*, **148**(4): 471-81
- BURKE C., HUETTEROTH W., OWALD D., PERISSE E., KRASHES M., DAS G., GOHL D., SILIES M., CERTEL S. AND WADDELL S. (2012) "Layered Reward Signalling Through Octopamine and Dopamine in *Drosophila*" *Nature*, **492**(7429): 433-37
- BUSTO G., CERVANTES-SANDOVAL I. AND DAVIS R. (2010) "Olfactory Learning in *Drosophila*" *Physiology (Bethesda)*, **25**(6): 338-46
- CAI N., CHANG S., LI Y., LI Q., HU J., LIANG J., SONG L., KRETZSCHMAR W., GAN X., NICOD J., RIVERA M., DENG H. et al. (2015) "Molecular Signatures of Major Depression" *Curr. Biol.*, **25**(15): 1146-56
- CANLI T. AND LESCH K. (2007) "Long Story Short: The Serotonin Transporter in Emotion Regulation and Social Cognition" *Nature Neurosci.*, **10**(9): 1103-09
- CAREW T. AND SAHLEY C. (1986) "Invertebrate Learning and Memory: From Behavior to Molecules" *Annu. Rev. Neurosci.*, **9**: 435-87
- CASPI A., SUGDEN K., MOFFITT T., TAYLOR A., CRAIG I., HARRINGTON H., MCCLAY J., MILL J., MARTIN J., BRAITHWAITE A. AND POULTON R. (2003) "Influence of Life Stress on Depression: Moderation by a Polymorphism in the 5-HTT Gene" *Science*, **301**(5631): 386-89

- CELADA P., BORTOLOZZI A. AND ARTIGAS F. (2013) "Serotonin 5-HT_{1A} Receptors as Targets for Agents to Treat Psychiatric Disorders: Rationale and Current Status of Research" *CNS Drugs*, **27**(9): 703-16
- CERVANTES-SANDOVAL I., MARTIN-PEÑA A., BERRY J. AND DAVIS R. (2013) "System-like Consolidation Of Olfactory Memories in *Drosophila*" *J. Neurosci.*, **33**(23): 9846-54
- CIPRIANI A., HAWTON K., STOCKTON S. AND GEDDES J. (2013) "Lithium in the Prevention of Suicide in Mood Disorders: Updated Systematic Review and Meta-Analysis" *BMJ.*, **346**(f3646): 1-13
- CHEN L., ZHOU W., CHEN P., GAISINA I., YANG S. AND LI X. (2011) "Glycogen Synthase Kinase-3 β is a Functional Modulator of Serotonin-1B Receptors" *Mol. Pharmacol.*, **79**(6): 974-86
- CLYNE J. AND MIESENBOCK G. (2008) "Sex-Specific Control and Tuning of the Pattern Generator For Courtship Song in *Drosophila*" *Cell*, **133**(2): 354-63
- COLAS J., LAUNAY J., KELLERMANN O., ROSAY P. AND MAROTEAUX L. (1995) "*Drosophila* 5HT₂ Serotonin Receptor: Coexpression with Fushi-Tarazu during Segmentation" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**(12): 5441-45
- COOLS R. (2008) "Role of Dopamine in the Motivational and Cognitive Control of Behavior" *Neuroscientist*, **14**(4): 381-95
- CORNWELL J., FRANKS B. AND HIGGINS E. (2014) "Truth, Control, and Value Motivations: The "What," "How," and "Why" of Approach and Avoidance" *Front. Syst. Neurosci.*, **8**(194): 1-15
- COSTAFREDA S., MCCANN P., SAKER P., COLE J., COHEN-WOODS S., FARMER A., AITCHISON K., MCGUFFIN P. AND FU C. (2013) "Modulation of Amygdala Response and Connectivity in depression by Serotonin Transporter Polymorphism and Diagnosis" *J. Affect. Disord.*, **150**(1): 96-103
- COUSINS L. AND GOODYER I. (2015) "Antidepressants and the Adolescent Brain" *J. Psychopharmacol.*, [Epub ahead of print]
- CRITTENDEN J., SKOULAKIS E., HAN K., KALDERON D. AND DAVIS R. (1998) "Tripartite Mushroom Body Architecture Revealed by Antigenic Markers" *Learning & Memory*, **5**(1-2): 38-51
- CURRAN K. AND CHALASANI S. (2012) "Serotonin Circuits and Anxiety: What Can Invertebrates Teach Us?" *Invert. Neurosci.*, **12**(2): 81-92
- CZÉH B., FUCHS E., WIBORG O. AND SIMON M. (2015) "Animal Models of Major Depression and Their Clinical Implications" *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **S0278-5846**(15): 1-18
- DAHMANN C. (2008) "*Drosophila* – Methods and Protocols" Humana Press (Springer Science and Business Media)

- DALE E., BANG-ANDERSEN B. AND SÁNCHEZ C. (2015) "Emerging Mechanisms and Treatments for Depression beyond SSRIs and SNRIs" *Biochem. Pharmacol.*, **95**(2): 81-97
- DAUNAIS J., LETCHWORTH S., SIM-SELLEY L., SMITH H., CHILDERS S. AND PORRINO L. (2001) "Functional And Anatomical Localization of Mu-Opionid Receptors in the Striatum, Amygdala, and Extended Amygdala of the Nonhuman Primate" *J. Comp. Neurol.*, **433**(4): 471-85
- DAVIS R., CHERRY J., DAUWALDER B., HAN P. AND SKOULAKIS E. (1995) "The Cyclic AMP System and *Drosophila* Learning" *Mol. Cell. Biochem.*, **149-150**: 271-78
- DE BELLE J. AND HEISENBERG M. (1994) "Associative Odor Learning in *Drosophila* Abolished by Chemical Ablation of Mushroom Bodies" *Science*, **263**(5147): 692-95
- DE SOUSA R., ZANETTI M., TALIB L., SERPA M., CHAIM T., CARVALHO A., BRUNONI A., BUSATTO G., GATTAZ W. AND MACHADO-VIEIRA R. (2015) "Lithium Increases Platelet Serine-9 Phosphorylated GSK-3 β Levels in Drug-Free Bipolar Disorder during Depressive Episodes" *J. Psychiatr. Res.*, **62**: 78-83
- DIERICK H. AND GREENSPAN R. (2007) "Serotonin and Neuropeptide F Have Opposite Modulatory Effects on Fly Aggression" *Nature Genet.*, **39**(5): 678-82
- DIFELICEANTONIO A., MABROUK O., KENNEDY R. AND BERRIDGE K. (2012) "Enkephalin Surges in Dorsal Neostriatum as a Signal to Eat" *Curr. Biol.*, **22**(20): 1918-24
- DISSEL S., ANGADI V., KRISZENBLAT L., SUZUKI Y., DONLEA J., KLOSE M., ENGLISH D., WINSKY-SOMMERER R., VAN SWINDEREN B. AND SHAW P. (2015) "Sleep Restores Behavioral Plasticity to *Drosophila* Mutants" *Curr. Biol.*, **25**(10): 1270-81
- DOS SANTOS G., SCHROEDER A., GOODMAN J., STRELETS V., CROSBY M., THURMOND J., EMMERT D., GELBART W. AND FLYBASE CONSORTIUM (2014) "Flybase: Introduction of the *Drosophila melanogaster* Release 6 Reference Genome Assembly and Large-Scale Migration of Genome Annotations" *Nucleic. Acid. Res.*, **43**(Database issue): D690-97
- DUBNAU J. AND TULLY T. (1998) "Gene Discovery in *Drosophila*: New Insights for Learning and Memory" *Annu. Rev. Neurosci.*, **21**: 407-44
- DUDAI Y., JAN Y., BYERS D., QUINN W. AND BENZER S. (1976) "*dunce*, a Mutant of *Drosophila* Deficient in Learning" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **73**(5): 1684-88
- DUMAN R. AND AGHAJANIAN G. (2012) "Synaptic Dysfunction in Depression: Potential Therapeutic Targets" *Science*, **338**(6103): 68-72
- DURGAM R. (2001) "Rodent Models of Depression: Learned Helplessness Using a Triadic Design in Rats" *Curr. Protoc. Neurosci.*, **8**(8): 10B1-12
- EDWARDS S., HAMILTON V., NHERERA L. AND TREVOR N. (2013) "Lithium or an Atypical Antipsychotic Drug in the Management of Treatment-Resistant Depression: a Systematic Review and Economic Evaluation" *Health Technol. Assess.*, **17**(54): 1-190

- ESTERMAN M., RUSSO K., LIU G., FORTENBAUGH F. AND DEGUTIS J. (2015) "Money on my Mind: Reward Induces Differential Neurocognitive Strategies during a Sustained Attention Task" *J. Vis.*, **15**(12): 563
- FARAHANI M., BAHRAMSOLTANI R., FARZAEI M., ABDOLLAHI M. AND RAHIMI R. (2015) "Plant-Derived Natural Medicines for the Management of Depression: An Overview of Mechanisms of Action" *Rev. Neurosci.*, [Epub ahead of print]
- FIRE A., XU S., MONTGOMERY M., KOSTAS S., DRIVER S. AND MELLO C. (1998) "Potent and Specific Genetic Interference by Double-Stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*" *Nature*, **391**(6669): 806-11
- FLYBASE GENOME ANNOTATORS (2014) "Changes Affecting Gene Model Number or Type in Release 6.01 of the Annotated *D. melanogaster* Genome" [FBrf0224938]
- GAILEY D., JACKSON F. AND SIEGEL R. (1984) "Conditioning Mutations in *Drosophila melanogaster* Affect an Experience-Dependent Behavioral Modification in Courting Males" *Genetics*, **106**(4): 613-23
- GAO X., RIABININA O., LI J., POTTER C., CLANDININ T. AND LUO L. (2015) "A Transcriptional Reporter Of Intracellular Ca²⁺ in *Drosophila*" *Nature Neurosci.*, **18**(6): 917-25
- GARCZYNSKI S., BROWN M., SHEN P., MURRAY T. AND CRIM J. (2002) "Characterization of a Functional Neuropeptide F Receptor from *Drosophila melanogaster*" *Peptides*, **23**(4): 773-80
- GASQUE G., CONWAY S., HUANG J., RAO Y. AND VOSSHALL L. (2013) "Small Molecule Drug Screening In *Drosophila* identifies the 5HT2A Receptor as a Feeding Modulation Target" *Sci. Rep.*, **3**(2120): 1-8
- GENDRON C., KUO T., HARVANEK Z., CHUNG B., YEW J., DIERICK H. AND PLETCHER S. (2014) "*Drosophila* Life Span and Physiology are Modulated by Sexual Perception and Reward" *Science*, **343**(6170): 544-48
- GERVASI N., TCHÉNIO P. AND PREAT T. (2010) "PKA Dynamics in a *Drosophila* Learning Center: Coincidence Detection by Rutabaga Adenylyl Cylase and Spatial Regulation by Dunce Phosphodiesterase" *Neuron*, **65**(4): 516-29
- GNERER J., VENKEN K. AND DIERICK H. (2015) "Gene-Specific Cell Labeling Using *MiMIC* Transposons" *Nucleic. Acids Res.*, **43**(8): e56
- GORDESKY-GOLD B., RIVERS N., AHMED O. AND BRESLIN P. (2008) "*Drosophila melanogaster* Prefers Compounds Perceived Sweet by Humans" *Chem. Senses*, **33**(3): 301-9
- GÖTZ K.G. (1980) "Visual Guidance in *Drosophila*" *Basic Life Sci.*, **16**: 391-407

- GOULD T. AND MANJI H. (2005) "Glycogen Synthase Kinase-3: A Putative Molecular Target for Lithium Mimetic Drugs" *Neuropsychopharmacology*, **30**(7): 1223-37
- GREENWOOD B., STRONG P. AND FLESHNER M. (2010) "Lesions of the Basolateral Amygdala Reverse The Long-Lasting Interference with Shuttle Box Escape Produced by Uncontrollable Stress" *Behav. Brain Res.*, **211**(1): 71-76
- GRIFFITH L. AND EJIMA A. (2009) "Courtship Learning in *Drosophila melanogaster*: Diverse Plasticity of a Reproductive Behavior" *Learning & Memory*, **16**(12): 743-50
- GROTH A., FISH M., NUSSE R., CALOS M. (2004) "Construction of Transgenic *Drosophila* by Using The Site-Specific Integrase from Phage *phiC31*" *Genetics*, **166**(4): 1775-82
- GUO C., DU Y., YUAN D., LI M., GONG H., GONG Z. AND LIU L. (2014) "A Conditioned Visual Orientation Requires the Ellipsoid Body in *Drosophila*" *Learning & Memory*, **22**(1): 56-83
- HAINER C., MOSIENKO V., KOUTSIKOU S., CROOK J., GLOSS B., KASPAROV S., LUMB B. AND ALENINA N. (2015) "Beyond Gene Inactivation: Evolution of Tools for Analysis of Serotonergic Circuitry" *ACS Chem. Neurosci.*, **6**(7): 1116-29
- HALLEM E. AND CARLSON J. (2006) "Coding of Odors by Receptor Repertoire" *Cell*, **125**(1): 143-60
- HANNON J. AND HOYER D. (2008) "Molecular Biology of 5-HT Receptors" *Behav. Brain. Res.*, **195**(1): 198-213
- HEILIG M. (2004) "The NPY System in Stress, Anxiety and Depression" *Neuropeptides*, **38**(4): 213-24
- HEILIG M., ZACHRISSON O., THORSELL A., EHNVALL A., MOTTAQUI-TABAR S., SJÖGREN M., ASBERG M., EKMAN R., WAHLESTEDT C. AND AGREH H. (2004) "Decreased Cerebrospinal Fluid Neuropeptide Y (NPY) in Patients with Treatment Refractory Unipolar Major Depression: Preliminary Evidence for Association with PreproNPY Gene Polymorphism" *J. Psychiatr. Res.*, **38**(2): 113-21
- HEIMBECK G., BUGNON V., GENDRE N., KELLER A. AND STOCKER R. (2001) "A Central Neural Circuit for Experience-Independent Olfactory and Courtship Behavior in *Drosophila melanogaster*" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**(26): 15336-41
- HEISENBERG M. (1998) "What Do the Mushroom Bodies Do for the Insect Brain? An Introduction" *Learning & Memory*, **5**(1-2): 1-10
- HEISENBERG M. (2004) "Interview with Martin Heisenberg" *Curr. Biol.*, **14**(16): R637-38
- HEISENBERG M. AND BOEHL K. (1979) "Isolation of Anatomical Brain Mutants of *Drosophila melanogaster* by Histological Means" *Z. Naturf. C. Biosci.*, **34**(c): 143-47

- HELFRICH-FÖRSTER C., WULF J. AND DE BELLE J. (2002) "Mushroom Body Influence on Locomotor Activity and Circadian Rhythms in *Drosophila melanogaster*" *J. Neurogenet.*, **16**(2): 73-109
- HIRSCH J. (1959) "Studies in Experimental Genetics: II. Individual Differences in Geotaxis as a Function of Chromosome Variations in Synthesized *Drosophila* Populations" *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **52**(3): 304-08
- HODGE J. (2009) "Ion Channels to Inactivate Neurons in *Drosophila*" *Front. Mol. Neurosci.*, **2**(13): 1-10
- HOLTZHEIMER P. AND NEMEROFF C. (2006) "Advances in the Treatment of Depression" *NeuroRx.*, **3**(1): 42-56
- HOYER D., HANNON J., MARTIN G. (2002) "Molecular, Pharmacological and Functional Diversity Of 5-HT Receptors" *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **71**(4): 533-54
- HUETTEROTH W., PERISSE E., LIN S., KLAPPENBACH M., BURKE C. AND WADDELL S. (2015) "Sweet Taste And Nutrient Value Subdivide Rewarding Dopaminergic Neurons in *Drosophila*" *Curr. Biol.*, **25**(6): 751-58
- HUSUM H., MIKKELSEN J., HOGG S., MATHÉ A. AND MØRK A. (2000) "Involvement of Hippocampal Neuropeptide Y in Mediating the Chronic Actions of Lithium, Electroconvulsive Stimulation and Citalopram" *Neuropharmacology*, **39**(8): 1463-73
- ISAAC R., LI C., LEEDALE A., SHIRRAS A. (2010) "*Drosophila* Male Sex Peptide Inhibits Siesta Sleep And Promotes Locomotor Activity in the Post-Mated Female" *Proc. Biol. Sci.*, **277**(1678): 65-70
- ITO K. AND HOTTA Y. (1992) "Proliferation Pattern of Postembryonic Neuroblasts in the Brain of *Drosophila Melanogaster*" *Dev. Biol.*, **149**(1): 134-48
- JOHNSON O., BECNEL J. AND NICHOLS C. (2009) "Serotonin 5HT2 and 5HT1A-like Receptors Differentially Modulate Aggressive Behaviors in *Drosophila melanogaster*" *Neuroscience*, **158**(4): 1292-1300
- JOHNSON O., BECNEL J. AND NICHOLS C. (2011) "Serotonin Receptor Activity is Necessary for Olfactory Learning and Memory in *Drosophila melanogaster*" *Neuroscience*, **192**: 372-81
- JOHNSON E., KAZGAN N., BRETZ C., FORSBERG L., HECTOR C., WORTHEN R., OYENWOKE R. AND BRENNAN J. (2010) "Altered Metabolism and Persistent Starvation Behaviors Caused by Reduced AMPK Function in *Drosophila*" *PLoS One*, **5**(9): e12799
- JOINER M. AND GRIFFITH L. (2000) "Visual Input Regulates Circuit Configuration in Courtship Conditioning of *Drosophila melanogaster*" *Learning & Memory*, **7**(1): 32-42

- KAMYSHEV N., ILIADI K. AND BRAGINA J. (1999) "Drosophila Conditioned Courtship: Two Ways of Testing Memory" *Learning & Memory*, **6**: 1-20
- KANDEL E., DUDAI Y. AND MAYFORD M. (2014) "The Molecular and Systems Biology of Memory" *Cell*, **157**(1): 163-86
- KATZ R. (1982) "Animal Model of Depression: Pharmacological Sensitivity of a Hedonic Deficit" *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **16**(6): 965-68
- KATZ R. AND HERSH S. (1981) "Amitriptyline and Scopolamine in an Animal Model of Depression" *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **5**(2): 265-71
- KAUN K., AZANCHI R., MAUNG Z., HIRSH J. AND HEBERLEIN U. (2011) "A Drosophila Model for Alcohol Reward" *Nature Neurosci.*, **14**(5): 612-19
- KIM W., JAN L. AND JAN Y. (2013) "A PDF/NPF Neuropeptide Signaling Circuitry of Male Drosophila melanogaster Controls Rival-Induced Prolonged Mating" *Neuron*, **80**(5): 1190-205
- KISER D., STEEMERS B., BRANCHI I. AND HOMBERG J. (2012) "The Reciprocal Interaction between Serotonin and Social Behavior" *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **36**(2): 786-98
- KOHNO D. AND YADA T. (2012) "Arcuate NPY Neurons Sense and Integrate Peripheral Metabolic Signals to Control Feeding" *Neuropeptides*, **46**(6): 315-19
- KOKRAS N., DALLA C., SIDERIS A., DENDI A., MIKAIL H., ANTONIOU K. AND PAPADOPOULOU-DAIFOTI Z. (2012) "Behavioral Sexual Dimorphism in Models of Anxiety and Depression Due to Changes In HPA Axis Activity" *Neuropharmacology*, **62**(1): 436-45
- KRASHES M., DASGUTPTA S., VREEDE A., WHITE B., ARMSTRONG J. AND WADDELL S. (2009) "A Neural Circuit Mechanism Integrating Motivational State with Memory Expression in Drosophila" *Cell*, **139**(2): 416-27
- KRASHES M., KEENE A., LEUNG B., ARMSTRONG J. AND WADDELL S. (2007) "Sequential Use of Mushroom Body Neuron Subsets during Drosophila Odor Memory Processing" *Neuron*, **53**(1): 103-15
- KRAUSE T. (2015) "Physiologie eines erlernten Körpermodells bei Drosophila melanogaster" *Dissertation*, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz
- KRAL K. AND POTESER M. (1997) "Motion Parallax as a Source of Distance Information in Locusts And Mantids" *Insect Behav.*, **10**(1): 145-6
- KRIEGEBAUM C., GUTKNECHT L., SCHMITT A., LESCH K. AND REIF A. (2010) "Serotonin Kompakt – Teil 1 Neurobiologische und Entwicklungsgenetische Grundlagen" *Fortschr. Neurol. Psychiatr.*, **78**(6): 319-31

- LAMBERT G. (2005) "Preclinical Neuropharmacology of Naratriptan" *CNS Drug Reviews*, **11**(3): 289-316
- LARSSON M., DOMINGOS A., JONES W., CHIAPPE M., AMREIN H. AND VOSSHALL L. (2004) "Or83b Encodes a Broadly Expressed Odorant Receptor Essential for *Drosophila* Olfaction" *Neuron*, **43**(5):703-14
- LEE D. (2015) "Global and Local Missions of cAMP Signaling in Neural Plasticity, Learning, and Memory" *Front. Pharmacol.*, **6**(161): 1-7
- LEE T., LEE A. AND LOU L. (1999) "Development of the *Drosophila* Mushroom Bodies: Sequential Generation of Three Distinct Types of Neurons Form a Neuroblast" *Development*, **126**(18): 4065-76
- LEE P., LIN H., CHANG Y., FU T., DUBNAU J., HIRSH J., LEE T. AND CHIANG A. (2011) "Serotonin-Mushroom Body Circuit Modulating the Formation of Anesthesia-Resistant Memory in *Drosophila*" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**(33): 13794-99
- LEE T. AND LUO L. (1999) "Mosaic Analysis with a Repressible Neurotechnique Cell Marker for Studies of Gene Function in Neuronal Morphogenesis" *Neuron*, **22**(3): 451-61
- LEI Z., CHEN K., LI H., LIU H. AND GUO A. (2013) "The GABA System Regulates the Sparse Coding of Odors in the Mushroom Bodies of *Drosophila*" *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **436**(1): 35-40
- LENOX R. AND HAHN C. (2000) "Overview of the Mechanism of Action of Lithium in the Brain: Fifty-Year Update" *J. Clin. Psychiatry*, **61**(Suppl.9): 5-15
- LEVIN L., HAN P., HWANG P., FEINSTEIN P., DAVIS R. AND REED R. (1992) "The *Drosophila* Learning And Memory Gene *rutabaga* Encodes a Ca²⁺/Calmodulin-Responsive Adenylyl Cyclase" *Cell*, **68**(3): 479-89
- LEWIS L., SIJU K., ASO Y., FRIEDRICH A., BULTEEL A., RUBIN G. AND GRUNWALD I. (2015) "A Higher Brain Circuit for Immediate Integration of Conflicting Sensory Information in *Drosophila*" *Curr. Biol.*, **25**(17): 2203-14
- LI H., CHANEY S., ROBERTS I., FORTE M. AND HIRSH J. (2000) "Ectopic G-Protein Expression in Dopamine and Serotonin Neurons Blocks Cocaine Sensitization in *Drosophila melanogaster*" *Curr. Biol.*, **10**(4): 211-14
- LIM R., EYJÓLFSDÓTTIR E., SHIN E., PERONA P., AND ANDERSON D. (2014) "How Food Controls Aggression in *Drosophila*" *PLoS One*, **9**(8): e105626
- LIMMER S., WEILER A., VOLKENHOFF A., BABATZ F. AND KLÄMBT C. (2014) "The *Drosophila* Blood-Brain Barrier: Development and Function of a Glia Endothelium" *Front. Neurosci.*, **8**(365): 1-19

- LINDE K., KRISTON L., RÜCKER G., JAMIL S., SCHUMANN I., MEISSNER K., SIGTERMAN K. AND SCHNEIDER A. (2015) "Efficacy and Acceptability of Pharmacological Treatment for Depressive Disorders in Primary Care: Systematic Review and Network Meta-Analysis" *Ann. Fam. Med.*, **13**(1): 69-79
- LINDSLEY D. AND GRELL E. (1968) "Genetic Variations of *Drosophila melanogaster*" *Publ. Carnegie Instn.*, **627**: 469-72
- LINGO P., ZHAO Z. AND SHEN P. (2007) "Co-Regulation of Cooled Resistant Food Acquisition by Insulin- and Neuropeptid Y-like Systems in *Drosophila*" *Neuroscience*, **148**(2): 371-74
- LIU C., PLAÇAIS P., YAMAGATA N., PFEIFFER B., ASO Y., FRIEDRICH A., SIWANOWICZ I., RUBIN G., PREAT T AND TANIMOTO H. (2012) "A Subset of Dopaminergic Neurons Signals Reward for Odour Memory in *Drosophila*" *Nature*, **488**(7412): 512-16
- LIU L., WOLF R., ERNST R. AND HEISENBERG M. (1999) "Context Generalization in *Drosophila* Visual Learning Requires the Mushroom Bodies" *Nature*, **400**(6746): 753-56
- LIVINGSTONE M. AND TEMPEL B. (1983) "Genetic Dissection of Monoamine Neurotransmitter Synthesis in *Drosophila*" *Nature*, **303**(5912): 67-70
- LOPEZ A AND MATHERS C. (2006) "Measuring the Global Burden of Disease and Epidemiological Transitions: 2002-2030" *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, **100**(5-6): 481-99
- LUCKI I., SINGH A. AND KREISS D. (1994) "Antidepressant-Like Behavioral Effects of Serotonin Effector Agonists" *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **18**(1): 85-95
- MADABATULLA S., STRAUTMAN J., BYSICE A., O'SULLIVAN J., ANDROSCHUK A., ROSENFELT C., DOUCET K., ROULEAU G. AND BOLDUCE F. (2015) "Quantitative Analysis of Climbing Defects in a *Drosophila* Model of Neurodegenerative Disorders" *J. Vis. Exp.*, **13**(100): e52741
- MAIER S. AND WATKINS L. (2005) "Stressor Controllability and Learned Helplessness: the Roles Of the Dorsal Raphe Nucleus, Serotonin, and Corticotropin-Releasing Factor" *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **29**(4-5): 829-41
- MANDELLI L., SERRETTI A., MARINO E., PIROVANO A., CALATI R. AND COLOMBO C. (2007) "Interaction Between Serotonin Transporter Gene, Catechol-O-Methyltransferase Gene And Stressful Life Events in Mood Disorders" *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, **10**(4): 437-47
- MANOHAR S., CHONG T., APPS M., BATLA A., STAMELOU M., JARMAN P., BHATIA K. AND HUSAIN M. (2015) "Reward Pays the Cost of Noise Reduction in Motor and Cognitive Control" *Curr. Biol.*, **25**(13): 1707-16
- MARMOL F. (2008) "Lithium: Bipolar Disorder and Neurodegenerative Diseases. Possible Cellular Mechanisms of the Therapeutic Effects of Lithium" *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **32**(8): 1761-71

- MARTIN J. (2003) "Locomotor Activity: a Complex Behavioural Trait to Unravel" *Behav. Processes*, **64**(2): 145-60
- MARTIN J., ERNST R. AND HEISENBERG M. (1998) "Mushroom Bodies Suppress Locomotor Activity in *Drosophila melanogaster*" *Learning & Memory*, **5**(1): 179-91
- MARTÍN-PEÑA A., ACEBES A., RODRIGUES J., CHEVALIER V., CASAS-TINTO S., TRIPHAN T., STRAUSS R. AND FERRUS A. (2014) "Cell Types and Coincident Synapses in the Ellipsoid Body of *Drosophila*" *Europ. J. Neurosci.*, **39**(10): 1586-1601
- MASSE N., TURNER G. AND JEFFERIS G. (2009) "Olfactory Information Processing in *Drosophila*" *Curr. Biol.*, **19**(16): R700-13
- MASSOT O., ROUSSELLE J., FILLION M., JANUEL D., PLANTEFOL M. AND FILLION G. (1999) "5-HT1B Receptors: A Novel Target for Lithium. Possible Involvement in Mood Disorders" *Neuropsychopharmacology*, **21**(4): 530-41
- MCARTHUR R. AND BORSINI F. (2006) "Animal Models of Depression in Drug Discovery: a Historical Perspective" *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **84**(3): 436-52
- MCBRIDE S., GIULIANI G., CHOI C., KRAUSE P., CORREALE D., WATSON K., BAKER G. AND SIWICKI K. (1999) "Mushroom Body Ablation Impairs Short-Term Memory and Long-Term Memory of Courtship Conditioning in *Drosophila melanogaster*" *Neuron*, **24**(4): 967-77
- MCGUIRE S., LE P., OSBORN A., MATSUMOTO K. AND DAVIS R. (2003) "Spatiotemporal Rescue of Memory Dysfunction in *Drosophila*" *Science*, **302**(5651): 1765-68
- MEHREN J., EJIMA A. AND GRIFFITH L. (2004) "Unconventional Sex: Fresh Approaches to Courtship Learning" *Curr. Opin. Neurobiol.*, **14**(6): 745-50
- MEISTER G. AND TUSCHL T. (2004) "Mechanisms of Gene Silencing by Double-Stranded RNA" *Nature*, **431**(7006): 343-49
- MENESES A. (2007) "Do Serotonin (1-7) Receptors Modulate Short- and Long-Term Memory?" *Neurobiol. Learn. Mem.*, **87**(4): 561-72
- MILNER B., SQUIRE L. AND KANDEL E. (1998) "Cognitive Neuroscience and the Study of Memory" *Neuron*, **20**(3): 445-68
- MOHAMMAD-ZADEH L., MOSES L. AND GWALTNEY-BRANT S. (2008) "Serotonin: A Review" *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, **31**(3): 187-99
- MOHR S., SMITH J., SHAMU C., NEUMÜLLER R. AND PERRIMON N. (2014) "RNAi Screening Comes of Age: Improved Techniques and Complementary Approaches" *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, **15**(9): 591-600
- MONASTIRIOTI M. (1999) "Biogenic Amine Systems in the Fruit Fly *Drosophila melanogaster*" *Microsc. Res. Tech.*, **45**(2): 106-21

- MOREIRA F. AND DALLEY J. (2015) "Dopamine Receptor Partial Agonists and Addiction" *Eur. J. Pharmacol.*, **752**: 112-15
- MORGAN T. (1910) "Sex Limited Inheritance in *Drosophila*" *Science*, **32**(812): 120-122
- MRONZ M. AND STRAUSS R. (2002) "Proper Retreat from Attractive but Inaccessible Landmarks Requires the Mushroom Bodies" *9th European Symposium on Drosophila Neurobiology*, Neurofly; Dijon (Abstract)
- MU L., ITO K., BACON J. AND STRAUSFELD N. (2012) "Optic Glomeruli and their Inputs in *Drosophila* Share an Organizational Ground Pattern with the Antennal Lobes" *J. Neurosci.*, **32**(18): 6061-71
- NALL A. AND SEHGAL A. (2012) "Monoamines and Sleep in *Drosophila*" *Behav. Neurosci.*, **128**(3): 264-72
- NÄSSEL D. AND WEGENER C. (2011) "A Comparative Review of Short and Long Neuropeptide F Signaling in Invertebrates: Any Similarities to Vertebrate Neuropeptide Y Signaling?" *Peptides*, **32**(6): 1335-55
- NEMEROFF C. AND OWENS M. (2002) "Treatment of Mood Disorders" *Nat. Neurosci.*, **5**(Suppl.): 1068-70
- NESTLER E. AND HYMAN S. (2010) "Animal Models of Neuropsychiatric Disorders" *Nature Neurosci.*, **13**(10): 1161-69
- NEUSER K., TRIPHAN T., MRONZ M., POECK B. AND STRAUSS R. (2008) "Analysis of a Spatial Orientation Memory in *Drosophila*" *Nature*, **453**(7199): 1244-47
- NG M., ROORDA R., LIMA S., ZEMELMAN B., MORCILLO P. AND MIESENBOCK G. (2002) "Transmission of Olfactory Information between Three Populations of Neurons in the Antennal Lobe of The Fly" *Neuron*, **36**(3): 463-74
- NI J., LIU L., BINARI R., HARDY R., SHIM H., CAVALLARO A., BOOKER M., PFEIFFER B., MARKSTEIN M., WANG H., VILLALTA C., LAVERTY T., PERKINS L. AND PERRIMON N. (2009) "A *Drosophila* Resource of Transgenic RNAi Lines for Neurogenetics" *Genetics*, **182**(4): 1089-100
- NIEHAUS J., CRUZ-BERMÚDEZ N. AND KAUER J. (2009) "Plasticity of Addiction: A Mesolimbic Dopamine Short-Circuit?" *Am. J. Addict.*, **18**(4): 259-71
- NITABACH M., WU Y., SHEEBA V., LEMON W., STRUMBOS J., ZELENSKY P., WHITE B. AND HOLMES T. (2006) "Electrical Hyperexcitation of Lateral Ventral Pacemaker Neurons Desynchronizes Downstream Circadian Oscillators in the Fly Circadian Circuit and Induces Multiple Behavioral circuits" *J. Neurosci.*, **26**(2): 479-89

- NUGENT A., CARLSON P., BAIN E., ECKELMAN W., HERSCOVITCH P., MANJI H., ZARATE C. AND DREVETS W. (2013) "Mood Stabilizer Treatment Increases Serotonin Type 1A Receptor Binding in Bipolar Depression" *J. Psychopharmacol.*, **27**(10): 894-902
- O'DELL K. AND KAISER K. (1997) "Sexual Behaviour: Secrets and Flies" *Curr. Biol.*, **7**(6): R345-47
- OFSTAD T., ZUKER C. AND REISER M. (2011) "Visual Place Learning in *Drosophila melanogaster*" *Nature*, **474**(7350): 204-07
- OKANO H., HIRANO T. AND BALABAN E. (2000) "Learning and Memory" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**(23): 12403-04
- OKUSAWA S., KOHSAKA H. AND NOSE A. (2014) "Serotonin and Downstream Leucokinin Neurons Modulate Larval Turning Behavior in *Drosophila*" *J. Neurosci.*, **34**(7): 2544-58
- OLDEHINKEL A., AND BOUMA E. (2011) "Sensitivity to the Depressogenic Effect of Stress and HPA-Axis Reactivity in Adolescence: A Review of Gender Differences" *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **35**(8): 1757-70
- OLDS J. AND MILNER P. (1954) "Positive Reinforcement Produced by Electrical Stimulation of Septal Area and Other Regions of Rat Brain" *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **47**(6): 419-27
- OLIVIER G. (2015) "Serotonin: A Never-Ending Story" *Eur. J. Pharmacol.*, **753**: 2-18
- OTSUNA H. AND ITO K. (2006) "Systematic Analysis of the Visual Projection Neurons of *Drosophila melanogaster*. I. Lobula-specific Pathways" *J. Comp. Neurol.*, **497**(6): 928-58
- OVERMIER J. (1968) "Interference with Avoidance Behavior: Failure to Avoid Traumatic Shock" *J. Exp. Psychol.*, **78**(2): 340-43
- OVERMIER J. AND SELIGMAN M. (1967) "Effects of Inescapable Shock upon Subsequent Escape And Avoidance Responding" *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **63**(1): 28-33
- PANDIT R., LA FLEUR S. AND ADAN R. (2013) "The Role of Melanocortins and Neuropeptide Y in Food Reward" *Eur. J. Pharmacol.*, **719**(1-3): 208-14
- PAPEZ M. (1937) "A Proposed Mechanism of Emotion" *Arch. Neurol. Psychiatry*, **38**(4): 725-43
- PAYKEL E., BRUGHA T. AND FRYERS T. (2005) "Size and Burden of Depressive Disorders in Europe" *Eur. Neuropsychopharmacol.*, **15**(4): 411-23
- PECH U., POORYASIN A., BIRMAN S. AND FIALA A. (2013) "Localization of the Contacts Between Kenyon Cells and Aminergic Neurons in the *Drosophila melanogaster* Brain Using SplitGFP Reconstitution" *J. Comp. Neurol.*, **521**(17): 3992-4026

- PECIÑA S. AND BERRIDGE K. (2005) "Hedonic Hot Spot in Nucleus Accumbens Shell: Where Do μ -Opioids Cause Increased Hedonic Impact of Sweetness?" *J. Neurosci.*, **25**(50): 11777-86
- PECIÑA S., CAGNIARD B., BERRIDGE K., ALDRIDGE J. AND ZHUANG X. (2003) "Hyperdopaminergic Mutant Mice Have Higher "Wanting" but Not "Liking" for Sweet Rewards" *J. Neurosci.*, **23**(28): 9395-402
- PERISSE E., YIN Y., LIN A., LIN S., HUETTEROTH W. AND WADDELL S. (2013) "Different Kenyon Cell Populations Drive Learned Approach and Avoidance in *Drosophila*" *Neuron*, **79**(5): 945-56
- PETTY F., KRAMER G. AND WILSON L. (1992) "Prevention of Learned Helplessness: In Vivo Correlation with Cortical Serotonin" *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **43**
- PFEIFFER B., JENETT A., HAMMONDS A., NGO T., MISRA S., MURPHY C., SCULLY A., CARLSON J., WAN K., LAVERTY T., MUNGALL C., SVIRSKAS R., KADONAGA J., DOE C., EISEN M., CELNIKER S. AND RUBIN G. (2008) "Tools for Neuroanatomy and Neurogenetics in *Drosophila*" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**(28): 9715-20
- PICK S. AND STRAUSS R. (2005) "Goal-Driven Behavioral Adaptations in Gap-Climbing *Drosophila*" *Curr. Biol.*, **15**(16): 1473-78
- PIERZ K. AND THASE M. (2014) "A Review of Vilazodone, Serotonin, and Major Depressive Disorder" *Prim. Care. Companion. CNS Disord.*, **16**(1): e1-e8
- PITMAN J., DASGUPTA S., KRASHES M., LEUNG B., PERRAT P. AND WADDELL S. (2009) "There are Many Ways to Train a Fly" *Fly(Austin)*, **3**(1): 3-9
- POECK B., TRIPHAN T., NEUSER K. AND STRAUSS R. (2008) "Locomotor Control by the Central Complex in *Drosophila* – An Analysis of the *tay bridge* Mutant" *Developmental Neurobiology*, **68**(8): 1046-58
- POORYASIN A. AND FIALA A. (2015) "Identified Serotonin-Releasing Neurons Induce Behavioral Quiescence and Suppress Mating in *Drosophila*" *J. Neurosci.*, **35**(37): 12792-812
- PROKOP A. AND TECHNAU G. (1994) "Normal Function of the *mushroom body defect* Gene of *Drosophila* is Required for the Regulation of the Number and Proliferation of Neuroblasts" *Dev. Biol.*, **161**(2): 321-37
- QUINN W., HARRIS W. AND BENZER S. (1974) "Conditioned Behavior in *Drosophila melanogaster*" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **71**(3): 708-12
- QUIROZ J., GOULD T. AND MANJI H. (2004) "Molecular Effects of Lithium" *Mol. Interv.*, **4**(5): 259-72

- RAJMOHAN V. AND MOHANDAS E. (2007) "The Limbic System" *Indian J. Psychiatry*, **49**(2): 132-39
- RAPPORT M., GREEN A. AND PAGE I. (1948) "Crystalline Serotonin" *Science*, **108**(2804): 329-30
- REDROBE J., DUMONT Y., FOURNIER A. AND QUIRION R. (2002) "The Neuropeptide Y (NPY) Y1 Receptor Subtype Mediates NPY-Induced Antidepressant-Like Activity in the Mouse Forced Swimming Test" *Neuropsychopharmacology*, **26**(5): 615-24
- REDROBE J., DUMONT Y., HERZOG H. AND QUIRION R. (2004) "Characterization of Neuropeptide Y, Y(2) Receptor Knockout Mice in Two Animal Models of Learning and Memory Processing" *J. Mol. Neurosci.*, **22**(3): 159-66
- REIF M., LINSENMAIR K. AND HEISENBERG M. (2002) "Evolutionary Significance of Courtship Conditioning in *Drosophila melanogaster*" *Animal Behav.*, **63**(1): 143-55
- RENN S., ARMSTRONG J., YANG M., WANG Z., AN X., KAISER K. AND TAGHERT P. (1999) "Genetic Analysis of the *Drosophila* Ellipsoid Body Neuropil: Organization and Development of The Central Complex" *J. Neurobiol.*, **41**(2): 189-207
- RIES A. (2011) "Einflussparameter auf Kletterentscheidungen der Taufliege *Drosophila melanogaster*" Unveröffentlichte Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz
- RIEMENSBERGER T., ISABEL G., COULOM H., NEUSER K., SEUGNET L., KUME K., ICHÉ-TORRES M., CASSAR M., STRAUSS R., PREAT T., HIRSH J. AND BIRMAN S. (2011) "Behavioral Consequences of Dopamine Deficiency in the *Drosophila* Central Nervous System" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**(2): 834-39
- RISCH N., HERRELL R., LEHNER T., LIANG K., EAVES L., HOH J., GRIEM A., KOVACS M., OTT J. AND MERIKANGAS K. (2009) "Interaction Between the Serotonin Transporter Gene (*5-HTTLPR*), Stressful Life Events, and Risk for Depression: A Meta-Analysis" *JAMA.*, **301**(23): 2462-71
- RITZE Y. (2007) "Die Rolle des Neurotransmitters Serotonin bei der Entwicklung von Ethanol sensitivität und Toleranz in *Drosophila melanogaster*" *Dissertation*, Julius-Maximilians-Universität, Würzburg
- ROGERS B. AND GRAHAM M. (1982) "Similarities between Motion Parallax and Stereopsis in Human Depth Perception" *Vision Res.*, **22**(2): 261-70
- ROMEIS B. (1968) "Mikroskopische Technik" 16. Auflage, *Oldenbourg Verlag*, München
- ROSENZWEIG M., BRENNAN K., TAYLER T., PHELPS P., PATAPOUTIAN A. AND GARRITY P. (2005) "The *Drosophila* Ortholog of Vertebrate TRPA1 Regulates Thermotaxis" *Genes Dev.*, **19**(4): 419-24
- RYAN R. AND DECI E. (2000) "Intrinsic and Extrinsic Motivations: Classic Definitions and New Directions" *Contemp. Educ. Psychol.*, **25**(1): 54-67

- RYBAKOWSKI J. (2014) "Response to Lithium in Bipolar Disorder: Clinical and Genetic Findings" *ACS Chem. Neurosci.*, **5**(6): 413-21
- SADAF S., BIRMAN S. AND HASAN G. (2012) "Synaptic Activity in Serotonergic Neurons Is Required for Air-Puff Stimulated Flight in *Drosophila melanogaster*" *PLOS One*, **7**(9): 1-9
- SAKAI T. AND KITAMOTO T. (2006) "Differential Roles of Two Major Brain Structures, Mushroom Bodies and Central Complex, for *Drosophila* Male Courtship Behavior" *J. Neurobiol.*, **66**(8): 821-34
- SAUDOU F., BOSCHERT U., AMLAIKY N., PLASSAT J. AND HEN R. (1992) "A Family of *Drosophila* Serotonin Receptors with Distinct Intracellular Signalling Properties and Expression Patterns" *EMBO J.*, **11**(1): 7-17
- SAVITZ J., LUCKI I. AND DREVETS W. (2009) "5-HT(1A) Receptor Function in Major Depressive Disorder" *Prog. Neurobiol.*, **88**(1): 17-31
- SCHOPENHAUER A. (2014) "Über die Vierfache Wurzel des Satzes vom Zureichenden Grunde – eine Philosophische Abhandlung" 3.Auflage, *Holzinger Verlag*, Berlin
- SCHIRMEIER S. AND KLÄMBT C. (2015) "The *Drosophila* Blood-Brain Barrier as Interface Between Neurons and Hemolymph" *Mech. Dev.*: **S0925-4773**(15)00046 [Epub ahead of Print]
- SCHULTZ W. (2006) "Behavioral Theories and the Neurophysiology of Reward" *Annu. Rev. Psychol.*, **57**: 87-115
- SCHWAERZEL M., MONASTIRIOTI M., SCHOLZ H., FRIGGI-GRELIN F., BIRMAN S. AND HEISENBERG M. (2003) "Dopamine and Octopamine Differentiate Between Aversive and Appetitive Olfactory Memories in *Drosophila*" *J. Neurosci.*, **23**(33): 10495-502
- SEMMEHACK J. AND WANG J. (2009) "Select *Drosophila* Glomeruli Mediate Innate Olfactory Attraction and Aversion" *Nature*, **459**(7244): 218-23
- SERWAY C., KAUFMAN R., STRAUSS R. AND DE BELLE J. (2009) "Mushroom Bodies Enhance Initial Motor Activity in *Drosophila*" *J. Neurogenet.*, **23**(1-2): 173-84
- SHIMIZU S. AND OHNO Y. (2013) "Improving the Treatment of Parkinson's Disease: A Novel Approach by Modulating 5-HT1A Receptors" *Aging Dis.*, **4**(1): 1-13
- SHOHAT-OPHIR G., KAUN K., AZANCHI R. AND HEBERLEIN U. (2012) "Sexual Deprivation Increases Ethanol Intake in *Drosophila*" *Science* **335**(6074): 1351-55
- SIEGEL R. AND HALL J. (1979) "Conditioned Responses in Courtship Behavior of Normal and Mutant *Drosophila*" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**(7): 3430-34

- SIMPSON S. AND JAMISON K. (1999) "The Risk of Suicide in Patients with Bipolar Disorders" *J. Clin. Psychiatry*, **60**(Suppl 2): 57-62
- SITARAMAN D., LAFERRIERE H., BIRMAN S. AND ZARS T. (2012) "Serotonin is Critical for rewarded Olfactory Short-Term Memory in *Drosophila*" *J. Neurogenet.*, **26**(2): 238-44
- SITARAMAN D., ZARS M. AND ZARS T. (2010) "Place Memory Formation in *Drosophila* is Independent of Proper Octopamine Signaling" *J. Comp. Physiol. A.*, **196**(4): 299-305
- STEPHENSON R. AND METCALFE N. (2013) "*Drosophila melanogaster*: A Fly through its History And Current Use" *J. R. Coll. Physicians. Edinb.*, **43**(1): 70-75
- STOLERU D., PENG Y., AGOSTO J. AND ROSBASH M. (2004) "Coupled Oscillators control Morning And Evening Locomotor Behaviour of *Drosophila*" *Nature*, **431**(7010): 862-68
- STRAUSFELD N. AND HIRTH F. (2013) "Deep Homology of Arthropod Central Complex and Vertebrate Basal Ganglia" *Science*, **340**(6129): 157-61
- STRAUSS R., HANESCH U., KINKELIN M., WOLF R. AND HEISENBERG M. (1992) "*No-Bridge* of *Drosophila melanogaster*: Portrait of a Structural Brain Mutant of the Central Complex" *J. Neurogenetics*, **8**: 125-55
- STRAUSS R. AND HEISENBERG M. (1993) "A Higher Control Center of Locomotor Behavior in the *Drosophila* Brain" *J. Neurosci.*, **13**(5): 1852-61
- STRAUSS R. AND PICHLER J. (1998) "Persistence of Orientation toward a Temporarily Invisible Landmark in *Drosophila melanogaster*" *J. Comp. Physiol. A*, **182**: 411-23
- STRUTZ A., SOELTER J., BASCHWITZ A., FARHAN A., GRABE V., RYBAK J., KNADE M., SCHMUKER M., HANSSON B. AND SACHSE S. (2014) "Decoding Odor Quality and Intensity in the *Drosophila* Brain" *eLife*, **3**: e04147
- SU C., MENUZ K. AND CARLSON J. (2009) "Olfactory Perception: Receptors, Cells, and Circuits" *Cell*, **139**(1): 45-59
- SWEENEY S., BROADIE K., KEANE J., NIEMANN H. AND O'KANE C. (1995) "Targeted Expression of Tetanus Toxin Light Chain in *Drosophila* specifically Eliminates Synaptic Transmission and Causes Behavioral Defects" *Neuron*, **14**(2): 341-51
- TANAKA N., TANIMOTO H. AND ITO K. (2008) "Neuronal Assemblies of the *Drosophila* Mushroom Body" *J. Comp. Neurol.*, **508**(5): 711-55
- TANG S. AND GUO A. (2001) "Choice Behavior of *Drosophila* Facing Contradictory Visual Cues" *Science*, **294**(5546): 1543-47
- TATEMOTO K., CARLQUIST M. AND MUTT V. (1982) "Neuropeptide Y – A Novel Brain Peptide with Structural Similarities to Peptide YY and Pancreatic Polypeptide" *Nature*, **296**(5858): 659-60

- TEPPER S., RAPOPORT A. AND SHEFTELL F. (2002) "Mechanism of Action of the 5-HT_{1B/1D} Receptor Agonists" *Arch. Neurol.*, **59**(7): 1084-88
- TEBBE J. AND ARNOLD R. (2004) "Serotonin und Serotoninrezeptoren" *Dtsch. Ärzteblatt*, **101**(14): 936-42
- TIERNEY A. (2001) "Structure and Function of Invertebrate 5-HT Receptors: A Review" *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, **128**(4): 791-804
- TRANNOY S., REDT-CLOUET C., DURA J. AND PREAT T. (2011) "Parallel Processing of Appetitive Short- and Long-Term Memories in *Drosophila*" *Curr. Biol.*, **21**(19): 1647-53
- TREISER S., CASCIO C., O'DONOHUE T., THOA N., JACOBOWITZ D. AND KELLAR K. (2015) "Lithium Increases Serotonin Release and Decreases Serotonin Receptors in the Hippocampus" *Science*, **213**(4515): 1529-31
- TSIEN R. (1998) "The Green Fluorescent Protein" *Annu. Rev. Biochem.*, **67**: 509-44
- TULLY T., PREAT T., BOYNTON S. AND DEL VECCHIO M. (1994) "Genetic Dissection of Consolidated Memory in *Drosophila*" *Cell*, **79**(1): 35-47
- TULLY T. AND QUINN W. (1985) "Classical Conditioning and Retention in Normal and Mutant *Drosophila melanogaster*" *J. Comp. Physiol. A*, **157**(2): 263-77
- TURNER E., LOFTIS J. AND BLACKWELL A. (2006) "Serotonin a la Carte: Supplementation with the Serotonin Precursor 5-Hydroxytryptophan" *Pharmacol. Ther.*, **109**(3): 325-38
- TURNER G., BAZHENOV M. AND LAURENT G. (2008) "Olfactory Representations by *Drosophila* Mushroom Body Neurons" *J. Neurophysiol.*, **99**(2): 734-46
- VALLÉS A. AND WHITE K. (1988) "Serotonin-Containing Neurons in *Drosophila melanogaster*: Development and Distribution" *J. Comp. Neurol.*, **268**(3): 414-28
- VAN SWINDEREN B. AND GREENSPAN R. (2003) "Salience Modulates 20-30 Hz Brain Activity in *Drosophila*" *Nature Neurosci.*, **6**(6): 579-86
- VAYSSE G., GALISSIÉ M. AND CORBIÈRE M. (1988) "Induced Variation of Serotonin in *Drosophila Melanogaster* and its relation to learning performance" *J. Comp. Psychol.*, **102**(3): 225-29
- VOGT K., SCHNAITMANN C., DYLLA K., KNAPEK S., ASO Y., RUBIN G. AND TANIMOTO H. (2014) "Shared Mushroom Body Circuits Underlie Visual and Olfactory Memories in *Drosophila*" *eLife*, **3**: e02395
- VON SCHLICHER F. (1976) "The Function of Pulse Song and Sine Song in the Courtship of *Drosophila melanogaster*" *Animal Behav.*, **24**(3): 622-25
- VOSSHALL L. (2007) "Into the Mind of a Fly" *Nature*, **450**(7167): 193-97

- VOSSHALL L. AND STOCKER R. (2007) "Molecular Architecture of Smell and Taste in *Drosophila*" *Annu. Rev. Neurosci.*, **30**: 505-33
- VOSSHALL L., WONG A. AND AXEL R. (2000) "An Olfactory Sensory Map in the Fly Brain" *Cell*, **102**(2): 147-59
- WADDELL S. AND QUINN W. (2001) "Flies, Genes, and Learning" *Annu. Rev. Neurosci.*, **24**: 1283-309
- WADDELL S. AND QUINN W. (2001) "Learning How a Fruit Fly Forgets" *Science*, **293**(5533): 1271-72
- WANGLER M., YAMAMOTO S. AND BELLEN H. (2005) "Fruit Flies in Biomedical Research" *Genetics*, **199**(3): 639-53
- WEN T., PARRISH C., XU D., WU Q. AND SHEN P. (2005) "*Drosophila* Neuropeptide F and its Receptor, NPFR1, Define a Signaling Pathway that Acutely Modulates Alcohol Sensitivity" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**(6): 2141-46
- WHITE R. (1959) "Motivation Reconsidered: The Concept of Competence" *Psychol. Rev.*, **66**: 297-333
- WHITE K., TAHAOGLU E. AND STELLER H. (1996) "Cell Killing by the *Drosophila* Gene reaper" *Science*, **271**(5250): 805-07
- WILLIAMS M., GOERGEN P., PHAD G., FREDRIKSSON G. AND SCHIÖTH H. (2014) "The *Drosophila* Kctd-Family Homologue Ktcd12-like Modulates Male Aggression and Mating Behaviour" *Eur. J. Neurosci.*, **40**(3): 2513-26
- WILLNER P. (2005) "Chronic Mild Stress (CMS) Revisited: Consistency and Behavioural-Neurobiological Concordance in the Effects of CMS" *Neuropsychobiology*, **52**(2): 90-110
- WILLNER P., TOWELL A., SAMPSON D., SOPHOKLEOUS S. AND MUSCAT R. (1987) "Reduction of Sucrose Preference by Chronic Unpredictable Mild Stress, and Its Restoration by a Tricyclic Antidepressant" *Psychopharmacology (Berl.)*, **93**(3): 358-64
- WINBUSH A., REED D., CHANG P., NUZHDIRS., LYONS L. AND ARBEITMAN M. (2012) "Identification of Gene Expression Changes Associated with Long-Term Memory of Courtship Rejection in *Drosophila* males" *G3 (Bethesda)*, **2**(11): 1437-45
- WITTCHEN H., JACOBI F., KLOSE M. AND RYL L. (2010) "Gesundheitsberichterstattung des Bundes; Depressive Erkrankungen" *Robert Koch-Institut, Berlin; Heft 51*
- WITZ P., AMLAIKY N., PLASSAT J., MAROTEAUX L., BORRELLI E. AND HEN R. (1990) "Cloning and Characterization of a *Drosophila* Serotonin Receptor that Activates Adenylate Cyclase" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**(22): 8940-44

- WOLF R., WITTIG T., LIU L., WUSTMANN G., EYDING D. AND HEISENBERG M. (1998) "Drosophila Mushroom Bodies are Dispensable for Visual, Tactile, and Motor Learning" *Learn. Mem.*, **5**(1-2): 166-78
- WU Z. AND GUO A. (2011) "A Model Study on the Circuit Mechanism Underlying Decision-Making in *Drosophila*" *Neural Netw.*, **23**(4): 333-44
- WU Q., WEN T., LEE G., PARK J., CAI H. AND SHEN P. (2003) "Developmental Control of Foraging And Social Behavior by the *Drosophila* Neuropeptide Y-like System" *Neuron*, **39**(1): 147-61
- WU Q., ZHANG Y., XU J. AND SHEN P. (2005) "Regulation of hunger-driven Behaviors by Neural Ribosomal S6 Kinase in *Drosophila*" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**(37): 13289-94
- WUSTMANN G., REIN K., WOLF R. AND HEISENBERG M. (1996) "A New Paradigm for Operant Conditioning of *Drosophila melanogaster*" *J. Comp. Physiol. A.*, **179**(3): 429-36
- XIA S., LIU L., FENG C. AND GUO A. (1997) "Drug Disruption of Short-Term Memory in *Drosophila Melanogaster*" *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **58**(3): 727-35
- XU J., LI M. AND SHEN P. (2010) "A G-Protein Coupled Neuropeptide Y-Like Receptor Suppresses Behavioral and Sensory Response to Multiple Stressful Stimuli in *Drosophila*" *J. Neurosci.*, **30**(7): 2504-12
- XU S., WILF R., MENON T., PANIKKER P., SARTHI J. AND ELEFANT F. (2014) "Epigenetic Control of Learning and Memory in *Drosophila* by Tip60 HAT Action" *Genetics*, **198**(4): 1571-86
- YAMAMOTO D. AND KOGANEZAWA M. (2013) "Genes and Circuits of Courtship Behaviour in *Drosophila* males" *Nature Rev Neurosci.*, **14**(10): 681-92
- YAN H., CAO X., DAS M., ZHU X. AND GAO T. (2010) "Behavioral Animals Models of Depression" *Neurosci. Bull.*, **26**(4): 327-37
- YANG M., ARMSTRONG J., VILINSKY I., STRAUSFELD N. AND KAISER K. (1995) "Subdivision of the *Drosophila* Mushroom Bodies by Enhancer-Trap Expression Patterns" *Neuron*, **15**(1): 45-54
- YANG Z., BERTOLUCCI F., WOLF R. AND HEISENBERG M. (2013) "Flies Cope with Uncontrollable Stress by Learned Helplessness" *Curr. Biol.*, **23**(9): 799-803
- YANG Z., YU Y., ZHANG V., TIAN Y., QI W. AND WANG L. (2015) "Octopamine Mediates Starvation-Induced Hyperactivity in Adult *Drosophila*" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**(16): 5219-24
- YI W., ZHANG Y., TIAN Y., GUO J., LI Y AND GUO A. (2013) "A Subset of Cholinergic Mushroom Body Neurons Requires Go Signaling to Regulate Sleep in *Drosophila*" *SLEEP*, **36**(12): 1809-21

- YUAN Q., LIN F., ZHENG X. AND SEHGAL A. (2005) "Serotonin Modulates Circadian Entrainment in *Drosophila*" *Neuron*, **47**(1): 115-27
- YUAN Q., JOINER W. AND SEHGAL A. (2006) "A Sleep-Promoting Role for the *Drosophila* Serotonin Receptor 1A" *Curr. Biol.*, **16**(11): 1051-62
- YURGEL M., MASEK P., DIANGELO J. AND KEENE A. (2014) "Genetic Dissection of Sleep-Metabolism Interactions in the Fruit Fly" *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sens. Neural. Behav. Physiol.*, **Epub** ahead of print
- ZANG K., GUO J., PENG Y., XI W. AND GUO A. (2007) "Dopamine-Mushroom Body Circuit Regulates Saliency-Based Decision-Making in *Drosophila*" *Science*, **316**(5833): 1901-04
- ZARS T., FISCHER M., SCHULZ R., AND HEISENBERG M. (2000) "Localization of a Short-Term Memory in *Drosophila*" *Science*, **288**(5466): 672-75
- ZHOU Z., ZHU G., HARIRI A., ENOCH M., SCOTT D., SINHA R., VIRKKUNEN M., MASH D., LIPSKY R., HU X., HODGKINSON C., XU K., BUZAS B., YUAN Q., SHEN P., FERRELL R., MANUCK S., BROWN S., HAUGER R., STOHLER C., ZUBIETA J. AND GOLDMAN D. (2008) "Genetic Variation in Human NPY Expression Affects Stress Response and Emotion" *Nature*, **452**(7190): 997-1001

6.2 Abkürzungsverzeichnis

5HT	Serotonin
5HTP	5-Hydroxy-L-Tryptophan
5HTT	Serotonin-Transportergen
8-OH-DPAT	8-Hydroxy-2-(di- <i>n</i> -Propylamino)Tetralin
$\alpha/\beta/\gamma$	α -/ β -/ γ -Loben der Pilzkörper
α MTP	α -Methyl-L-Tryptophan
Abb.	Abbildung
AC	Adenylatcyclase
AMN	Genprodukt von <i>amnesiac</i>
bzw.	beziehungsweise
C	Celsius
ca.	circa
CA	Calyx
Ca ²⁺	Calcium
cAMP	cyclic adenosine-monophosphate
CAS	Chemical Abstracts Service
cDNA	complementary DNA
cm	Zentimeter
CMS	Chronic Mild Stress
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CREB	cAMP response-element binding protein
CS	Canton Spezial
ddH ₂ O	doppelt destilliertes Wasser
DAG	Diacylglycerine
DILP	<i>Drosophila</i> Insulin-like Peptide
d.h.	das heißt
<i>dnc</i>	<i>dunce</i>
DpCPA	DL-p-Chlorophenyl-Alanin
DPM-Neuron	dorsal-paired-medial-Neuron
dsRNA	double-stranded RNA
Eb	Ellipsoidkörper
et al.	et alii
Fb	Fächerförmiger Körper
Fas	Fasziklin
GFP	Green-Fluorescent-Protein
G-Protein	Guaninnukleotid-bindendes Protein
G _i	inhibierendes G-Protein
G _s	stimulierendes G-Protein
GSK3 β	Glykogen-Synthase-Kinase-3 β
H ₂ O	Wasser

HU	Hydroxy-Urea
hsp	heat-shock-Protein
Hz	Hertz
IP ₃	Inositoltriphosphat
KS	Kolmogorov-Smirnov
LED	Leuchtdiode
LNv	PDF-positives lateral ventrales Neuron
LH	Learned Helplessness
LTM	long-term memory
MAP-Kinase	mitogen activated protein Kinase
MAO	Monoamin Oxidase
MB	Pilzkörper
mm/s	Millimeter pro Sekunde
µm	Mikrometer
mRNA	messenger RNA
mtDNA	mitochondriale DNA
N	Anzahl von Tieren eines Genotyps, verwendet in einem Experiment
n	Anzahl der Einzelanläufe der einzelnen Fliegen in einem Experiment
n.a.	nicht auswertbar
Na ⁺	Natrium
NaChBac	spannungsgesteuerter bakterieller Na ⁺ -Kanal
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
No	Noduli
NPF	Neuropeptid F
NPY	Neuropeptid Y
n.s.	nicht signifikant
PB	Protocerebralbrücke
PBS	Phosphate Buffered Saline
PDE	Phosphodiesterase
Pe	Pedunculus
PI	Pars intercerebralis
Pk	Pilzkörper
PKA	Proteinkinase-A
PLC	Phospholipase-C
REM	Rapid Eye Movement
RISC	RNA-induced-silencing-complex
RNAi	RNA-Interferenz
<i>rut</i>	<i>rutabaga</i>
s.	siehe
SERT	präsynaptischer Serotonin-Rezeptor
siRNA	small-interfering RNA
SSRI	Selektiver Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer

Tab.	Tabelle
TCA	tetracyklische Antidepressiva
TeTxLC	Tetanus-Toxin-Light-Chain
TNT	Tetanus-Toxin
TRP	transient receptor potential
u.a.	unter anderem
UAS	Upstream-Activating-Sequence
wt	wildtypisch
WT-B	Wildtyp-Berlin
z.B.	zum Beispiel

6.4 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Pilzkörperloben in <i>Drosophila melanogaster</i>	5
Abbildung 2: Duftverarbeitung in <i>Drosophila melanogaster</i>	7
Abbildung 3: Synthese von Serotonin.....	15
Abbildung 4: Das UAS/GAL4-System in <i>Drosophila melanogaster</i>	21
Abbildung 5: Kletterverhalten einer männlichen Fliege an einer 3,5 mm breiten Lücke	24
Abbildung 6: Balzverhalten von <i>Drosophila melanogaster</i>	26
Abbildung 7: Abdomenfärbung nach Lösungsverfütterung	39
Abbildung 8: Schematische Darstellung der Vibrationsapparatur	42
Abbildung 9: Zeitachse der Depressionsversuche	43
Abbildung 10: Schematische Darstellung des Kletterparadigmas.....	45
Abbildung 11: Schematische Darstellung der Buridan'schen Arena	46
Abbildung 12: Schematische Darstellung der Balzapparatur	47
Abbildung 13: Schematische Darstellung der schnellen Phototaxis	50
Abbildung 14: Schematische Darstellung zur Duftpräferenz-Messung.....	51
Abbildung 15: Schematische Darstellung des Kletterparadigmas zur visuellen Reizung.....	52
Abbildung 16: Schematische Darstellung des Kletterparadigmas zur olfaktorischen Reizung.....	53
Abbildung 17: Schematische Darstellung wichtiger Elemente der Kragenmethode	55
Abbildung 18: Kletterverhalten von <i>Drosophila</i> an einer Lückenbreite von 3,5 mm.....	59
Abbildung 19: Kletterverhalten von <i>Drosophila</i> an einer Lückenbreite von 4,5 mm.....	60
Abbildung 20: Kletterverhalten von <i>Drosophila</i> bei olfaktorischem Reizeinfluss.	61
Abbildung 21: Kletterverhalten von <i>Drosophila</i> bei intrinsischem (Hunger) und extrinsischem (Duft) Einfluss.	62
Abbildung 22: Kletterverhalten von <i>Drosophila</i> bei wahlweise visuellem oder olfaktorischem Reizeinfluss, sowie der Kombination aus beiden.....	63
Abbildung 23: Duftpräferenz von <i>Drosophila melanogaster</i> (CS) in einem Wahlparadigma.	65
Abbildung 24: Duftpräferenz von <i>Drosophila melanogaster</i> mit ablatierten Pilzkörpern	66
Abbildung 25: Frontale Paraffinschnitte durch Gehirne CS Fliegen mit ablat. Pilzkörpern. ...	68
Abbildung 26: Frontale Paraffinschnitte durch die Gehirne männlicher CS Fliegen.....	69
Abbildung 27: Duftgesteuerte Klettermotivation bei Inhibition der chemischen neuronalen Transmission in unterschiedlichen Loben der Pilzkörper.	70
Abbildung 28: Differenz zwischen den Testläufen.	72
Abbildung 29: Visuell gesteuerte Klettermotivation bei Inhibition der neuronalen Transmission in unterschiedlichen Loben der Pilzkörper.	74
Abbildung 30: Differenz zwischen den Testläufen.	75
Abbildung 31: Kletterverhalten von <i>Drosophila</i> ohne und mit Unterbrechung der synaptischen Transmission aus unterschiedlichen Pilzkörperkompartimenten.	76
Abbildung 32: Klettermotivation bei wärmeinduzierter Blockierung der synaptischen Transmission in distinkten Loben der Pilzkörper.	78
Abbildung 33: Klettermotivation bei wärmeinduzierter Blockierung der synaptischen Transmission in distinkten Loben des Pilzkörpers.	79

Abbildung 34: Visuell gesteuerte Klettermotivation bei Erhöhung der Erregbarkeit von Neuronen in den α - β - und γ -Loben der Pilzkörper.....	80
Abbildung 35: Kletterversuche von <i>Drosophila</i> bei Erhöhung der Erregbarkeit der Neuronen der α - β - und γ -Loben des Pilzkörpers.....	81
Abbildung 36: Klettermotivation durch visuelle Reize bei Knockdown der Expression von <i>npf</i> in NPF-exprimierenden Neuronen.	83
Abbildung 37: Kletterinitiation von <i>Drosophila</i> nach Stresseinwirkung.....	85
Abbildung 38: Kletterinitiation von <i>Drosophila</i> vor und nach viertägiger Stresseinwirkung..	86
Abbildung 39: Laufaktivität von <i>Drosophila</i> in der Buridan'schen Arena ohne und nach mehrtägiger Stresseinwirkung im Vergleich zu Kontrolltieren ohne Stressfaktor.	87
Abbildung 40: Latenzzeit bis zum Beginn der Balz von <i>Drosophila</i> CS Männchen nach viertägiger Stresseinwirkung im Vergleich zu Kontrolltieren ohne Stress.....	88
Abbildung 41: Schnelle Phototaxisreaktion (4 s) von männlichen CS Fliegen mit Stress.....	90
Abbildung 42: Kletterverhalten von <i>Drosophila</i> mit Stresseinwirkung und Erholungspause.	91
Abbildung 43: Kletteraktivität und Laufaktivität in der Buridan'schen Arena von <i>Drosophila</i> nach Stresseinwirkung durch verpaarte Weibchen in der Balz	93
Abbildung 44: Auswirkung von <i>npf</i> -Überexpression und RNAi gegen <i>npf</i> auf die Verminderung der Kletteraktivität von <i>Drosophila</i> durch Stresseinwirkung.	95
Abbildung 45: Kletter- und Laufaktivität der Lernmutanten <i>rut</i> ¹ und <i>dnc</i> ¹ nach Stress.	97
Abbildung 46: Latenzzeit bis zum Beginn der Balz bei männlichen <i>Drosophila</i> nach Stress... ..	99
Abbildung 47: Auswirkung der Vorstufe von Serotonin, 5-Hydroxy-L-Tryptophan (5HTP), auf den Zustand verminderter Aktivität nach unkontrollierbarem Stress in <i>Drosophila</i>	101
Abbildung 48: Vergleich der Daten zur 5HTP-Verfütterung	102
Abbildung 49: Auswirkung von Saccharose, α -Methyl-L-Tryptophan (α MTP) und einer Mischung beider Substanzen auf das Kletterverhalten nach Stress.....	103
Abbildung 50: Auswirkung α -Methyl-L-Tryptophan auf das Kletterverhalten.....	104
Abbildung 51: Antikörperfärbung gegen 5HT und konfokale Mikroskopie: Darstellung von 5HT in Gehirnen von <i>Drosophila</i> nach Verfütterung von Saccharose, H ₂ O und α MTP	106
Abbildung 52: Quantifizierung und Vergleich der Serotonin-Intensität in den EB	107
Abbildung 53: Auswirkung einer Blockierung mit TNT der serotonergen Neurone im Gehirn von <i>Drosophila</i> auf Kletteraktivität nach Stresseinwirkung.....	108
Abbildung 54: Antikörperfärbung gegen 5HT und konfokaler Mikroskopie: Quantifizierung von 5HT in den Pilzkörpern von <i>Drosophila</i> in Fliegen nach Stress und ohne.....	110
Abbildung 55: Quantifizierung und Vergleich der Serotonin-Intensität in den α -Loben, sowie der β -Loben der Pilzkörper.....	111
Abbildung 56: Quantifizierung von 5HT im Ellipsoidkörper von <i>Drosophila</i> in Fliegen in depressionsähnlichen Zustand nach Stress und ohne	112
Abbildung 57: Quantifizierung & Vergleich der 5HT-Intensität in den EB von <i>Drosophila</i> ...	113
Abbildung 58: Quantifizierung und direkter Vergleich der 5HT-Intensität durch interne Verrechnung pro Kopf der 5HT-Intensität zwischen Pilzkörperloben und EB.	114
Abbildung 59: Auswirkung einer TNT-Blockade in Pilzkörpern auf die Verminderung der Kletteraktivität nach Stress	115

Abbildung 60: Konfokale Darstellung der serotonergen Neurone der Linie <i>Trh493-GAL4</i> ...	116
Abbildung 61: Auswirkung einer TNT-Blockade in serotonergen Neuronen des <i>Trh493-GAL4</i> Musters auf die Verminderung der Kletteraktivität nach Stress.	117
Abbildung 62: Auswirkung von NaChBac in serotonergen Neuronen des Musters <i>Trh493-GAL4</i> auf die Verminderung der Kletteraktivität nach Stress	118
Abbildung 63: Auswirkung von RNAi gegen den <i>5HT-1A</i> -Rezeptor Expression in Neuronen der Pilzkörper auf die Verminderung der Kletteraktivität nach Stress	119
Abbildung 64: Auswirkung von RNAi der <i>5HT-1B</i> -Rezeptor Expression in Neuronen der Pilzkörper auf die Verminderung der Kletteraktivität nach Stress	120
Abbildung 65: Validierung der Lokalisation des <i>5HT-1B</i> -Rezeptors in den Pilzkörpern.....	122
Abbildung 66: Auswirkung einer TNT-Blockierung in den γ -Loben und α -/ β -Loben der Pilzkörper auf die Verminderung der Kletteraktivität nach Stress	124
Abbildung 67: Auswirkung von NaChBac in Neuronen der Treiberlinie <i>5HT-1B-GAL4</i> auf die Verminderung der Kletteraktivität nach Stress.	125
Abbildung 68: Auswirkung von NaChBac in Neuronen der Treiberlinie <i>5HT-1A-GAL4</i> auf die Verminderung der Kletteraktivität nach Stress	126
Abbildung 69: Auswirkung von Naratriptan auf das Kletterverhalten nach unkontrollierbarem Stress und ohne äußere Einflüsse.	127
Abbildung 70: Auswirkung von 8-OH-DPAT auf das Kletterverhalten nach unkontrollierbarem Stress und ohne äußere Einflüsse.	129
Abbildung 71: Auswirkung von Lithiumchlorid Verfütterung (80 mM) auf das Kletterverhalten von <i>Drosophila</i> nach Stress und ohne.	131
Abbildung 72: Auswirkung von Lithiumchlorid Verfütterung (50 mM) auf das Kletterverhalten von <i>Drosophila</i> nach Stress und ohne	133
Abbildung 73: Model der Reizverarbeitung hin zur Aktivitätsverstärkung bei attraktiven olfaktorischen oder visuellen Anreizen	142
Abbildung 74: Modell zur Entstehung des Depressions-Phänotyps.....	164
Abbildung 75: Erläuterung der Beteiligung unterschiedlicher Pilzkörperloben zur Entstehung des Depressions-Phänotyps nach TNT-Expression in α -/ β - und γ -Loben	166
Abbildung 76: Die Rolle des <i>5HT-1A</i> -Rezeptors in der Stressverarbeitung bei <i>Drosophila</i> ..	167
Abbildung 77: Die Rolle des <i>5HT-1B</i> -Rezeptors in der Stressverarbeitung bei <i>Drosophila</i> ...	168
Abbildung 78: Laufverhalten in der Buridan'schen Arena nach Stress im Vergleich zu Kontrolltieren ohne Stress, Parameter: Distanz und Laufgeschwindigkeit.	I
Abbildung 79: Laufverhalten <i>dnc</i> ¹ in der Buridan'schen Arena nach Stress im Vergleich zu Kontrolltieren ohne Stress, Parameter: Distanz und Laufgeschwindigkeit	II
Abbildung 80: Auswirkung von Sacc., α MTP und einer Mischung auf das Kletterverhalten nach 16 stündiger Verfütterung.....	III
Abbildung 81: Kletterinitiation an einer Lückenbreite von 4,5 mm mit Stresseinwirkung.....	IV
Abbildung 82: Konfokale Darstellung der serotonergen Neurone der Linie <i>Trh493-GAL4</i>	V

6.5 Tabellenverzeichnis

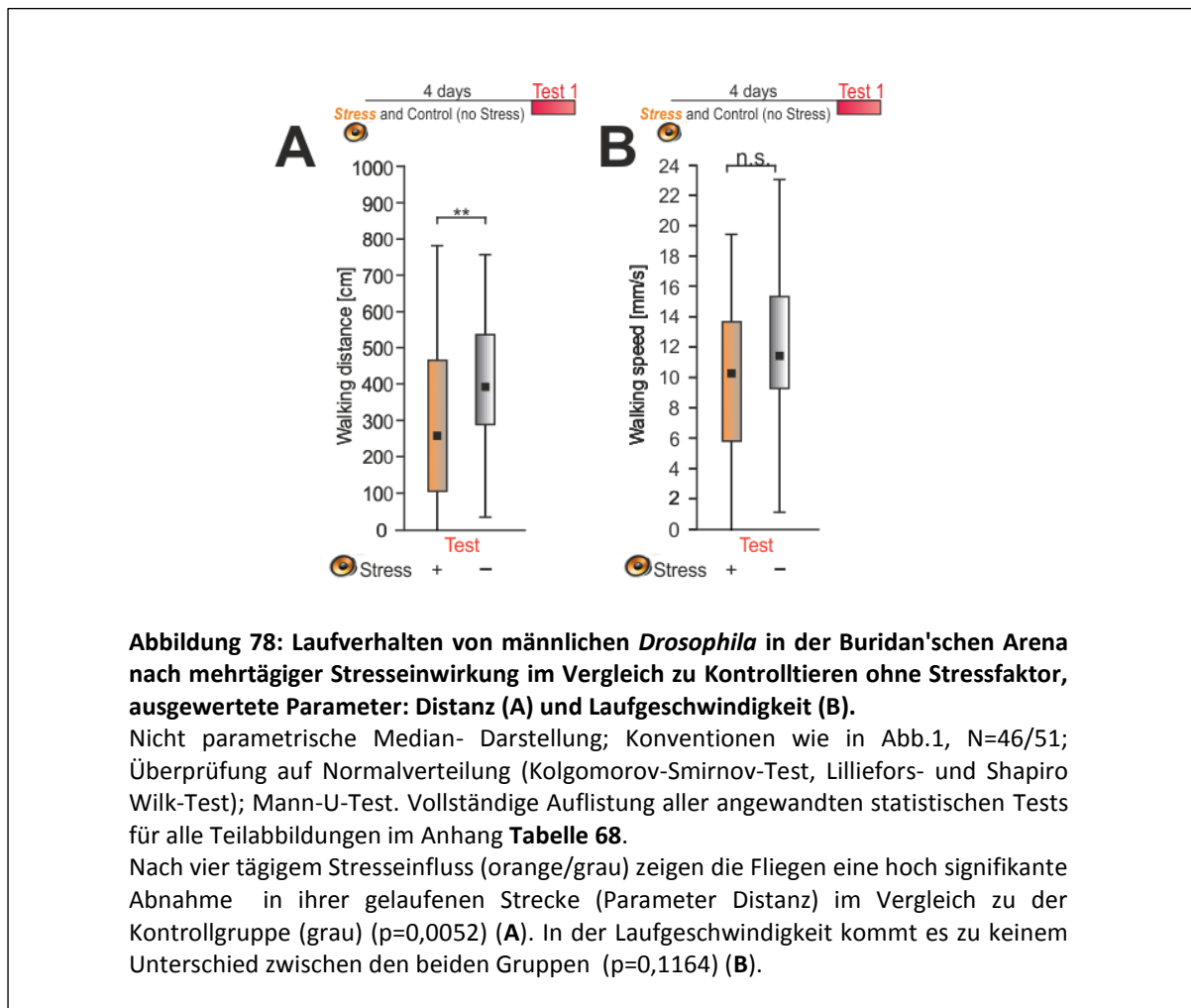
Tabelle 1: Verwendete Geräte.....	32
Tabelle 2: Verwendete primäre Antikörper.....	33
Tabelle 3: Verwendete sekundäre Antikörper.....	34
Tabelle 4: Verwendete Stämme	36
Tabelle 5: Transgene UAS-Linien	36
Tabelle 6: Transgene Treiberlinien	37
Tabelle 7: Auszug aus p-Werten aus Abbildung 27.	71
Tabelle 8: Auszug aus p-Werten aus Abbildung 29.	75
Tabelle 9: p-Werte des statistischen Tests (Kruskal-Wallis-Test) zu der Abbildung 40.....	89
Tabelle 10: Überprüfung der Datensätze aus Abb.18 auf Normalverteilung.....	VI
Tabelle 11: Überprüfung der Datensätze aus Abb.19 auf Normalverteilung.....	VI
Tabelle 12: Überprüfung der Datensätze aus Abb.20 auf Normalverteilung.....	VII
Tabelle 13: Überprüfung der Datensätze aus Abb.21 auf Normalverteilung.....	VII
Tabelle 14: Überprüfung der Datensätze aus Abb.22 auf Normalverteilung.....	VIII
Tabelle 15: Überprüfung der Datensätze aus Abb.23 auf Normalverteilung.....	VIII
Tabelle 16: Überprüfung der Datensätze aus Abb.24 auf Normalverteilung.....	VIII
Tabelle 17: Überprüfung der Datensätze aus Abb.27 auf Normalverteilung.....	XI
Tabelle 18: Überprüfung der Datensätze aus Abb.28 auf Normalverteilung.....	XII
Tabelle 19: Überprüfung der Datensätze aus Abb.29 auf Normalverteilung.....	XIII
Tabelle 20: Überprüfung der Datensätze aus Abb.30 auf Normalverteilung.....	XIV
Tabelle 21: Überprüfung der Datensätze aus Abb.31 auf Normalverteilung.....	XIV
Tabelle 22: Überprüfung der Datensätze aus Abb.32 auf Normalverteilung.....	XV
Tabelle 23: Überprüfung der Datensätze aus Abb.33 auf Normalverteilung.....	XVI
Tabelle 24: Überprüfung der Datensätze aus Abb.34 auf Normalverteilung.....	XVII
Tabelle 25: Überprüfung der Datensätze aus Abb.35 auf Normalverteilung.....	XIX
Tabelle 26: Überprüfung der Datensätze aus Abb.36 auf Normalverteilung.....	XIX
Tabelle 27: Überprüfung der Datensätze aus Abb.37 auf Normalverteilung.....	XXI
Tabelle 28: Überprüfung der Datensätze aus Abb.38 auf Normalverteilung.....	XXII
Tabelle 29: Überprüfung der Datensätze aus Abb.39 auf Normalverteilung.....	XXII
Tabelle 30: Überprüfung der Datensätze aus Abb.40A auf Normalverteilung.....	XXIII
Tabelle 31: Überprüfung der Datensätze aus Abb.40B auf Normalverteilung.....	XXIII
Tabelle 32: Überprüfung der Datensätze aus Abb.41 auf Normalverteilung.....	XXIII
Tabelle 33: Überprüfung der Datensätze aus Abb.42 auf Normalverteilung.....	XXIV
Tabelle 34: Überprüfung der Datensätze aus Abb.43A auf Normalverteilung.....	XXIV
Tabelle 35: Überprüfung der Datensätze aus Abb.43B auf Normalverteilung.....	XXV
Tabelle 36: Überprüfung der Datensätze aus Abb.44A auf Normalverteilung.....	XXVI
Tabelle 37: Überprüfung der Datensätze aus Abb.44B auf Normalverteilung.....	XXVI
Tabelle 38: Überprüfung der Datensätze aus Abb.45A auf Normalverteilung.....	XXVII
Tabelle 39: Überprüfung der Datensätze aus Abb.45B auf Normalverteilung.....	XXVII
Tabelle 40: Überprüfung der Datensätze aus Abb.45C auf Normalverteilung.....	XXVIII

Tabelle 41: Überprüfung der Datensätze aus Abb.46A auf Normalverteilung.....	XXVIII
Tabelle 42: Überprüfung der Datensätze aus Abb.46B auf Normalverteilung.....	XXIX
Tabelle 43: Überprüfung der Datensätze aus Abb.47 auf Normalverteilung.....	XXX
Tabelle 44: Überprüfung der Datensätze aus Abb.48 auf Normalverteilung.....	XXX
Tabelle 45: Überprüfung der Datensätze aus Abb.49 auf Normalverteilung.....	XXXI
Tabelle 46: Überprüfung der Datensätze aus Abb.50 auf Normalverteilung.....	XXXII
Tabelle 47: Überprüfung der Datensätze aus Abb.52 auf Normalverteilung.....	XXXII
Tabelle 48: Überprüfung der Datensätze aus Abb.53 auf Normalverteilung.....	XXXIII
Tabelle 49: Überprüfung der Datensätze aus Abb.55A auf Normalverteilung.....	XXXV
Tabelle 50: Überprüfung der Datensätze aus Abb.55B auf Normalverteilung.....	XXXV
Tabelle 51: Überprüfung der Datensätze aus Abb.57 auf Normalverteilung.....	XXXVI
Tabelle 52: Überprüfung der Datensätze aus Abb.58 auf Normalverteilung.....	XXXVI
Tabelle 53: Überprüfung der Datensätze aus Abb.59 auf Normalverteilung.....	XXXVII
Tabelle 54: Überprüfung der Datensätze aus Abb.61 auf Normalverteilung.....	XXXVIII
Tabelle 55: Überprüfung der Datensätze aus Abb.62 auf Normalverteilung.....	XL
Tabelle 56: Überprüfung der Datensätze aus Abb.63 auf Normalverteilung.....	XLI
Tabelle 57: Überprüfung der Datensätze aus Abb.64 auf Normalverteilung.....	XLII
Tabelle 58: Überprüfung der Datensätze aus Abb.66A auf Normalverteilung.....	XLIII
Tabelle 59: Überprüfung der Datensätze aus Abb.66B auf Normalverteilung.....	XLIV
Tabelle 60: Überprüfung der Datensätze aus Abb.67 auf Normalverteilung.....	XLVII
Tabelle 61: Überprüfung der Datensätze aus Abb.68 auf Normalverteilung.....	XLVIII
Tabelle 62: Überprüfung der Datensätze aus Abb.69A auf Normalverteilung.....	XLIX
Tabelle 63: Überprüfung der Datensätze aus Abb.69C auf Normalverteilung.....	XLIX
Tabelle 64: Überprüfung der Datensätze aus Abb.70A auf Normalverteilung.....	L
Tabelle 65: Überprüfung der Datensätze aus Abb.70C auf Normalverteilung.....	LI
Tabelle 66: Überprüfung der Datensätze aus Abb.71A auf Normalverteilung.....	LI
Tabelle 67: Überprüfung der Datensätze aus Abb.71B auf Normalverteilung.....	LII
Tabelle 68: Überprüfung der Datensätze aus Abb.78 auf Normalverteilung.....	LIII
Tabelle 69: Überprüfung der Datensätze aus Abb.79 auf Normalverteilung.....	LIII
Tabelle 70: Überprüfung der Datensätze aus Abb.80 auf Normalverteilung.....	LIV
Tabelle 71: Überprüfung der Datensätze aus Abb.81 auf Normalverteilung.....	LIV

7 Anhang

7.1 Abbildungen

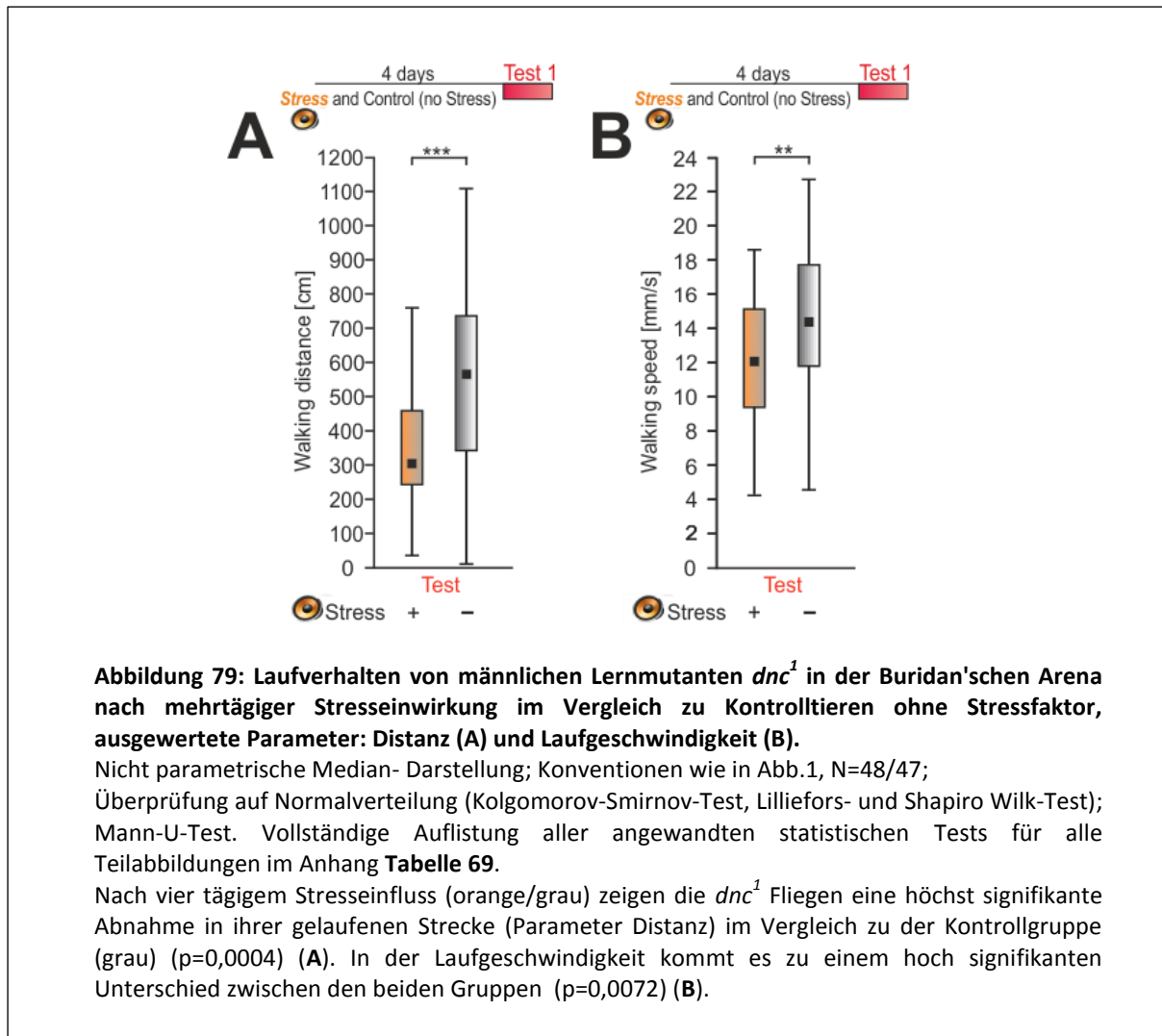
Laufverhaltens der Fliegen Wildtyp CS im Buridan'schen Paradigma nach mehrtägiger Stresseinwirkung: gemessene Parameter Distanz und Laufgeschwindigkeit



Ergänzend zur Laufaktivität (**Abbildung 39**) sind in **Abbildung 78** die Parameter Distanz und Laufgeschwindigkeit aufgetragen. Ebenso wie in der Laufaktivität zeigen die männlichen CS-Fliegen nach einer Periode anhaltender Stressreize eine verminderte Laufstrecke, den ihre zurückgelegte Distanz ist hoch signifikant kürzer als die der Kontrollgruppe, die über den selben Zeitraum ohne Stressreize gehalten wird ($p=0,0052$; **Abbildung 78A**). In der Laufgeschwindigkeit lässt sich kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen feststellen, die CS Fliegen nach Stresseinfluss zeigen nur tendenziell eine langsamere Laufgeschwindigkeit ($p=0,1164$). Dies widerspricht nicht den Ergebnissen der hochsignifikanten Distanz oder Aktivität, da die Tiere hoch signifikant weniger laufen können, dabei aber nicht zwingend signifikant langsamer laufen müssen. Es bestätigt sich in Verbindung mit den Ergebnissen aus **Abbildung 39**, dass die Tiere ihre Aktivität als Reaktion

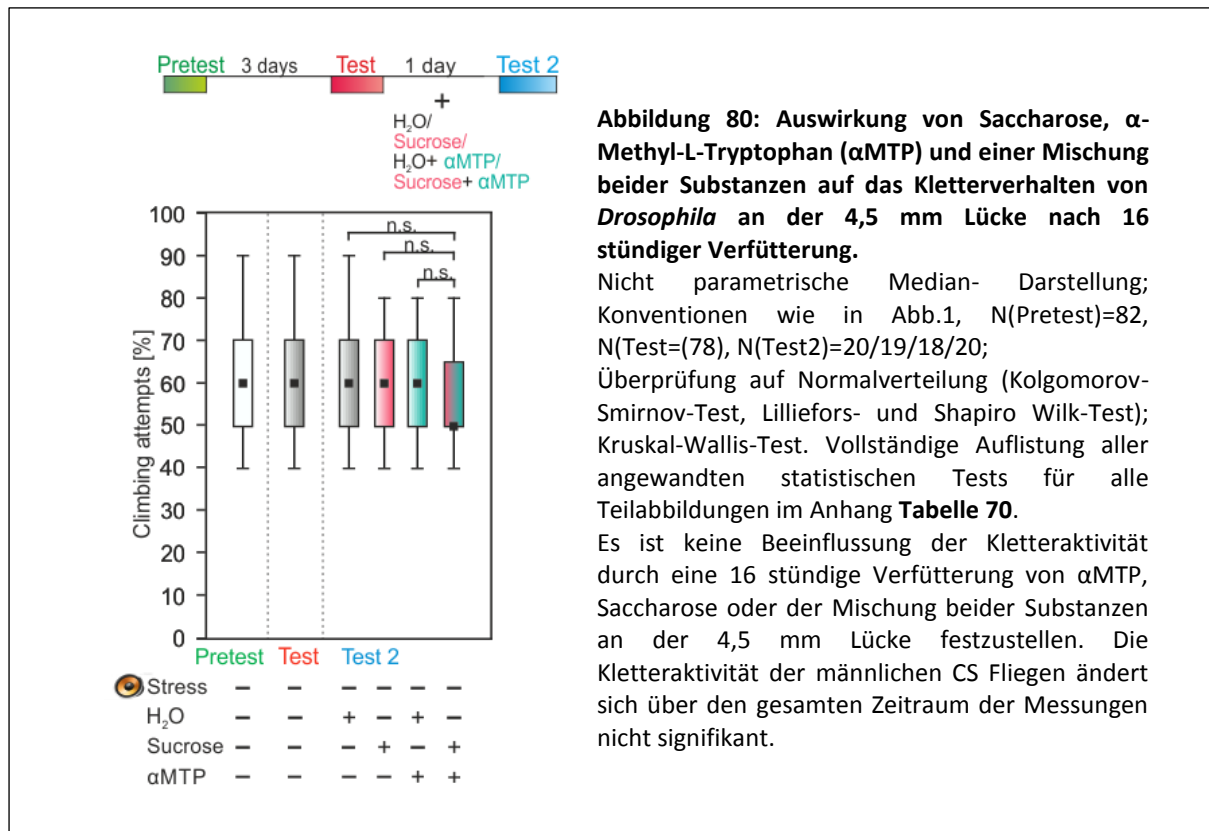
auf unkontrollierbaren Stress verringern und somit ein depressionsähnliches Verhalten zeigen.

Laufverhaltens der Lernmutanten *dnc*¹ im Buridan'schen Paradigma nach mehrtägiger Stresseinwirkung: gemessene Parameter Distanz und Laufgeschwindigkeit



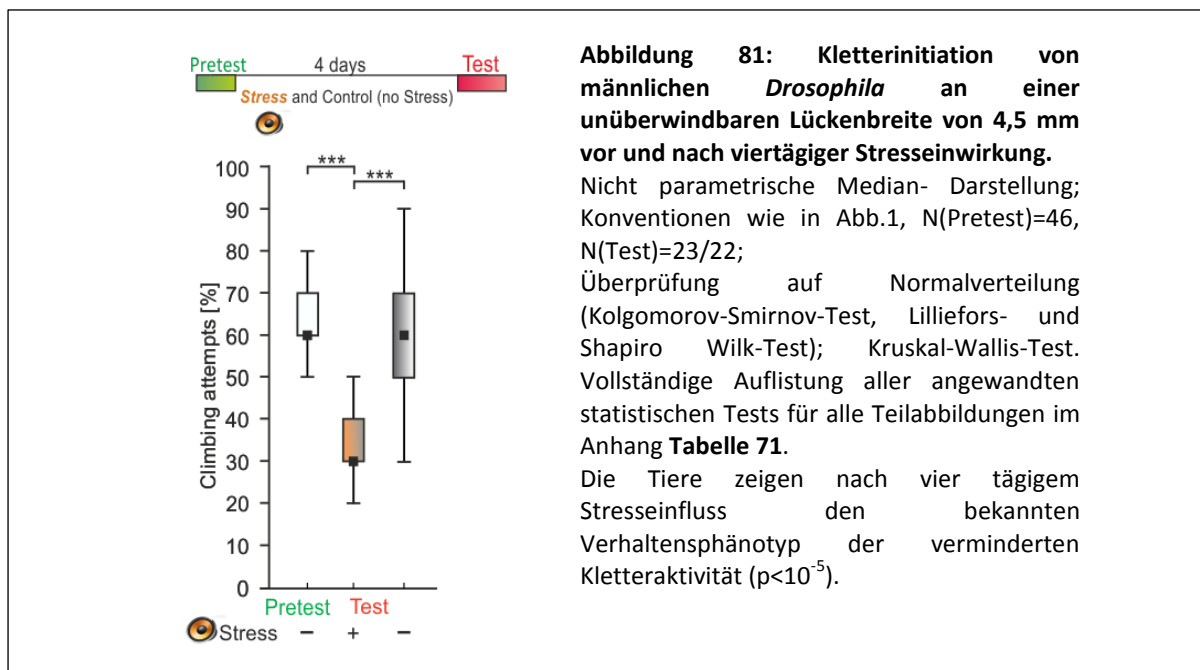
Die **Abbildung 79** ist ergänzend zu den Ergebnissen aus **Abbildung 45** aufgetragen, es sind sowohl die zurückgelegte Distanz als auch die Laufgeschwindigkeit der Lernmutante *dnc*¹ zu sehen. Die *dnc*¹-Fliegen zeigen eine höchst signifikante Verringerung ihrer zurückgelegten Strecke (Parameter Distanz), wenn sie über einen vier tägigen Zeitraum unkontrollierbarem Stress unterworfen waren im Vergleich zu einer ungestressten Kontrollgruppe (p=0,0004; **Abbildung 79A**). Ebenso ist die Laufgeschwindigkeit der Fliegen nach Stress hoch signifikant geringer als in der Kontrollgruppe (p=0,0072; **Abbildung 79B**).

Einfluss einer 16 stündigen Verfütterung des 5HT-Syntheseinhibitors auf das Kletterverhalten von *Drosophila*



Eine 16 stündige Verfütterung von α MTP als 5HT-Syntheseinhibitor zeigt bei männlichen CS Fliegen keine Auswirkung auf das Kletterverhalten an der 4,5 mm Lücke (**Abbildung 80**). Die die Fliegen über den Zeitraum von vier Tagen keinen Stress erfahren und einzig tagsüber zehn Stunden ohne Futter und Wasser in den Plexiglas-Röhrchen gehalten werden, verändert sich ihre Kletteraktivität nach vier Tagen im Vergleich zum Verhalten im Pretest nicht ($p = \sim 1,0000$). Nach einer 16 stündigen Verfütterung von Saccharose, α MTP und einer Mischung von α MTP mit Saccharose tritt ebenfalls keine Änderung in ihrem Kletterverhalten auf, die Gruppen unterschieden sich in ihren Kletterversuchen nicht signifikant voneinander (jeweils $p = \sim 1,0000$).

Überprüfung des depressionsähnlichen Verhaltens nach viertägiger Stressbelastung vor der Erstellung der histologischen Präparate



Es ist die bereits bekannte, höchst signifikante Abnahme der Kletteraktivität bei den CS Fliegen zu beobachten, die vier Tage unkontrollierbaren Stress ausgesetzt waren ($p < 10^{-5}$). Die Stressbelastung lässt die Klettermotivation der Fliegen um 30 % absinken, während die Kontrollgruppe ohne Stressbelastung keine Veränderung in ihrem Kletterverhalten erkennen lässt ($p = \sim 1,0000$). Da die Fliegen nach dem Stresseinfluss den bereits beschriebenen (**Abbildung 38**) depressionsartigen Verhaltensphänotyp zeigen, kann am nächsten Tag nach erneuter Stressgabe die histologische Präparation vorgenommen werden (s.2.2.8.2, **S.56**).

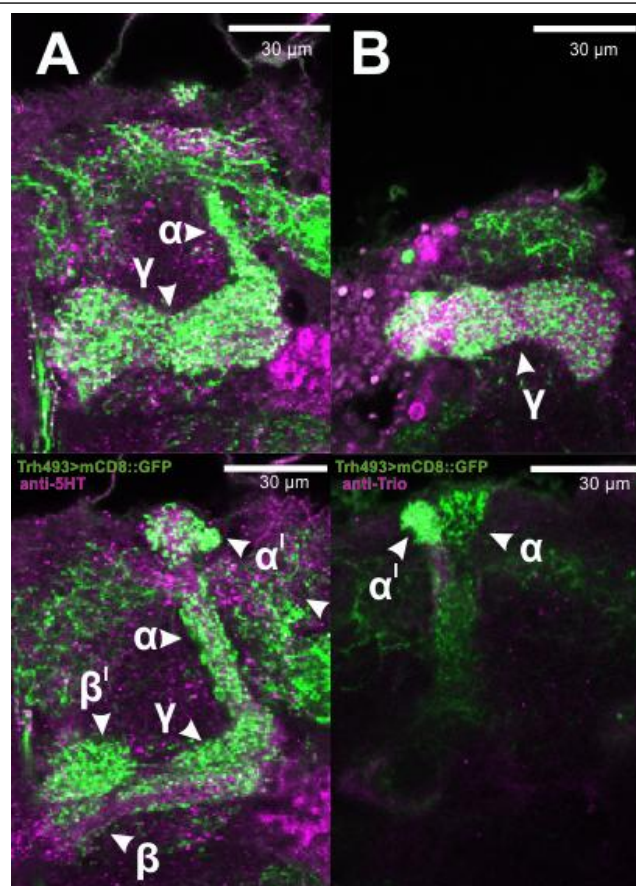


Abbildung 82: Konfokale Darstellung der serotonergen Neurone der Linie *Trh493-GAL4*, die die Loben der Pilzkörper in drei bis fünf Tage alten *Drosophila*-Männchen innervieren.

(A) Objektträger 05.09.2014; *Trh493>mCD8::GFP* α5HT (IV); 0,75 µm virtuelle Schichtdicke; 40-faches Objektiv; Zoom: 1.

(B) Objektträger 21.08.2014; *Trh493>mCD8::GFP* αTrio (III); 0,75 µm virtuelle Schichtdicke; 40-faches Objektiv; Zoom: 1.

Mithilfe der unterschiedlichen Antikörper-Gegenfärbungen lassen sich die Innervierung der serotonergen Neurone der *Trh493-Gal4*-Linie (α-GFP, grün) gut erkennen. Es ist sowohl in (A) als auch in (B) eine starke Co-Lokalisation in den γ-Loben zu sehen. In (A) ist sichtbar, dass die *Trh493-GAL4*-Linie in fast allen Lobensystemen des Pilzkörpers exprimiert, es ist sowohl eine Färbung in den α-/α'- sowie den β'- und den γ-Loben sichtbar. In all diesen Bereichen ist ebenfalls eine Färbung des α5HT-Antikörpers (α-5HT, magenta) zu erkennen. Nur im Bereich der β-Loben ist wie in (A) recht gut zu sehen keine distinkte Färbung der *Trh493*-Linie zu sehen, diese Beobachtung war in allen angefertigten Färbungen konsistent. In (B) ist eine Expression der *Trh493-GAL4* durch die Expression von Trio (α-Trio, magenta) in den α-/α'-Loben gut auszumachen.

Die Färbungen aus **Abbildung 82** bestätigen die Beobachtung aus **Abbildung 60**, dass die Linie *Trh493-GAL4* bei drei bis fünf Tage alten, männlichen *Drosophila* (CS) in unterschiedlichen Lobensystemen der Pilzkörper exprimiert. In **Abbildung 82(A&B)** lässt sich anhand der Antikörperfärbung α-5HT (magenta, **A**) und αTrio (magenta, **B**) ablesen, dass in den α-/α'-/β'- und γ-Loben sowohl eine Färbung von 5HT als auch der *Trh493-GAL4*-Linie (α-GFP, grün) vorliegt. Dies bestätigt die Beschreibung von LEE P. et al. (2012), nach deren Angaben, die Linie 25-30 serotonerge Neurone im Pilzkörper treibt. In (A) ist zu erkennen, dass in den β-Loben zwar eine Färbung von 5HT auftritt, allerdings nur eine schwache Färbung von *Trh493-GAL4* vorkommt. Da dies in allen Präparaten der Fall war, lässt sich vermuten, dass die β-Loben nur sehr schwach durch die *Trh493*-Neurone innerviert werden.

7.2 Statistische Auswertung der Ergebnisse

Ergebnisse zur Beeinflussung des Kletterverhaltens durch externe Reizzuführung

Einfluss durch visuelle, externe Reize

Tabelle 10:

a) Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 18 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Climbing attempts					
CS Vis. Obj.	25	1,1590	< 0,15	< 0,01	= 0,0110
CS no Obj.	25	0,7789	< 0,10	< 0,01	= 0,0028
Successful transitions					
CS Vis. Obj.	25	2,2271	> 0,20	< 0,05	= 0,0132
CS no Obj.	25	2,0058	> 0,20	> 0,20	= 0,6880

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 18 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

N	Group	p
Climbing attempts K-Wallis-Test: $H(1, N=50)=15,5315$ $p=0,0001$		
25	CS Vis. Obj. (1) R: 33,380	--
25	CS no Obj. (2) R: 17,620	0,00013 3,8224
Successful transitions K-Wallis-Test: $H(1, N=50)=9,9695$ $p=0,0016$		
25	CS Vis. Obj. (1) R: 31,960	--
25	CS no Obj. (2) R: 19,040	0,00172 3,1336

Tabelle 11:

a) Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 19 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

Climbing attempts	N	Std.Dev.	p KS	p KS	p SW
CS Vis. Obj.	23	0,0337	< 0,15	< 0,01	= 0,0601
CS no Obj.	23	1,4285	< 0,20	< 0,01	= 0,0112

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 19 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

N	Group	p
Climbing attempts K-Wallis-Test: $H(1, N=46)=10,9320$ $p=0,0009$		
23	CS Vis. Obj. (1) R: 29,913	--
23	CS no Obj. (2) R: 17,087	0,0012 3,2405

Einfluss durch olfaktorische, externe Reize

Tabelle 12:

a) Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 20 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Climbing attempts					
CS no Obj.	12	1,3484	< 0,15	< 0,01	= 0,0390
CS Odor	12	1,8647	< 0,20	< 0,20	= 0,2876
CS Hunger	12	0,7930	< 0,20	> 0,01	= 0,0766
CS Odor+Hunger	12	0,9374	< 0,20	> 0,05	= 0,0113
Successful transitions					
CS no Obj.	12	2,6400	< 0,20	< 0,10	= 0,0104
CS Odor	12	1,9228	< 0,20	< 0,20	= 0,1332
CS Hunger	12	3,2706	< 0,20	< 0,20	= 0,2772
CS Odor+Hunger	12	2,4433	< 0,20	< 0,20	= 0,2594

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 20 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

N	Group	(1)	(2)	(3)
Climbing attempts K-Wallis-Test: $H(3, N=48)=23,2242$ $p < 10^{-5}$				
12	CS no Obj. (1) R: 11,208	--	--	--
12	CS Odor (2) R: 20,417	0,6429 1,6111	--	--
12	CS Hunger (3) R: 30,000	0,0061 3,2879	0,5615 1,6767	
12	CS Odor+Hunger (4) R: 36,375	< 10^{-5} 4,4032	0,0314 2,7921	~1,0000 1,1154
Successful transitions K-Wallis-Test: $H(3, N=48)=11,8451$ $p=0,0079$				
12	CS no Obj. (1) R: 11,208	--	--	--
12	CS Odor (2) R: 20,417	0,1856 2,1579	--	--
12	CS Hunger (3) R: 30,000	~1,0000 1,2976	~1,0000 0,8602	--
12	CS Odor+Hunger (4) R: 36,375	0,0056 3,3097	~1,0000 1,1518	0,2653 2,0121

Tabelle 13:

a) Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 21 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Climbing attempts					
CS no Obj.	13	1,9742	> 0,20	> 0,20	= 0,3283
CS Odor	13	1,6093	> 0,20	< 0,20	= 0,2947
CS Hunger	13	1,3205	> 0,20	> 0,20	= 0,3250
CS Odor+Hunger	13	1,1209	> 0,20	> 0,05	= 0,0344

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 21 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

N	Group	(1)	(2)	(3)
Climbing attempts K-Wallis-Test: $H(3, N=52)=16,4646$ $p=0,0009$				
13	CS no Obj. (1) R: 17,231	--	--	--
13	CS Odor (2) R: 22,115	$\sim 1,0000$ 0,8217	--	--
13	CS Hunger (3) R: 26,885	0,6261 1,6241	$\sim 1,0000$ 0,8023	--
13	CS Odor+Hunger (4) R: 39,769	0,0009 3,7917	0,0179 2,9699	0,1811 2,1676

Einfluss durch die Kombination aus olfaktorischem und visuellem Reiz

Tabelle 14:

a) Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 22 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Climbing attempts					
CS no Obj.	29	0,9285	< 0,10	< 0,01	= 0,0130
CS Vis.Obj.	28	0,7935	< 0,05	< 0,01	= 0,0014
CS Odor	28	0,9201	< 0,05	< 0,01	= 0,0036
CS Vis. Obj.+Odor	28	0,8698	< 0,10	< 0,01	= 0,0028

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 22 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Group	N	(1)	(2)	(3)
Climbing attempts K-Wallis-Test: $H(3, N=113)=73,7944$ $p < 10^{-5}$				
CS no Obj. (1) R: 17,276	29	--	--	--
CS Vis.Obj. (2) R: 62,554	28	$< 10^{-5}$ 5,2158	--	--
CS Odor (3) R: 60,429	28	$< 10^{-5}$ 4,9710	$\sim 1,0000$ 0,2427	--
CS Vis.Obj.+Odor (4) R: 89,161	28	$< 10^{-5}$ 8,2809	0,0143 3,0385	0,0062 3,2812

Überprüfung des Einflusses des Pilzkörpers auf das Duftpräferenzverhalten von *Drosophila melanogaster*

Tabelle 15:

a) Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 23 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Minute 1	7	0,2736	> 0,20	> 0,20	= 0,4119
Minute 2	7	0,2506	> 0,20	< 0,20	= 0,1198
Minute 3	7	0,2166	> 0,20	> 0,20	= 0,2987
Minute 4	7	0,2798	> 0,20	< 0,10	= 0,0761
Minute 5	7	0,3135	> 0,20	> 0,20	= 0,3506
Minute 8	7	0,3038	> 0,20	> 0,20	= 0,3773
Minute 10	7	0,3211	> 0,20	> 0,20	= 0,4418
Minute 15	7	0,2380	> 0,20	> 0,20	= 0,5530
Minute 20	7	0,2040	> 0,20	> 0,20	= 0,7444

b) Vergleich der median dargestellten Daten aus Abbildung 23 aufgrund der Normalverteilung aller Datensätze mittels des One-Sample-t-Tests (OT) gegen ein Zufallsniveau (Wert 0)

	N	p OT vs. 0
Minute 1	8	= 0,9577
Minute 2	8	= 0,8510
Minute 3	8	= 0,2616
Minute 4	8	= 0,1778
Minute 5	8	= 0,1653
Minute 8	8	= 0,0904
Minute 10	8	= 0,0784
Minute 15	8	= 0,0090
Minute 20	8	= 0,0017

c) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 23 zum unmittelbaren Vergleich zu den Datensätzen Abb.3.7 (HU-Tiere; nicht normalverteilt) mittels des Sign-Tests (SN) gegen ein Zufallsniveau mit dem Wert 0

	N	p SN vs. 0
Minute 1	8	= 0,6831
Minute 2	8	= 0,4497
Minute 3	8	= 0,2207
Minute 4	8	= 0,2207
Minute 5	8	= 0,2207
Minute 8	8	= 0,2207
Minute 10	8	= 0,2207
Minute 15	8	= 0,0412
Minute 20	8	= 0,0233

Tabelle 16:

a) Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 24 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Minute 1	8	0,1786	> 0,20	< 0,15	= 0,4835
Minute 2	8	0,1516	> 0,20	> 0,20	= 0,4193
Minute 3	8	0,1352	> 0,20	> 0,20	= 0,8383
Minute 4	8	0,2012	> 0,20	> 0,20	= 0,5631

Minute 5	8	0,2114	> 0,20	> 0,20	= 0,9020
Minute 8	8	0,2316	> 0,20	> 0,20	= 0,2940
Minute 10	8	0,2210	> 0,20	< 0,05	= 0,0323
Minute 15	8	0,2714	> 0,20	< 0,10	= 0,1239
Minute 20	8	0,2595	> 0,20	> 0,20	= 0,3891

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 24 zum unmittelbaren Vergleich zu den Datensätzen Abb.3.7 (HU-Tiere; nicht normalverteilt) mittels des Sign-Tests (SN) gegen ein Zufallsniveau mit dem Wert 0

	N	p SN vs. 0
Minute 1	8	~ 1,0000
Minute 2	8	= 0,2207
Minute 3	8	= 0,1306
Minute 4	8	= 0,2207
Minute 5	8	= 0,2207
Minute 8	8	= 0,1306
Minute 10	8	= 0,0412
Minute 15	8	= 0,0412
Minute 20	8	= 0,0412

Ergebnisse zur Beeinflussung des motivierten Kletterverhaltens bei externer Reizzuführung durch die Struktur des Pilzkörpers

Modulation des motivierenden Einflusses von externen, olfaktorischen Reize durch distinkte Loben der Pilzkörper in *Drosophila*

Tabelle 17:

a) Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 27 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
CS Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe I)	24	1,5598	> 0,20	< 0,15	= 0,0941
CS Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe II)	23	1,5616	> 0,20	< 0,10	= 0,2649
CS Lauf nach 24 h mit Duft	24	1,0734	< 0,10	< 0,01	= 0,0061
CS Lauf nach 24 h kein Duft	23	1,4904	< 0,10	< 0,01	= 0,0043
H24>TNT Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe I)	27	1,5021	> 0,20	< 0,10	= 0,1796
H24>TNT Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe II)	22	1,7563	> 0,20	< 0,01	= 0,1867
H24>TNT nach 24 h mit Duft	27	1,6486	> 0,20	< 0,05	= 0,0876
H24>TNT nach 24 h kein Duft	22	1,3266	< 0,20	< 0,01	= 0,0261
c305a>TNT Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe I)	23	1,1995	> 0,20	< 0,01	= 0,0208
c305a>TNT Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe II)	24	1,2959	> 0,20	< 0,01	= 0,0163
c305a>TNT nach 24 h mit Duft	23	1,3817	> 0,20	< 0,15	= 0,0335
c305a>TNT nach 24 h kein Duft	24	1,2504	> 0,20	< 0,05	= 0,0827
mb247>TNT Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe I)	21	1,8860	> 0,20	< 0,05	= 0,0588
mb247>TNT Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe II)	20	1,4681	> 0,20	> 0,20	= 0,1738
mb247>TNT nach 24 h mit Duft	21	1,8297	> 0,20	< 0,15	= 0,1487
mb247>TNT nach 24 h kein Duft	20	1,5044	> 0,20	< 0,05	= 0,1704
c739>TNT Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe I)	21	1,3990	> 0,20	< 0,05	= 0,1623
c739>TNT Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe II)	21	1,1019	< 0,20	< 0,01	= 0,0248
c739>TNT nach 24 h mit Duft	21	1,8746	> 0,20	< 0,10	= 0,1290
c739>TNT nach 24 h kein Duft	21	1,8949	> 0,20	< 0,10	= 0,1100

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 27 (gepaart) mittels des Wilcoxon-Matched-Pairs-Test (WMP)

Genotyp	N	T	Z	p
CS (Gruppe II) Lauf 1 ohne Reiz vs. CS nach 24 h ohne Duft	23	21,00	2,6273	0,0086
H24>TNT (Gruppe II) Lauf 1 ohne Reiz vs. H24>TNT nach 24 h ohne Duft	22	84,00	0,7840	0,4330
c305a>TNT (Gruppe II) Lauf 1 ohne Reiz vs. c305a>TNT nach 24 h ohne Duft	24	88,00	0,2817	0,7782
mb247>TNT (Gruppell) Lauf 1 ohne Reiz vs. mb247>TNT nach 24 h ohne Duft	20	48,00	1,3491	0,1773
c739>TNT (Gruppe II) Lauf 1 ohne Reiz vs. c739>TNT nach 24 h ohne Duft	21	35,50	1,3915	0,1641

Tabelle 18:

Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 28 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Zusätzlich werden die Datensätze mittels des Sign-Tests (SN) gegen ein Zufallsniveau mit dem Wert 0 getestet.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW	p SN vs. 0
Delta CS Lauf Duft-Lauf 1	24	1,4738	> 0,20	< 0,10	= 0,2486	= 0,0001
Delta CS Lauf Luft-Lauf 1	23	1,9691	< 0,15	< 0,01	= 0,0323	= 0,0153
Delta H24>TNT Lauf Duft-Lauf 1	27	1,8187	> 0,20	> 0,20	= 0,5062	= 0,0056
Delta H24>TNT Lauf Luft-Lauf 1	22	1,7777	< 0,20	< 0,01	= 0,0188	= 0,8231
Delta c305a>TNT Lauf Duft-Lauf 1	22	1,2968	< 0,20	< 0,01	= 0,1208	= 0,0008
Delta c305a>TNT Lauf Luft-Lauf 1	24	1,5857	> 0,20	< 0,10	= 0,2712	~ 1,0000
Delta mb247>TNT Lauf Duft-Lauf 1	21	1,7403	< 0,10	< 0,01	= 0,0226	= 0,6056
Delta mb247>TNT Lauf Luft-Lauf 1	20	1,4681	< 0,15	< 0,01	= 0,1379	= 0,1456
Delta c739>TNT Lauf Duft-Lauf 1	21	1,7688	> 0,20	< 0,20	= 0,2706	= 0,8026
Delta c739>TNT Lauf Luft-Lauf 1	21	1,4359	> 0,20	< 0,15	= 0,3092	= 0,3017

Modulation des motivierenden Einflusses von externen, visuellen Reize durch distinkte Loben der Pilzkörper in *Drosophila*

Tabelle 19:

a) Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 29 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
CS Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe I)	25	0,9363	< 0,10	< 0,01	= 0,0051
CS Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe II)	25	1,2356	< 0,20	< 0,01	= 0,0252
CS Lauf nach 24 h mit Landmarke	25	1,1136	> 0,20	< 0,05	= 0,0032
CS Lauf nach 24 h ohne vis.Reiz	25	1,3229	< 0,15	< 0,01	= 0,0670
H24>TNT Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe I)	17	0,9034	< 0,10	< 0,01	= 0,0106
H24>TNT Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe II)	18	0,9003	< 0,05	< 0,01	= 0,0028
H24>TNT nach 24 h mit Landmarke	17	1,0146	> 0,20	< 0,05	= 0,0252
H24>TNT nach 24 h ohne vis.Reiz	18	0,8264	> 0,20	< 0,01	= 0,0234
c305a>TNT Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe I)	23	0,9679	> 0,20	< 0,01	= 0,0311
c305a>TNT Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe II)	23	0,9960	< 0,20	< 0,01	= 0,0278
c305a>TNT nach 24 h mit Landmarke	23	1,2175	> 0,20	< 0,05	= 0,0524
c305a>TNT nach 24 h ohne vis.Reiz	23	1,3644	> 0,20	< 0,15	= 0,3714
mb247>TNT Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe I)	15	0,8619	> 0,20	< 0,01	= 0,0502
mb247>TNT Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe II)	15	1,1255	< 0,20	< 0,01	= 0,0568
mb247>TNT nach 24 h mit Landmarke	15	1,0556	< 0,10	< 0,01	= 0,0149
mb247>TNT nach 24 h ohne vis.Reiz	15	0,8619	< 0,20	< 0,01	= 0,0028
c739>TNT Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe I)	20	1,5183	> 0,20	< 0,05	= 0,1106
c739>TNT Lauf 1 ohne Reiz (Gruppe II)	20	1,1821	< 0,20	< 0,01	= 0,0429
c739>TNT nach 24 h mit Landmarke	20	1,5009	> 0,20	< 0,10	= 0,1099
c739>TNT nach 24 h ohne vis.Reiz	20	1,6376	> 0,20	> 0,20	= 0,5225

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 29 (gepaart) mittels des Wilcoxon-Matched-Pairs-Test (WMP)

Genotyp	N	T	Z	p
CS (Gruppe II) Lauf 1 ohne Reiz vs. CS nach 24 h ohne Landmarke	25	73,5	0,5226	0,6023
H24>TNT (Gruppe II) Lauf 1 ohne Reiz vs. H24>TNT nach 24 h ohne Landmarke	18	33,00	0,4707	0,6378
NP1131>TNT (Gruppe II) Lauf 1 ohne Reiz vs. NP1131>TNT nach 24 h ohne Landmarke	23	51,00	0,0942	0,9250
mb247>TNT (Gruppe II) Lauf 1 ohne Reiz vs. mb247>TNT nach 24 h ohne Landmarke	15	39,00	0,8475	0,3967
c739>TNT (Gruppe II) Lauf 1 ohne Reiz vs. c739>TNT nach 24 h ohne Landmarke	20	49,50	0,9566	0,3388

Tabelle 20:

Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 30 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Zusätzlich werden die Datensätze mittels des Sign-Tests (SN) gegen ein Zufallsniveau mit dem Wert 0 getestet.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW	p SN vs. 0
Delta CS Lauf LM-Lauf 1	25	1,2871	> 0,20	< 0,05	= 0,0756	< 10 ⁻⁵
Delta CS Lauf kein Reiz-Lauf 1	25	1,3013	< 0,20	< 0,01	= 0,0116	= 0,8137
Delta H24>TNT Lauf LM-Lauf 1	17	1,2976	> 0,20	< 0,05	= 0,2122	= 0,0003
Delta H24>TNT Lauf kein Reiz-Lauf 1	18	1,3827	> 0,20	< 0,15	= 0,0564	= 0,7728
Delta NP1131>TNT Lauf LM-Lauf 1	23	1,3557	< 0,15	< 0,01	= 0,0247	= 0,0023
Delta NP1131>TNT Lauf kein Reiz-Lauf 1	23	1,4917	< 0,10	< 0,01	= 0,0180	= 0,7893
Delta mb247>TNT Lauf LM-Lauf 1	15	1,2984	> 0,20	< 0,05	= 0,4697	= 0,5050
Delta mb247>TNT Lauf kein Reiz-Lauf 1	15	1,2910	> 0,20	< 0,05	= 0,0111	= 0,7893
Delta c739>TNT Lauf LM-Lauf 1	20	1,4690	> 0,20	< 0,15	= 0,0906	= 0,4533
Delta c739>TNT Lauf kein Reiz-Lauf 1	20	1,7800	> 0,20	> 0,20	= 0,2818	= 0,8026

Tabelle 21:

a) Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 31 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
CS >TNT	36	1,1585	> 0,20	< 0,01	= 0,0256
mb247-GAL4 >TNT	31	1,2589	> 0,20	< 0,05	= 0,0086
c739- GAL4 >TNT	30	1,5643	> 0,20	< 0,10	= 0,1931
H24-GAL4 >TNT	27	1,1209	< 0,15	< 0,01	= 0,0273
NP1131 >TNT	35	1,3884	< 0,15	< 0,01	= 0,0131

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 31 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	N	(2)	(3)	(4)	(5)
K-Wallis-Test: $H(4, N=159)=21,1316$ $p=0,0003$					
CS >TNT (1) R: 69,889	36	0,0015 3,7854	~ 1,0000 0,6262	~ 1,0000 0,1912	~ 1,0000 0,0580
mb247 >TNT (2) R: 112,23	31		0,0261 3,0098	0,0086 3,3332	0,0015 3,7904
c739 >TNT (3) R: 77,017	30			~ 1,0000 0,4001	~ 1,0000 0,6734
H24 >TNT (4) R: 72,130	27				~ 1,0000 0,2426
NP1131 >TNT (5) R: 69,250	35				

Tabelle 22:

a) Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 32 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
CS Lauf 1 (18°C) (Gruppe I; ohne Reiz)	15	1,0142	> 0,20	< 0,05	= 0,0381
CS Lauf 1 18°C (Gruppe II; ohne Reiz)	15	1,1872	> 0,20	< 0,05	= 0,0827
CS Lauf 2 (Duft) 18°C	15	1,2228	> 0,20	< 0,05	= 0,0074
CS Lauf 2 (Duft) 30°C	15	1,2536	> 0,20	< 0,15	= 0,1263
GAL80^{ts} mb247-GAL4 >TNT (18°C) (Gruppe I; ohne Reiz)	15	1,2799	> 0,20	< 0,10	= 0,0936
GAL80^{ts} mb247-GAL4 >TNT (18°C) (Gruppe II; ohne Reiz)	15	0,9904	< 0,20	< 0,01	= 0,0286
GAL80^{ts} mb247-GAL4 >TNT (Duft) 18°C	15	1,3558	> 0,20	< 0,10	= 0,0254
GAL80^{ts} mb247-GAL4 >TNT (Duft) 30°C	15	1,5337	> 0,20	< 0,10	= 0,3431
GAL80^{ts} c739-GAL4 >TNT (18°C) (Gruppe I; ohne Reiz)	22	0,9081	< 0,10	< 0,01	= 0,0109
GAL80^{ts} c739-GAL4 >TNT (18°C) (Gruppe II; ohne Reiz)	22	1,0320	> 0,20	< 0,05	= 0,0099
GAL80^{ts} c739-GAL4 >TNT (Duft) 18°C	22	0,9501	< 0,05	< 0,01	= 0,0002
GAL80^{ts} c739-GAL4 >TNT (Duft) 30°C	22	0,9580	< 0,10	< 0,01	= 0,0274

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 32 (gepaart) mittels des Wilcoxon-Matched-Pairs-Test (WMP)

Genotyp	N	T	Z	p
CS (Gruppe I) Lauf 1 18°C ohne Reiz vs. CS nach 24 h 18°C	15	2,50	3,0050	0,0027
CS (Gruppe II) Lauf 1 18°C ohne Reiz vs. CS nach 24 h 30°C	15	23,00	1,8519	0,0640
<i>GAL80^{ts} mb247-GAL4>TNT</i> (Gruppe I) Lauf 1 18°C ohne Reiz vs. <i>GAL80^{ts} mb247-GAL4>TNT</i> nach 24 h 18°C	15	14,50	2,5842	0,0098
<i>GAL80^{ts} mb247-GAL4>TNT</i> (Gruppe II) Lauf 1 18°C ohne Reiz vs. <i>GAL80^{ts} mb247-GAL4>TNT</i> nach 24 h 30°C	15	8,00	2,7936	0,0052
<i>GAL80^{ts} c739-GAL4>TNT</i> (Gruppe I) Lauf 1 18°C ohne Reiz vs. <i>GAL80^{ts} c739-GAL4>TNT</i> nach 24 h 18°C	22	5,00	3,6218	0,0003
<i>GAL80^{ts} c739-GAL4>TNT</i> (Gruppe II) Lauf 1 18°C ohne Reiz vs. <i>GAL80^{ts} c739-GAL4>TNT</i> nach 24 h 30°C	22	75,50	0,4355	0,6632

c) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 32 (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) der verschiedenen Genotypen untereinander

Group	U	Z	2*1 sided exact p
CS 18°C vs. 30 °C	103,50	0,3733	0,7130
<i>GAL80^{ts} mb247-GAL4>TNT</i> 18°C vs. 30 °C	9,50	4,2722	< 10 ⁻⁵
<i>GAL80^{ts} c739-GAL4>TNT</i> 18°C vs. 30 °C	44,00	4,6476	< 10 ⁻⁵

Tabelle 23:

a) Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 33 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
CS Lauf 1 (18°C) (Gruppe I; ohne Reiz)	22	0,9501	> 0,20	< 0,01	= 0,0573
CS Lauf 1 (18°C) (Gruppe I; ohne Reiz)	22	1,0455	> 0,20	< 0,05	= 0,0745
CS Lauf 2 (Landmarke) 18°C	22	1,4355	> 0,20	> 0,20	= 0,1328
CS Lauf 2 (Landmarke) 30°C	22	1,4445	> 0,20	< 0,15	= 0,4216
<i>GAL80^{ts} mb247-GAL4>TNT</i> (18°C) (Gruppe I; ohne Reiz)	22	1,4325	> 0,20	< 0,10	= 0,1770
<i>GAL80^{ts} mb247-GAL4>TNT</i> (18°C) (Gruppe II; ohne Reiz)	22	1,1925	< 0,10	< 0,01	= 0,0143
<i>GAL80^{ts} mb247-GAL4>TNT</i> (Landmarke) 18°C	22	1,0650	> 0,20	< 0,10	= 0,0770
<i>GAL80^{ts} mb247-GAL4>TNT</i> (Landmarke) 30°C	22	1,2527	> 0,20	< 0,15	= 0,0541
<i>GAL80^{ts} c739-GAL4>TNT</i> (18°C) (Gruppe I; ohne Reiz)	23	1,1246	< 0,10	< 0,01	= 0,0219

GAL80^{ts} c739-GAL4>TNT (18°C) (Gruppe I; ohne Reiz)	22	1,4241	> 0,20	< 0,01	= 0,0311
GAL80^{ts} c739-GAL4>TNT (Landmarke) 18°C	23	0,9283	<0,05	< 0,01	= 0,0056
GAL80^{ts} c739-GAL4>TNT (Landmarke) 30°C	22	1,2247	> 0,20	< 0,01	= 0,2250

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 33 (gepaart) mittels des Wilcoxon-Matched-Pairs-Test (WMP)

Genotyp	N	T	Z	p
CS (Gruppe I) <i>Lauf 1 18°C ohne Reiz vs. CS nach 24 h 18°C</i>	22	15,00	3,2194	0,0013
CS (Gruppe II) <i>Lauf 1 18°C ohne Reiz vs. CS nach 24 h 30°C</i>	22	17,50	2,6113	0,0090
GAL80^{ts} mb247-GAL4>TNT (Gruppe I) <i>Lauf 1 18°C ohne Reiz vs. GAL80^{ts} mb247-GAL4>TNT nach 24 h 18°C</i>	22	22,00	2,9377	0,0033
GAL80^{ts} mb247-GAL4>TNT (Gruppe II) <i>Lauf 1 18°C ohne Reiz vs. GAL80^{ts} mb247-GAL4>TNT nach 24 h 30°C</i>	22	30,00	1,9649	0,0494
GAL80^{ts} c739-GAL4>TNT (Gruppe I) <i>Lauf 1 18°C ohne Reiz vs. GAL80^{ts} c739-GAL4>TNT nach 24 h 18°C</i>	23	38,50	2,4826	0,0130
GAL80^{ts} c739-GAL4>TNT (Gruppe II) <i>Lauf 1 18°C ohne Reiz vs. GAL80^{ts} c739-GAL4>TNT nach 24 h 30°C</i>	22	69,00	0,7186	0,4724

c) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 33 (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) der verschiedenen Genotypen untereinander

Group	U	Z	2*1 sided exact p
CS 30°C vs. 18 °C	235,0	0,1643	0,8799
GAL80^{ts} mb247-GAL4 >TNT 30°C vs. 18 °C	59,0	4,2955	< 10 ⁻⁵
GAL80^{ts} c739-GAL4 >TNT 30°C vs. 18 °C	80,5	3,9167	< 10 ⁻⁵

Tabelle 24:

a) Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 34 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
mb247-GAL4>NaChBac (Lauf 1) (Gruppe I; ohne Reiz)	25	1,1790	< 0,15	< 0,01	= 0,0641
mb247-GAL4>NaChBac (Lauf 1) (Gruppe II; ohne Reiz)	25	0,9967	< 0,15	< 0,01	= 0,0124
mb247-GAL4>NaChBac (Lauf 2) LM	25	1,0198	> 0,20	< 0,05	= 0,0395
mb247-GAL4>NaChBac (Lauf 2) keine LM	25	0,7371	< 0,01	< 0,01	= 0,0001
NaChBac/+ (Lauf 1) (Gruppe I; ohne Reiz)	26	1,2184	< 0,10	< 0,01	= 0,0004
NaChBac/+ (Lauf 1) (Gruppe II; ohne Reiz)	26	1,0495	< 0,20	< 0,01	= 0,0041
NaChBac/+ (Lauf 2)	26	0,8918	< 0,05	< 0,01	= 0,0019

LM					
NaChBac/+ (Lauf 2) keine LM	26	0,9381	< 0,05	< 0,01	= 0,0093
+/ <i>mb247</i> -GAL4 (Lauf 1) (Gruppe I; ohne Reiz)	25	0,8327	< 0,10	< 0,01	= 0,0008
+/ <i>mb247</i> -GAL4 (Lauf 1) (Gruppe I; ohne Reiz)	25	0,9713	< 0,20	< 0,01	= 0,0159
+/ <i>mb247</i> -GAL4 (Lauf 2/LM)	25	0,9574	< 0,15	< 0,01	= 0,0302
+/ <i>mb247</i> -GAL4 (Lauf 2/keine LM)	25	0,8888	< 0,10	< 0,01	= 0,0180

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 34 (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) der verschiedenen Genotypen untereinander

I) *mb247*-GAL4>NaChBac

Group	U	Z	2*1 sided exact p
<i>mb247</i> -GAL4>NaChBac Lauf 2 LM vs. Lauf 2 keine LM	175,5	2,8562	0,0071
NaChBac/+ Lauf 2 LM vs. Lauf 2 keine LM	104,5	4,2733	< 10 ⁻⁵
+/ <i>mb247</i> -GAL4 Lauf 2 LM vs. Lauf 2 keine LM	111,0	3,9097	< 10 ⁻⁵

c) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 34 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

I) Lauf 1 ohne Reiz

Genotyp	(2)	(3)
K-Wallis-Test: H(8, N=304)=95,6050 p< 10 ⁻⁵		
<i>mb247</i> -GAL4>NaChBac ohne Reiz (1) R: 168,18	0,4457 2,5011	0,0057 3,7758
NaChBac/+ ohne Reiz (2) R: 124,63		~ 1,0000 1,3115
+/ <i>mb247</i> -GAL4 ohne Reiz (3) R: 101,80	--	--

II) Lauf 2 mit Landmarke

Genotyp	(2)	(3)
K-Wallis-Test: H(8, N=304)=95,6050 p< 10 ⁻⁵		
<i>mb247</i> -GAL4>NaChBac mit Landmarke (1) R: 243,3	~ 1,0000 1,5157	~ 1,0000 2,0465
NaChBac/+ mit Landmarke (2) R: 205,98		~ 1,0000 0,5508
+/ <i>mb247</i> -GAL4 mit Landmarke (3) R: 192,42	--	--

III) Lauf 2 ohne Landmarke

Genotyp	(2)	(3)
K-Wallis-Test: H(8, N=304)=95,6050 p< 10 ⁻⁵		
<i>mb247</i> -GAL4>NaChBac ohne Landmarke (1) R: 199,46	0,0033 3,9106	0,0018 4,0608
NaChBac/+ mit Landmarke (2) R: 103,17	--	~ 1,0000 0,1898

+/<i>mb247</i>-GAL4 mit Landmarke (3) R: 98,50	--	--
--	----	----

Tabelle 25:

a) Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 35 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
<i>mb247</i> -GAL4>NaChBac	75	0,9931	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵
NaChBac/+	78	1,0697	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵
+/ <i>mb247</i> -GAL4	75	0,8928	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 35 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)
K-Wallis-Test: $H(2, N=228)=38,5496$ $p < 10^{-5}$		
<i>mb247</i> -GAL4>NaChBac R: 151,12	< 10 ⁻⁵ 4,5488	< 10 ⁻⁵ 5,6501
NaChBac/+ R: 102,60	--	0,7425 1,1564
+/ <i>mb247</i> -GAL4 R: 90,26	--	--

Neuropeptid F (NPF) im Paradigma des motivierten Kletterverhaltens

Tabelle 26:

a) Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 36 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
<i>npf</i> > <i>npf</i> RNAi Lauf 1: ohne Reiz (Gruppe I)	21	1,4007	< 0,01	< 0,01	= 0,0001
<i>npf</i> > <i>npf</i> RNAi Lauf 1: ohne Reiz (Gruppe II)	21	0,8701	< 0,05	< 0,01	= 0,0013
<i>npf</i> > <i>npf</i> RNAi Lauf 2: Landmarke	21	1,2649	< 0,20	< 0,01	= 0,0457
<i>npf</i> > <i>npf</i> RNAi Lauf 2: keine Landmarke	21	0,9562	< 0,10	< 0,01	= 0,0158
<i>or83b</i> > <i>npf</i> RNAi Lauf 1: ohne Reiz (Gruppe I)	18	0,9235	< 0,15	< 0,01	= 0,0236
<i>or83b</i> > <i>npf</i> RNAi Lauf 1: ohne Reiz (Gruppe II)	18	0,9984	< 0,20	< 0,01	= 0,0084
<i>or83b</i> > <i>npf</i> RNAi Lauf 2: Landmarke	18	1,0432	> 0,20	< 0,05	= 0,0494
<i>or83b</i> > <i>npf</i> RNAi Lauf 2: keine Landmarke	18	1,2113	> 0,20	< 0,05	= 0,0966

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 36 (gepaart) mittels des Wilcoxon-Matched-Pairs-Test (WMP)

Genotyp	N	T	Z	p
<i>npf</i> > <i>npf</i> RNAi Lauf 1 (Gruppe I) vs. <i>npf</i> > <i>npf</i> RNAi nach 24 h (Landmarke)	21	24,00	2,4853	0,0129
<i>npf</i> > <i>npf</i> RNAi Lauf 1 (Gruppe II) vs. <i>npf</i> > <i>npf</i> RNAi nach 24 h (keine LM)	21	25,50	2,1976	0,0280
<i>or83b</i> > <i>npf</i> RNAi Lauf 1 (Gruppe I) vs. <i>or83b</i> > <i>npf</i> RNAi nach 24 h (Landmarke)	18	12,00	2,5424	0,0110
<i>or83b</i> > <i>npf</i> RNAi Lauf 1 (Gruppe I) vs. <i>or83b</i> > <i>npf</i> RNAi nach 24 h (keine LM)	18	27,00	0,0510	0,9594
<i>npf</i> > <i>npf</i> RNAi nach 24 h (Landmarke) vs. <i>npf</i> > <i>npf</i> RNAi nach 24 h (keine LM)	21	32,50	2,0829	0,0373
<i>or83b</i> > <i>npf</i> RNAi nach 24 h (Landmarke) vs. <i>or83b</i> > <i>npf</i> RNAi nach 24 h (keine LM)	18	9,00	2,7308	0,0063

Erzeugung eines depressionsähnlichen Zustands in *Drosophila melanogaster*

Charakterisierung eines depressionsähnlichen Verhaltens von *Drosophila* als Antwort auf konstante Stressreizung

Tabelle 27:

a) Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 37 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest Gruppe Stress	50	0,7825	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵
Pretest Gruppe Kontrolle	50	0,7071	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵
Test a Gruppe Stress	20	1,3018	< 0,20	< 0,01	= 0,0606
Test a Gruppe Kontrolle	20	1,1743	< 0,15	< 0,01	= 0,1166
Test b Gruppe Stress	15	1,7182	> 0,20	> 0,20	= 0,7916
Test b Gruppe Kontrolle	14	0,9972	> 0,20	< 0,05	= 0,1737
Test Gruppe Stress	15	1,5523	< 0,20	< 0,01	= 0,0382
Test Gruppe Kontrolle	15	1,3558	> 0,20	< 0,15	= 0,1543

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 37 (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) an verschiedenen Tagen untereinander

Group	U	Z	2*1 sided exact p
Pretest Stress vs. Kontrolle	1159,00	-0,6273	0,5343
Test a Stress vs. Kontrolle	195,50	-0,1217	0,9042
Test b Stress vs. Kontrolle	79,00	-1,1347	0,2703
Test Stress vs. Kontrolle	37,00	-3,1316	0,0012

c) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 37 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
K-Wallis-Test: H(7,N=199)=37,4259 p< 10 ⁻⁵							
Pretest/Stress (1) R: 111,93	~ 1,0000 0,5444	~ 1,0000 0,6337	~ 1,0000 0,4745	0,2633 2,5970	~ 1,0000 1,4234	< 10 ⁻⁵ 4,6516	~ 1,0000 0,6270
Pretest/Kontr (2) R: 118,20	--	~ 1,0000 1,0452	~ 1,0000 0,8860	0,0843 2,9668	~ 1,0000 1,7835	< 10 ⁻⁵ 5,0214	~ 1,0000 0,9968
Test a/Stress (3) R: 102,28	--	--	~ 1,0000 0,1332	~ 1,0000 1,7475	~ 1,0000 0,7540	0,0122 3,5183	~ 1,0000 0,0496
Test a/Kontr (4) R: 104,70	--	--	--	~ 1,0000 1,8708	~ 1,0000 0,8749	0,0076 3,6416	~ 1,0000 0,1728

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Test b/Stress (5) R: 67,90	--	--	--	--	~ 1,0000 0,8991	~ 1,0000 1,6564	~ 1,0000 1,5883
Test b/Kontr (6) R: 87,143	--	--	--	--	--	0,3223 2,5268	~ 1,0000 0,6615
Test/Stress (7) R: 33,067	--	--	--	--	--	--	0,0329 3,2447
Test/Kontr (8) R: 101,30	--	--	--	--	--	--	--

Tabelle 28:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens aus Abbildung 38 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest	154	1,2645	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵
Stress	70	1,2179	< 0,05	< 0,01	= 0,0011
Kontrolle	79	1,2946	< 0,05	< 0,01	= 0,0021

b) Vergleich der medianen Daten der Kletteraktivität aus Abbildung 38 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Group	(2)	(3)
K-Wallis-Test: $H(2, N=303)=149,7581$ $p < 10^{-5}$		
Pretest (1) R: 176,24	< 10 ⁻⁵ 10,5571	0,1140 2,0747
Stress (2) R: 42,914	--	< 10 ⁻⁵ 11,0202
Kontrolle (3) R: 201,40	--	--

Tabelle 29:

a) Überprüfung der Datensätze des Laufverhaltens aus Abbildung 39 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Stress	46	13,3221	> 0,20	< 0,15	= 0,0224
Kontrolle	51	12,0736	> 0,20	> 0,20	= 0,7206

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 39 (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) der beiden Gruppen Stress vs. Kontrolle im Laufverhalten

Group	U	Z	2*1 sided exact p
Gruppe mit Stress vs. Gruppe ohne Stress	772,00	-2,8971	0,0035

Tabelle 30:

a) Überprüfung der Datensätze des Balzverhaltens aus Abbildung 40A auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Stress	33	233,4105	< 0,05	< 0,01	= 0,0001
Kontrolle	34	189,6690	< 0,05	< 0,01	< 10 ⁻⁵

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 40A (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) der beiden Gruppen Stress vs. Kontrolle im Balzverhalten

Group	U	Z	2*1 sided exact p
Gruppe mit Stress vs. Gruppe ohne Stress	314,50	3,0914	0,0017

Tabelle 31:

a) Überprüfung der Datensätze des Balzverhaltens aus Abbildung 40B auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Stress (Balz)	35	250,9198	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵
Kontrolle (Balz)	31	147,9609	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 40B (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) der beiden Gruppen nach Balzstress vs. Kontrolle im Balzverhalten

Group	U	Z	2*1 sided exact p
Gruppe mit Stress (Balz) vs. Gruppe ohne Stress (Balz)	157,00	4,9523	< 10 ⁻⁵

Tabelle 32:

a) Überprüfung der Datensätze des Phototaxisverhaltens aus Abbildung 41 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Stress	63	24,5805	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵
Kontrolle	74	19,1411	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 41 (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) der beiden Gruppen Stress vs. Kontrolle im Phototaxisverhalten

Group	U	Z	2*1 sided exact p
Gruppe mit Stress vs. Gruppe ohne Stress	2231,50	0,4297	0,6684

Tabelle 33:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens aus Abbildung 42 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest	46	0,8879	< 0,01	< 0,01	= 0,0001
Test Gruppe Stress	41	1,2611	< 0,10	< 0,01	= 0,0129
Test Gruppe Kontrolle	44	1,3068	< 0,15	< 0,01	= 0,0078
Test 2 Gruppe Stress	20	1,1910	> 0,20	< 0,05	= 0,0157
Test 2 Gruppe Kontrolle	18	1,0966	> 0,20	< 0,10	= 0,0447

b) Vergleich der medianen Daten der Kletteraktivität aus Abbildung 42 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)
K-Wallis-Test: $H(4, N=169)=90,7414$ $p < 10^{-5}$				
Pretest (1) R: 121,00	< 10^{-5} 7,0326	~ 1,0000 0,8540	< 10^{-5} 4,9415	0,0740 2,6783
Test/Gr.Stress (2) R: 32,598	--	< 10^{-5} 5,3452	0,9071 1,6917	0,0057 3,4479
Test/Gr.Kontrolle (3) R: 107,97	--	--	0,0036 3,5674	0,9971 1,6463
Test 2/Gr.Stress (4) R: 58,150	--	--	--	0,7476 1,7819
Test 2/Gr.Kontrolle (5) R: 86,056	--	--	--	--

Untersuchung auf Divergenzen des depressionsähnlichen Verhaltens von *Drosophila* zu der erlernten Balzfrustration

Tabelle 34:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens aus Abbildung 43A auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest	45	0,7804	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵
Stress	41	1,0927	< 0,20	< 0,01	= 0,0138
Kontrolle	41	0,9500	< 0,01	< 0,01	= 0,0002

b) Vergleich der medianen Daten der Kletteraktivität aus Abbildung 43A mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Group	(2)	(3)
K-Wallis-Test: H(2,N=127)=4,0942 p=0,1291		
Pretest (1) R: 55,633	0,4257 1,4688	0,2191 1,7926
Stress (2) R: 67,305	--	~ 1,0000 0,3165
Kontrolle (3) R: 69,878	--	--

Tabelle 35:

a) Überprüfung der Datensätze des Laufverhaltens aus Abbildung 43B auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Stress	45	12,3822	> 0,20	> 0,20	= 0,4436
Kontrolle	43	12,1138	> 0,20	> 0,20	= 0,6549

b) Vergleich der normalverteilten Daten der Laufaktivität aus Abbildung 43B mittels des Student'schen t-Tests für unabhängige Stichproben.

Group	t	F	p
Gruppe Balzstress vs. Gruppe ohne Balzstress	-0,6840	1,0448	0,8883

Tabelle 36:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens aus Abbildung 44A auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest <i>npf-GAL4</i> > UAS- <i>npf</i> ^{cDNA}	17	1,0880	> 0,20	< 0,01	= 0,0064
Pretest CS	16	0,9309	< 0,15	< 0,01	= 0,0203
Test <i>npf-GAL4</i> > UAS- <i>npf</i> ^{cDNA}	34	1,5786	> 0,20	< 0,05	= 0,1648
Test CS	31	1,6017	< 0,15	< 0,01	= 0,0635

b) Vergleich der medianen Daten der Kletteraktivität aus Abbildung 44A mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Group	(2)	(3)	(4)
K-Wallis-Test: H(3,N=98)=48,2537 p< 10 ⁻⁵			
Pretest/ <i>npf-GAL4</i> > UAS- <i>npf</i> ^{cDNA} (1) R: 78,412	~ 1,0000 0,3129	< 10 ⁻⁵ 4,7428	< 10 ⁻⁵ 5,3445
Pretest/CS (2) R: 38,353	--	0,0001 4,2875	< 10 ⁻⁵ 4,8858
Test / <i>npf-GAL4</i> > UAS- <i>npf</i> ^{cDNA} (3) R: 75,313	--	--	~ 1,0000 0,8220
Test/CS (4) R: 32,548	--	--	--

Tabelle 37:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens aus Abbildung 44B auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest <i>npf-GAL4</i> > UAS- <i>npf</i> ^{RNAi}	43	1,1191	< 0,15	< 0,01	= 0,0012
Pretest <i>or83b-GAL4</i> > UAS- <i>npf</i> ^{RNAi}	43	1,1157	< 0,10	< 0,01	= 0,0016
Test/Stress <i>npf-GAL4</i> > UAS- <i>npf</i> ^{RNAi}	42	1,1088	< 0,15	< 0,01	= 0,0091
Test/Stress <i>or83b-GAL4</i> > UAS- <i>npf</i> ^{RNAi}	42	1,7539	> 0,20	< 0,10	= 0,3305
Test/Kontrolle <i>npf-GAL4</i> > UAS- <i>npf</i> ^{RNAi}	43	1,3753	< 0,10	< 0,01	= 0,0269
Test/Kontrolle <i>or83b-GAL4</i> > UAS- <i>npf</i> ^{RNAi}	42	1,4191	< 0,20	< 0,01	= 0,0741

b) Vergleich der medianen Daten der Kletteraktivität aus **Abbildung 44B** mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
K-Wallis-Test: $H(5, N=255)=95,3927$ $p < 10^{-5}$					
Pretest/<i>npf</i>-GAL4> UAS-<i>npf</i>^{RNAi} (1) R: 169,91	~ 1,0000 0,1067	< 10 ⁻⁵ 7,2547	< 10 ⁻⁵ 4,9604	0,0988 2,7172	~ 1,0000 0,8312
Pretest/<i>or83b</i>-GAL4> UAS-<i>npf</i>^{RNAi} (2) R: 50,655	--	< 10 ⁻⁵ 7,5588	< 10 ⁻⁵ 5,0665	0,0712 2,8239	~ 1,0000 0,9373
Test(Stress)/<i>npf</i>-GAL4> UAS-<i>npf</i>^{RNAi} (3) R: 126,69	--	--	0,1983 2,4779	< 10 ⁻⁵ 4,7516	< 10 ⁻⁵ 6,5830
Test(Stress)/<i>or83b</i>-GAL4> UAS-<i>npf</i>^{RNAi} (4) R: 171,60	--	--	--	0,3580 2,2592	0,0006 4,1051
Test(Kontr)/<i>npf</i>-GAL4> UAS-<i>npf</i>^{RNAi} (5) R: 90,536	--	--	--	--	0,9224 1,8699
Test(Kontr)/<i>or83b</i>-GAL4> UAS-<i>npf</i>^{RNAi} (6) R: 156,61	--	--	--	--	--

Tabelle 38:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens von *rut*¹ aus **Abbildung 45A** auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest (<i>rut</i>¹)	51	1,0167	< 0,01	< 0,01	= 0,0002
Stress (<i>rut</i>¹)	46	1,1583	< 0,10	< 0,01	= 0,0111
Kontrolle (<i>rut</i>¹)	42	1,2605	< 0,15	< 0,01	= 0,0155

b) Vergleich der medianen Daten der Kletteraktivität von *rut*¹ aus **Abbildung 45A** mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Group	(2)	(3)
K-Wallis-Test: $H(2, N=139)=50,5958$ $p < 10^{-5}$		
Pretest (<i>rut</i>¹) (1) R: 84,206	< 10 ⁻⁵ 5,8313	~ 1,0000 0,6295
Stress (<i>rut</i>¹) (2) R: 36,457	--	< 10 ⁻⁵ 6,1704
Kontrolle (<i>rut</i>¹) (3) R: 89,488	--	--

Tabelle 39:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens von *dnc*¹ aus **Abbildung 45B** auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest (<i>dnc</i>¹)	49	1,1173	< 0,15	< 0,01	= 0,0024
Stress (<i>dnc</i>¹)	24	1,3805	> 0,20	< 0,15	= 0,1513
Kontrolle (<i>dnc</i>¹)	24	0,9237	< 0,10	< 0,01	= 0,0093

b) Vergleich der medianen Daten der Kletteraktivität von dnc^1 aus Abbildung 45B mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Group	(2)	(3)
K-Wallis-Test: $H(2, N=97)=51,3956$ $p < 10^{-5}$		
Pretest (dnc^1) (1) R: 64,347	$< 10^{-5}$ 7,0282	0,2076 0,6295
Stress (dnc^1) (2) R: 15,063	--	$< 10^{-5}$ 4,4975
Kontrolle (dnc^1) (3) R: 51,604	--	--

Tabelle 40:

a) Überprüfung der Datensätze des Laufverhaltens von dnc^1 aus Abbildung 45C auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Stress (dnc^1)	48	13,0373	$> 0,20$	$< 0,05$	= 0,0007
Kontrolle (dnc^1)	47	17,1251	$> 0,20$	$> 0,20$	= 0,7066

b) Vergleich der medianen Daten des Laufverhaltens von dnc^1 aus Abbildung 45C (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) der beiden Gruppen Stress vs. Kontrolle im Laufverhalten

Group	U	Z	2*1 sided exact p
Gruppe mit Stress (dnc^1) vs. Gruppe ohne Stress (dnc^1)	698,00	-3,2008	0,0012

Tabelle 41:

a) Überprüfung der Datensätze des Balzverhaltens bei einer Kombination aus Stress und Saccharose aus Abbildung 46A auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Stress	33	233,4105	$< 0,05$	$< 0,01$	= 0,0001
Kontrolle	34	189,6690	$< 0,05$	$< 0,01$	$< 10^{-5}$
Stress mit Sacc.	14	146,1605	$< 0,05$	$< 0,01$	$< 10^{-5}$
Kontrolle mit Sacc.	15	211,2935	$< 0,05$	$< 0,01$	$< 10^{-5}$

b) Vergleich der medianen Daten des Balzverhaltens bei einer Kombination aus Stress und Saccharose aus Abbildung 46A mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Group	(2)	(3)	(4)
K-Wallis-Test: $H(3, N=96)=15,1978$ $p=0,0017$			
Stress (1) R: 63,424	0,0127 3,0738	0,0825 2,4635	0,0086 3,1883
Kontrolle (2) R: 42,50	--	~ 1,0000 0,1090	~ 1,0000 0,7798
Stress mit Sacc. (3) R: 41,536	--	--	~ 1,0000 0,5573
Kontrolle mit Sacc. (4) R: 35,767	--	--	--

Tabelle 42:

a) Überprüfung der Datensätze des Balzverhaltens bei einer Kombination aus Balzstress und Saccharose aus Abbildung 46B auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Balzstress	35	250,9198	< 0,01	< 0,01	< 10^{-5}
Kontrolle	31	147,9609	< 0,01	< 0,01	< 10^{-5}
Balzstress mit Sacc.	14	262,4861	> 0,20	< 0,01	= 0,0025
Kontrolle mit Sacc.	10	182,4128	< 0,05	< 0,01	< 10^{-5}

b) Vergleich der medianen Daten des Balzverhaltens bei einer Kombination aus Balzstress und Saccharose aus Abbildung 46B mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Group	(2)	(3)	(4)
K-Wallis-Test: $H(3, N=90)=33,3661$ $p < 10^{-5}$			
Stress (1) R: 60,857	< 10^{-5} 4,8416	~ 1,0000 0,4626	0,0007 3,8599
Kontrolle (2) R: 29,661	--	0,0068 3,2541	~ 1,0000 0,5222
Stress mit Sacc. (3) R: 57,036	--	--	0,0168 2,9894
Kontrolle mit Sacc. (4) R: 24,70	--	--	--

Einfluss des Neurotransmitters Serotonin auf das depressionsähnlichen Verhaltens von *Drosophila*

Tabelle 43:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei einer Verfütterung von 5HTP und Saccharose nach Stress aus Abbildung 47 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest	29	0,8408	< 0,01	< 0,01	= 0,0004
Test	29	1,2653	> 0,20	< 0,05	= 0,1232
Test 2 mit 5HTP	14	1,3927	> 0,20	> 0,20	= 0,6943
Test 2 mit Saccharose	14	1,3114	> 0,20	> 0,20	= 0,1666

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei einer Verfütterung von 5HTP und Saccharose nach Stress aus Abbildung 47 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Group	(2)	(3)	(4)
K-Wallis-Test: $H(3, N=86)=42,6507$ $p < 10^{-5}$			
Pretest (1) R: 64,121	< 10^{-5} 6,3366	0,2866 1,9794	0,0153 3,0166
Test (2) R: 22,569	--	0,0104 3,1339	0,2161 2,0967
Test 2 mit 5HTP (3) R: 48,036	--	--	~ 1,0000 0,8931
Test 2 mit Saccharose (4) R: 39,607	--	--	--

Tabelle 44:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei einer Verfütterung von 5HTP und Saccharose nach Stress aus Abbildung 48 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Stress + H₂O	19	1,1081	> 0,20	< 0,05	= 0,0092
Stress + 5HTP	19	1,3892	> 0,20	< 0,05	= 0,0064
Stress + 5HTP + Sacc.	14	1,3927	> 0,20	> 0,20	= 0,6943
Stress + Sacc.	14	1,3114	> 0,20	> 0,20	= 0,1666

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei einer Verfütterung von 5HTP und Saccharose nach Stress aus Abbildung 48 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Group	(2)	(3)	(4)
K-Wallis-Test: H(3,N=66)=16,2516 p=0,0010			
Pretest (1) R: 64,121	0,1007 2,3915	0,0012 3,7092	0,0337 2,7689
Test (2) R: 22,569	--	0,7920 1,5062	~ 1,0000 0,5660
Test 2 mit 5HTP (3) R: 48,036	--	--	~ 1,0000 0,8762
Test 2 mit Saccharose (4) R: 39,607	--	--	--

Tabelle 45:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei einer Verfütterung eines 5HT-Inhibitors und Saccharose nach Stress aus Abbildung 49 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest	105	1,1105	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵
Test	103	1,3691	< 0,01	< 0,01	= 0,0003
Test 2 mit H₂O	24	1,3486	< 0,10	< 0,01	= 0,0123
Test 2 mit Sacc.	25	1,1180	< 0,15	< 0,01	= 0,0275
Test 2 mit αMTP	26	1,5616	< 0,20	< 0,01	= 0,0802
Test 2 mit αMTP & Sacc.	26	1,0325	> 0,20	< 0,01	= 0,0295

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei Verfütterung eines 5HT-Inhibitors und Saccharose nach Stress aus Abbildung 49 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
K-Wallis-Test: H(5,N=309)=208,8431 p< 10 ⁻⁵					
Pretest (1) R: 242,53	< 10 ⁻⁵ 11,2570	< 10 ⁻⁵ 8,6472	~ 1,0000 0,7840	< 10 ⁻⁵ 8,0892	< 10 ⁻⁵ 7,8190
Test (2) R: 103,05	--	~ 1,0000 1,7441	< 10 ⁻⁵ 6,2195	~ 1,0000 0,9606	~ 1,0000 0,6909
Test 2 mit H₂O (3) R: 67,729	--	--	< 10 ⁻⁵ 6,2356	~ 1,0000 0,6517	~ 1,0000 0,8608
Test 2 mit Sacc. (4) R: 226,94	--	--	--	< 10 ⁻⁵ 5,7031	< 10 ⁻⁵ 5,4918
Test 2 mit αMTP (5) R: 84,212	--	--	--	--	~ 1,0000 0,2431
Test 2 mit αMTP & Sacc. (6) R: 89,50	--	--	--	--	--

Tabelle 46:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei einer mehrtägigen Verfütterung eines 5HT-Inhibitors und Saccharose ohne Stress aus Abbildung 50 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest	86	1,0722	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵
Test mit H₂O	38	1,2681	< 0,05	< 0,01	= 0,0095
Test mit Sacc.	38	1,1252	< 0,15	< 0,01	= 0,0249
Test mit αMTP	41	1,5496	< 0,10	< 0,01	= 0,0509
Test mit αMTP & Sacc.	40	1,6132	< 0,15	< 0,01	= 0,0112

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei mehrtägiger Verfütterung eines 5HT-Inhibitors und Saccharose ohne Stress aus Abbildung 50 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)
K-Wallis-Test: H(4,N=243)=44,2417 p< 10 ⁻⁵				
Pretest (1) R: 129,76	~ 1,0000 1,1431	0,5917 1,8869	~ 1,0000 1,5677	< 10 ⁻⁵ 4,8386
Test mit H₂O (2) R: 145,41	--	~ 1,0000 0,6315	0,2088 2,3102	< 10 ⁻⁵ 5,0709
Test mit Sacc. (3) R: 155,59	--	--	0,0314 2,9536	< 10 ⁻⁵ 5,7105
Test mit αMTP (4) R: 108,84	--	--	--	0,0468 2,8281
Test mit αMTP & Sacc. (5) R: 64,662	--	--	--	--

Tabelle 47:

a) Überprüfung der Datensätze der Quantifizierung der Serotonin-Intensität in den Ellipsoidkörpern von *Drosophila* aus Abbildung 52 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Gruppe Saccharose	8	0,4711	> 0,20	< 0,15	= 0,0245
Gruppe H₂O	8	0,4244	> 0,20	> 0,20	= 0,9998
Gruppe Saccharose mit αMTP	11	0,2603	> 0,20	> 0,20	= 0,5193

b) Vergleich der normalverteilten Daten der Quantifizierung der Serotonin-Intensität aus Abbildung 52 mittels des Student'schen t-Tests für unabhängige Stichproben.

Group	(2)	(3)
K-Wallis-Test: $H(2, N=27)=8,2273$ $p=0,0163$		
Gruppe Saccharose (1) R: 20,750	0,0421 2,4568	0,0305 2,5697
Gruppe H₂O (2) R: 11,00	--	~ 1,0000 0,0739
Gruppe Saccharose + αMTP (3) R: 11,273	--	--

Tabelle 48:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei einer Blockade der Weiterleitung der synaptischen Transmission mittels des *Trh*-GAL4-Treibers bei Stress aus Abbildung 53 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest <i>Trh</i> -GAL4> UAS-TNT	54	0,8150	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵
Pretest UAS-TNT/+	25	0,8124	< 0,10	< 0,01	= 0,0026
Pretest CS	49	0,8912	< 0,05	< 0,01	= 0,0001
Test <i>Trh</i> -GAL4> UAS-TNT	25	1,1547	> 0,20	< 0,01	= 0,0833
Test UAS-TNT/+	23	1,1672	< 0,15	< 0,01	= 0,0038
Test CS	25	1,0770	> 0,20	< 0,01	= 0,0182
Test 2 mit Sacc. <i>Trh</i> -GAL4> UAS-TNT	25	1,2247	> 0,20	< 0,10	= 0,1494
Test 2 mit Sacc. UAS-TNT/+	25	0,8524	< 0,10	< 0,01	= 0,0060
Test 2 mit Sacc. CS	25	0,8206	< 0,05	< 0,01	= 0,0014

Rolle des Pilzkörpers in dem depressionsartigen Verhalten von *Drosophila melanogaster*

Tabelle 49:

A.a) Überprüfung der Datensätze der Quantifizierung der Serotonin-Intensität in den α -Loben des Pilzkörpers von *Drosophila* aus Abbildung 55A auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Gruppe Kontrolle	24	0,4629	> 0,20	> 0,20	= 0,0458
Gruppe Stress	26	0,4158	> 0,20	< 0,10	= 0,0209

A.b) Vergleich der medianen Daten der Quantifizierung der Serotonin-Intensität in den α -Loben des Pilzkörpers aus Abbildung 55A (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) der beiden Gruppen Stress vs. Kontrolle

Group	U	Z	2*1 sided exact p
Gruppe mit Stress vs. Gruppe ohne Stress	181,00	2,5438	0,0104

B.a) Überprüfung der Datensätze der Quantifizierung der Serotonin-Intensität in den β -Loben des Pilzkörpers von *Drosophila* aus Abbildung 55B auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Gruppe Kontrolle	24	0,3900	> 0,20	< 0,10	= 0,0343
Gruppe Stress	26	0,2644	> 0,20	< 0,10	= 0,1862

A.b) Vergleich der medianen Daten der Quantifizierung der Serotonin-Intensität in den β -Loben des Pilzkörpers aus Abbildung 55B (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) der beiden Gruppen Stress vs. Kontrolle

Group	U	Z	2*1 sided exact p
Gruppe mit Stress vs. Gruppe ohne Stress	181,00	2,5438	0,0104

Tabelle 50:

a) Überprüfung der Datensätze der Quantifizierung der Serotonin-Intensität in dem Ellipsoidkörper von *Drosophila* aus Abbildung 57 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Gruppe Kontrolle	12	0,2386	> 0,20	< 0,05	= 0,1307
Gruppe Stress	12	0,2441	> 0,20	> 0,20	= 0,6657

b) Vergleich der medianen Daten der Quantifizierung der Serotonin-Intensität in dem Ellipsoidkörper von *Drosophila* aus Abbildung 57 (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) der beiden Gruppen Stress vs. Kontrolle

Group	U	Z	2*1 sided exact p
Gruppe mit Stress vs. Gruppe ohne Stress	49,00	-1,3279	0,1978

Tabelle 51:

a) Überprüfung der Datensätze der Quantifizierung der Serotonin-Intensität zwischen den Gehirnstrukturen in Einzelköpfen *Drosophila* aus Abbildung 58 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Gruppe Kontrolle	12	0,4265	> 0,20	< 0,15	= 0,0632
Gruppe Stress	13	0,1856	> 0,20	< 0,20	= 0,0653

b) Vergleich der normalverteilten Daten der Quantifizierung der Serotonin-Intensität aus Abbildung 58 mittels des Student'schen t-Tests für unabhängige Stichproben.

Group	t	F	p
Gruppe mit Stress vs. Gruppe ohne Stress	2,3142	5,2771	0,0297

c) Vergleich der medianen Daten der Quantifizierung der Serotonin-Intensität aus Abbildung 58 (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) der beiden Gruppen Stress vs. Kontrolle

Group	U	Z	2*1 sided exact p
Gruppe mit Stress vs. Gruppe ohne Stress	40,00	-2,0669	0,0398

Tabelle 52:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei einer Blockade der Weiterleitung der synaptischen Transmission mittels des *mb247-GAL4*-Treibers bei Stress aus Abbildung 59 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest <i>mb247-GAL4</i> > UAS-TNT	46	0,9631	< 0,05	< 0,01	= 0,0012
Pretest UAS-TNT/+	25	0,8124	< 0,10	< 0,01	= 0,0026
Pretest CS	41	1,2147	< 0,05	< 0,01	= 0,0001
Test (Stress) <i>mb247-GAL4</i> > UAS-TNT	42	1,1527	< 0,01	< 0,01	= 0,0028
Test (Stress) UAS-TNT/+	24	1,1672	< 0,15	< 0,01	= 0,0038
Test (Stress) CS	41	1,1991	> 0,15	< 0,01	= 0,0102
Test (Kontrolle) <i>mb247-GAL4</i> > UAS-TNT	35	1,0025	< 0,05	< 0,01	= 0,0053
Test (Kontrolle) CS	35	1,2244	> 0,20	< 0,01	= 0,0715

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei einer Blockade der Weiterleitung der synaptischen Transmission mittels des *mb247*-GAL4-Treibers bei Stress aus Abbildung 59 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
K-Wallis-Test: $H(7, N=283)=167,9219$ $p < 10^{-5}$							
Pretest (1) <i>mb247</i> >UAS-TNT R: 199,75	~ 1,0000 1,7512	0,0355 3,2231	~ 1,0000 1,7012	$< 10^{-5}$ 7,9754	$< 10^{-5}$ 9,3722	~ 1,0000 0,3000	0,4049 2,4456
Pretest (2) UAS-TNT/+ R: 164,14	--	~ 1,0000 1,0133	~ 1,0000 0,2852	$< 10^{-5}$ 5,5048	$< 10^{-5}$ 6,2180	~ 1,0000 1,9186	~ 1,0000 0,5304
Pretest (3) CS R: 143,10	--	--	~ 1,0000 1,4993	$< 10^{-5}$ 5,1204	$< 10^{-5}$ 5,9797	0,0270 3,3004	~ 1,0000 0,4631
Test/Stress (4) <i>mb247</i> >UAS-TNT R: 170,04	--	--	--	$< 10^{-5}$ 6,4294	$< 10^{-5}$ 7,5149	~ 1,0000 1,8804	~ 1,0000 0,8979
Test/Stress (5) UAS-TNT/+ R: 35,396	--	--	--	--	~ 1,0000 0,0182	$< 10^{-5}$ 7,8315	$< 10^{-5}$ 5,1762
Test/Stress (6) CS R: 35,012	--	--	--	--	--	$< 10^{-5}$ 9,0392	$< 10^{-5}$ 5,9062
Test/Kontrolle (7) <i>mb247</i> >UAS-TNT R: 205,26	--	--	--	--	--	--	0,2788 2,5773
Test/Kontrolle (8) CS R: 152,29	--	--	--	--	--	--	--

Tabelle 53:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei einer Blockade der Weiterleitung der synaptischen Transmission mittels des *Trh493*-GAL4-Treibers bei Stress aus Abbildung 61 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest <i>Trh493</i> -GAL4> UAS-TNT	23	0,8528	$< 0,01$	$< 0,01$	= 0,0003
Pretest UAS-TNT/+	25	0,8124	$< 0,10$	$< 0,01$	= 0,0026
Test (Stress) <i>Trh493</i> -GAL4> UAS-TNT	23	1,3112	$> 0,20$	$< 0,05$	= 0,1251
Test (Stress) UAS-TNT/+	24	1,1672	$< 0,15$	$< 0,01$	= 0,0038
Test (Sacc.) <i>Trh493</i> -GAL4> UAS-TNT	23	1,2777	$> 0,20$	$< 0,01$	= 0,0310
Test (Sacc.) UAS-TNT/+	25	0,8524	$< 0,10$	$< 0,01$	= 0,0060

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei einer Blockade der Weiterleitung der synaptischen Transmission mittels des *Trh493-GAL4*-Treibers bei Stress aus Abbildung 61 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
K-Wallis-Test: $H(5, N=143)=103,5219$ $p < 10^{-5}$					
Pretest (1) R: 107,24	~ 1,0000 0,2374	$< 10^{-5}$ 5,7749	$< 10^{-5}$ 6,2262	$< 10^{-5}$ 5,3425	~ 1,0000 0,6032
Test (2) R: 110,08	--	$< 10^{-5}$ 6,1314	$< 10^{-5}$ 6,5974	$< 10^{-5}$ 5,6900	~ 1,0000 0,8586
Test 2 mit H₂O (3) R: 36,696	--	--	~ 1,0000 0,3902	~ 1,0000 0,4325	$< 10^{-5}$ 5,2908
Test 2 mit Sacc. (4) R: 31,979	--	--	--	~ 1,0000 0,8272	$< 10^{-5}$ 5,7476
Test 2 mit αMTP (5) R: 41,978	--	--	--	--	$< 10^{-5}$ 4,8495
Test 2 mit αMTP & Sacc. (6) R: 100,02	--	--	--	--	--

Tabelle 54:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei einer Erhöhung der Membranerregbarkeit in serotonergen Neuronen im Muster des *Trh493-GAL4*-Treibers bei Stress aus Abbildung 62 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest <i>Trh493-GAL4</i> > UAS-NaChBac	45	0,7433	$< 0,01$	$< 0,01$	$= < 10^{-5}$
Pretest UAS-NaChBac/+	44	0,9634	$< 0,01$	$< 0,01$	$= 0,0005$
Test (Stress) <i>Trh493-GAL4</i> > UAS-NaChBac	43	1,1206	$< 0,05$	$< 0,01$	$= 0,0021$
Test (Stress) UAS-NaChBac/+	44	1,2449	$< 0,15$	$< 0,01$	$= 0,0212$
Test (Sacc.) <i>Trh493-GAL4</i> > UAS-NaChBac	20	0,8645	$< 0,10$	$< 0,01$	$= 0,0055$
Test (Sacc.) UAS-NaChBac/+	22	1,1622	$> 0,20$	$< 0,05$	$= 0,0622$
Test (Sacc. + αMTP) <i>Trh493-GAL4</i> > UAS-NaChBac	21	1,0282	$> 0,20$	$< 0,05$	$= 0,0215$
Test (Sacc. + αMTP) UAS-NaChBac/+	21	0,9636	$> 0,20$	$< 0,05$	$= 0,0531$

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei einer Erhöhung der Membranerregbarkeit in serotonergen Neuronen im Muster des *Trh493*-GAL4-Treibers bei Stress aus Abbildung 62 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
K-Wallis-Test: $H(7, N=260)=152,0367$ $p < 10^{-5}$							
Pretest (1) <i>Trh493>UAS-TNT</i> R: 167,43	~ 1,0000 0,8737	~ 1,0000 1,0494	~ 1,0000 6,9851	~ 1,0000 0,1835	~ 1,0000 1,1466	$< 10^{-5}$ 5,7413	$< 10^{-5}$ 6,2661
Pretest (2) UAS-NaChBac/+ R: 181,36	--	~ 1,0000 1,9075	$< 10^{-5}$ 7,8150	~ 1,0000 0,8698	~ 1,0000 0,4329	$< 10^{-5}$ 6,4191	$< 10^{-5}$ 6,9420
Test (3) <i>Trh493>UAS-TNT</i> R: 150,60	--	--	$< 10^{-5}$ 5,8625	~ 1,0000 0,6446	~ 1,0000 1,9916	$< 10^{-5}$ 4,8587	$< 10^{-5}$ 5,3796
Test (4) UAS-NaChBac/+ R: 56,068	--	--	--	$< 10^{-5}$ 5,3086	$< 10^{-5}$ 6,8138	~ 1,0000 0,1371	~ 1,0000 0,6600
Test (Sacc.) (5) <i>Trh493>UAS-TNT</i> R: 163,72	--	--	--	--	~ 1,0000 1,1250	0,0001 4,6984	$< 10^{-5}$ 5,1423
Test (Sacc.) (6) UAS-NaChBac/+ R: 189,86	--	--	--	--	--	$< 10^{-5}$ 5,9511	$< 10^{-5}$ 6,4057
Test (Sacc.+αMTP) (7) <i>Trh493>UAS-TNT</i> R: 53,33	--	--	--	--	--	--	~ 1,0000 0,4494
Test (Sacc.+αMTP) (8) UAS-NaChBac/+ R: 42,905	--	--	--	--	--	--	--

Rolle der Serotoninrezeptoren 5HT-1A und 5HT-1B im Pilzkörper in dem depressionsartigen Verhalten von *Drosophila melanogaster*

Tabelle 55:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei einem Knockdown der 5HT-1A-Expression in Neuronen des Pilzkörpers (*mb247-GAL4*) aus Abbildung 63 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest <i>mb247-GAL4</i> > UAS-5HT-1A ^{RNAi}	52	0,8042	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵
Pretest UAS-5HT-1A ^{RNAi} /+	52	0,7794	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵
Pretest +/ <i>mb247-GAL4</i>	52	0,8975	< 0,01	< 0,01	= 0,0001
Test <i>mb247-GAL4</i> > UAS-5HT-1A ^{RNAi}	26	1,3633	> 0,20	< 0,10	= 0,1371
Test UAS-5HT-1A ^{RNAi} /+	26	1,2026	> 0,20	< 0,05	= 0,1197
Test +/ <i>mb247-GAL4</i>	26	1,5237	< 0,15	< 0,01	= 0,0795
Test 2 mit Sacc. <i>mb247-GAL4</i> > UAS-5HT-1A ^{RNAi}	26	1,2508	< 0,10	< 0,01	= 0,0645
Test 2 mit Sacc. UAS-5HT-1A ^{RNAi} /+	24	1,1034	> 0,20	< 0,01	= 0,0185
Test 2 mit Sacc. +/ <i>mb247-GAL4</i>	26	1,2102	< 0,10	< 0,01	= 0,0174

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei einem Knockdown der 5HT-1A-Expression in Neuronen des Pilzkörpers (*mb247-GAL4*) aus Abbildung 63 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
K-Wallis-Test: H(8, N=310)=152,6476 p< 10 ⁻⁵								
Pretest (1) <i>mb247</i> >5HT-1A ^{RNAi} R: 187,84	~ 1,0000 0,2773	~ 1,0000 0,9354	< 10 ⁻⁵ 5,1991	< 10 ⁻⁵ 5,5073	< 10 ⁻⁵ 5,5555	< 10 ⁻⁵ 5,6475	~ 1,0000 1,3627	~ 1,0000 0,7284
Pretest (2) UAS-5HT-1A ^{RNAi} /+ R: 192,71	--	~ 1,0000 0,6580	< 10 ⁻⁵ 5,4255	< 10 ⁻⁵ 5,7337	< 10 ⁻⁵ 5,7819	< 10 ⁻⁵ 5,8739	~ 1,0000 1,1423	~ 1,0000 0,5020
Pretest (3) +/ <i>mb247-GAL4</i> R: 204,28	--	--	< 10 ⁻⁵ 5,9628	< 10 ⁻⁵ 6,2710	< 10 ⁻⁵ 6,3193	< 10 ⁻⁵ 6,4112	~ 1,0000 0,6194	~ 1,0000 0,0353
Test (4) <i>mb247</i> >5HT-1A ^{RNAi} R: 75,904	--	--	--	~ 1,0000 0,2669	~ 1,0000 0,3087	~ 1,0000 0,3883	< 10 ⁻⁵ 5,5996	< 10 ⁻⁵ 5,1334
Test (5) UAS-5HT-1A ^{RNAi} /+ R: 69,269	--	--	--	--	~ 1,0000 0,0418	~ 1,0000 0,1215	< 10 ⁻⁵ 5,8611	< 10 ⁻⁵ 5,4003
Test (6) +/ <i>mb247-GAL4</i> R: 68,231	--	--	--	--	--	~ 1,0000 0,0797	< 10 ⁻⁵ 5,9020	< 10 ⁻⁵ 5,4420
Test 2 mit Sacc. (7) <i>mb247</i> >5HT-1A ^{RNAi} R: 66,250	--	--	--	--	--	--	< 10 ⁻⁵ 5,9801	< 10 ⁻⁵ 5,5217
Test 2 mit Sacc. (8) UAS-5HT-1A ^{RNAi} /+ R: 217,98	--	--	--	--	--	--	--	~ 1,0000 0,5699

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Test 2 mit Sacc. (9) +/mb247-GAL4 R: 203,52	--	--	--	--	--	--	--	--

Tabelle 56:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei einem Knockdown der 5HT-1B-Expression in Neuronen des Pilzkörpers (*mb247-GAL4*) aus Abbildung 64 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegenteil durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest <i>mb247-GAL4</i> > UAS-5HT-1B ^{RNAi}	50	0,7890	< 0,05	< 0,01	< 10 ⁻⁵
Pretest UAS-5HT-1B ^{RNAi} /+	50	0,7273	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵
Pretest +/mb247-GAL4	52	0,8975	< 0,01	< 0,01	= 0,0001
Test <i>mb247-GAL4</i> > UAS-5HT-1B ^{RNAi}	24	1,0206	< 0,10	< 0,01	= 0,0206
Test UAS-5HT-1B ^{RNAi} /+	26	1,2006	> 0,20	< 0,05	= 0,1340
Test +/mb247-GAL4	26	1,5237	< 0,15	< 0,01	= 0,0795
Test 2 mit Sacc. <i>mb247-GAL4</i> > UAS-5HT-1B ^{RNAi}	24	1,3270	> 0,20	< 0,15	= 0,1000
Test 2 mit Sacc. UAS-5HT-1B ^{RNAi} /+	25	1,0985	> 0,20	< 0,01	= 0,0075
Test 2 mit Sacc. +/mb247-GAL4	26	1,2102	< 0,10	< 0,01	= 0,0174

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei einem Knockdown der 5HT-1B-Expression in Neuronen des Pilzkörpers (*mb247-GAL4*) aus Abbildung 64 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe. Aufgespalten nach Tagen:

1) Pretest

Group	(2)	(3)
K-Wallis-Test: $H(2, N=152)=30,7643$ $p < 10^{-5}$		
Pretest (1) <i>mb247-GAL4</i> > UAS-5HT-1B ^{RNAi} R: 94,130	< 10 ⁻⁵ 4,9849	0,8535 1,0702
Pretest (2) UAS-5HT-1B ^{RNAi} /+ R: 50,240	--	0,0002 3,9633
Pretest (3) +/mb247-GAL4 R: 84,798	--	--

II) Test

Group	(2)	(3)
K-Wallis-Test: $H(2, N=76)=28,0599$ $p < 10^{-5}$		
Test (1) <i>mb247-GAL4</i> > UAS-5HT-1B ^{RNAi} R: 56,146	$< 10^{-5}$ 5,1855	0,0065 3,0659
Test (2) UAS-5HT-1B ^{RNAi} /+ R: 23,731	--	0,0915 2,1633
Test (3) +/ <i>mb247-GAL4</i> R: 36,981	--	--

II) Test 2 mit Sacc.

Group	(2)	(3)
K-Wallis-Test: $H(2, N=75)=7,3992$ $p=0,0247$		
Test 2 mit Sacc. (1) <i>mb247-GAL4</i> > UAS-5HT-1B ^{RNAi} R: 31,083	$\sim 1,0000$ 0,7220	0,0339 2,5332
Test mit Sacc. (2) UAS-5HT-1B ^{RNAi} /+ R: 35,580	--	0,2947 1,8234
Test mit Sacc. (3) +/ <i>mb247-GAL4</i> R: 46,712	--	--

Tabelle 57:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei einer Blockade der Weiterleitung der synaptischen Transmission in den γ -Loben des Pilzkörpers mittels des *H24-GAL4*-Treibers bei Stress aus Abbildung 66A auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest <i>H24-GAL4</i> > UAS-TNT	22	0,9726	$> 0,20$	$< 0,05$	$= 0,0097$
Pretest UAS-TNT/+	25	0,8124	$< 0,10$	$< 0,01$	$= 0,0026$
Pretest +/ <i>H24-GAL4</i>	22	0,7799	$< 0,10$	$< 0,01$	$= 0,0059$
Test (Stress) <i>H24-GAL4</i> > UAS-TNT	22	1,2239	$> 0,20$	$< 0,10$	$= 0,0290$
Test (Stress) UAS-TNT/+	24	1,1672	$< 0,15$	$< 0,01$	$= 0,0038$
Test (Stress) <i>H24-GAL4</i> > UAS-TNT	22	0,2868	$< 0,15$	$< 0,01$	$= 0,0548$

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei einer Blockade der Weiterleitung der synaptischen Transmission in den γ -Loben des Pilzkörpers mittels des *H24-GAL4*-Treibers bei Stress aus Abbildung 66A mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
K-Wallis-Test: $H(5, N=137)=83,3922$ $p < 10^{-5}$					
Pretest (1) <i>H24-GAL4</i> > UAS-TNT R: 94,636	~ 1,0000 0,3358	~ 1,0000 0,2906	~ 1,0000 1,6047	$< 10^{-5}$ 6,3635	~ 1,0000 4,8596
Pretest (2) UAS-TNT/+ R: 90,740	--	~ 1,0000 0,6355	~ 1,0000 1,3193	$< 10^{-5}$ 6,2290	$< 10^{-5}$ 4,6765
Pretest (3) +/ <i>H24-GAL4</i> R: 98,114	--	--	0,8709 1,8952	$< 10^{-5}$ 6,6603	$< 10^{-5}$ 5,1502
Test (Stress) (4) <i>H24-GAL4</i> > UAS-TNT R: 75,432	--	--	--	$< 10^{-5}$ 4,7243	0,0170 3,2550
Test (Stress) (5) UAS-TNT/+ R: 20,083	--	--	--	--	~ 1,0000 1,3993
Test (Stress) (6) +/ <i>H24-GAL4</i> R: 36,477	--	--	--	--	--

Tabelle 58:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei einer Blockade der Weiterleitung der synaptischen Transmission in den $\alpha\beta$ -Loben des Pilzkörpers mittels des *c739-GAL4*-Treibers bei Stress aus Abbildung 66B auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest <i>c739-GAL4</i> > UAS-TNT	21	1,1402	$< 0,15$	$< 0,01$	= 0,0220
Pretest UAS-TNT/+	25	0,8124	$< 0,10$	$< 0,01$	= 0,0026
Pretest +/ <i>c739-GAL4</i>	21	0,8891	$< 0,15$	$< 0,01$	= 0,0074
Test <i>c739-GAL4</i> > UAS-TNT	21	1,1792	$> 0,20$	$< 0,05$	= 0,0850
Test UAS-TNT/+	25	1,1672	$< 0,15$	$< 0,01$	= 0,0038
Test +/ <i>c739-GAL4</i>	21	0,9487	$< 0,20$	$< 0,01$	= 0,0712
Test 2 mit Sacc. <i>c739-GAL4</i> > UAS-TNT	21	1,3002	$> 0,20$	$< 0,05$	= 0,0671
Test 2 mit Sacc. UAS-TNT/+	25	0,8524	$< 0,10$	$< 0,01$	= 0,0060
Test 2 mit Sacc. +/ <i>c739-GAL4</i>	21	0,8647	$< 0,15$	$< 0,01$	= 0,0032

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei einer Blockade der Weiterleitung der synaptischen Transmission in den $\alpha\beta$ -Loben des Pilzkörpers mittels des *H24-GAL4*-Treibers bei Stress aus Abbildung 66B mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
K-Wallis-Test: $H(8, N=310)=152,6476$ $p < 10^{-5}$								
Pretest (1) <i>mb247>5HT-1A^{RNAi}</i> R: 187,84	~ 1,0000 0,3482	~ 1,0000 0,3292	$< 10^{-5}$ 5,7504	$< 10^{-5}$ 6,0430	$< 10^{-5}$ 5,4892	$< 10^{-5}$ 5,2279	~ 1,0000 0,4842	~ 1,0000 0,6718
Pretest (2) <i>UAS-5HT-1A^{RNAi}/+</i> R: 192,71	--	~ 1,0000 0,6914	$< 10^{-5}$ 6,3434	$< 10^{-5}$ 6,6792	$< 10^{-5}$ 6,0710	$< 10^{-5}$ 5,7986	~ 1,0000 0,8711	~ 1,0000 1,0486
Pretest (3) <i>+/mb247-GAL4</i> R: 204,28	--	--	$< 10^{-5}$ 5,4212	$< 10^{-5}$ 5,7030	$< 10^{-5}$ 5,1600	$< 10^{-5}$ 4,8987	~ 1,0000 0,1409	~ 1,0000 0,3426
Test (4) <i>mb247>5HT-1A^{RNAi}</i> R: 75,904	--	--	--	~ 1,0000 0,1039	~ 1,0000 0,2613	~ 1,0000 0,5225	$< 10^{-5}$ 5,5111	$< 10^{-5}$ 5,0786
Test (5) <i>UAS-5HT-1A^{RNAi}/+</i> R: 69,269	--	--	--	--	~ 1,0000 0,3738	~ 1,0000 0,6436	$< 10^{-5}$ 5,8171	$< 10^{-5}$ 5,3491
Test (6) <i>+/mb247-GAL4</i> R: 68,231	--	--	--	--	--	~ 1,0000 0,2613	$< 10^{-5}$ 5,2387	$< 10^{-5}$ 4,8174
Test 2 mit Sacc. (7) <i>mb247>5HT-1A^{RNAi}</i> R: 66,250	--	--	--	--	--	--	$< 10^{-5}$ 4,9663	0,0002 4,5561
Test 2 mit Sacc. (8) <i>UAS-5HT-1A^{RNAi}/+</i> R: 217,98	--	--	--	--	--	--	--	~ 1,0000 0,2162
Test 2 mit Sacc. (9) <i>+/mb247-GAL4</i> R: 203,52	--	--	--	--	--	--	--	--

Tabelle 59:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei einer Erhöhung der Membranerregbarkeit in Neuronen im Muster des *5HT-1B-GAL4*-Treibers bei mehrtägigen Stressphasen aus Abbildung 67 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest <i>5HT-1B-GAL4 > NaChBac</i>	63	0,8957	$< 0,01$	$< 0,01$	$< 10^{-5}$
Pretest <i>UAS-NaChBac/+</i>	64	0,8858	$< 0,01$	$< 0,01$	$< 10^{-5}$
Pretest <i>+/5HT-1B-GAL4</i>	60	0,7702	$< 0,01$	$< 0,01$	$< 10^{-5}$
Test a <i>5HT-1B-GAL4 > NaChBac</i>	21	1,5675	$< 0,20$	$< 0,01$	= 0,0924
Test a <i>UAS-NaChBac/+</i>	23	0,7777	$< 0,05$	$< 0,01$	= 0,0035
Test a <i>+/5HT-1B-GAL4</i>	20	0,9881	$< 0,15$	$< 0,01$	= 0,0436
Test b <i>5HT-1B-GAL4 > NaChBac</i>	20	1,0311	$< 0,15$	$< 0,01$	= 0,0056
Test b <i>UAS-NaChBac/+</i>	21	1,1233	$> 0,20$	$< 0,01$	= 0,0336
Test b <i>+/5HT-1B-GAL4</i>	19	1,0976	$> 0,20$	$< 0,10$	= 0,0114

Test <i>5HT-1B-GAL4</i> > NaChBac	20	0,9403	< 0,05	< 0,01	= 0,0022
Test UAS-NaChBac/+	20	1,0311	< 0,10	< 0,01	= 0,0114
Test +/<i>5HT-1B-GAL4</i>	19	1,6490	< 0,20	< 0,01	= 0,1887

c) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei einer Erhöhung der Membranerregbarkeit in serotonergen Neuronen im Muster des *5HT-1B-GAL4*-Treibers bei mehrtägigen Stressphasen aus Abbildung 67B mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). In dieser Tabelle sind nur Tiere des Genotyps *5HT-1B-GAL4* > NaChBac zu direkten Vergleich ohne Kontrollen aufgeführt. Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Group	(2)	(3)	(4)
K-Wallis-Test: $H(3, N=124)=85,0630$ $p < 10^{-5}$			
Pretest (1) <i>5HT-1B-GAL4</i> > NaChBac R: 90,048	< 10^{-5} 4,7430	< 10^{-5} 6,9163	< 10^{-5} 6,7103
Test a (2) <i>5HT-1B-GAL4</i> > NaChBac R: 47,095	--	0,3804 1,8564	0,5494 1,6872
Test b (3) <i>5HT-1B-GAL4</i> > NaChBac R: 26,250	--	--	~ 1,0000 0,1672
Test (4) <i>5HT-1B-GAL4</i> > NaChBac R: 28,150	--	--	--

Tabelle 60:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei einer Erhöhung der Membranerregbarkeit in Neuronen im Muster des *5HT-1A-GAL4*-Treibers bei Stress aus Abbildung 68 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest <i>5HT-1A-GAL4</i> > NaChBac	26	0,8038	< 0,01	< 0,01	< 10^{-5}
Pretest UAS-NaChBac/+	21	0,8891	< 0,05	< 0,01	= 0,0003
Pretest +/5HT-1A-GAL4	20	0,9787	> 0,20	< 0,05	= 0,0464
Test <i>5HT-1A-GAL4</i> > NaChBac	26	1,0763	< 0,15	< 0,01	= 0,0009
Test UAS-NaChBac/+	21	1,2611	> 0,20	< 0,05	= 0,1032
Test +/5HT-1A-GAL4	19	1,1161	< 0,15	< 0,01	= 0,0271

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei einer Erhöhung der Membranerregbarkeit in serotonergen Neuronen im Muster des *5HT-1A-GAL4*-Treibers bei Stress aus Abbildung 68 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
K-Wallis-Test: $H(5, N=133)=72,9694$ $p=0,0000$					
Pretest (1) <i>5HT-1A-GAL4</i> > NaChBac R: 78,923	~ 1,0000 0,8175	~ 1,0000 0,3382	~ 1,0000 1,0579	< 10^{-5} 4,9017	0,0001 4,4686
Pretest (2) UAS-NaChBac/+ R: 88,167	--	~ 1,0000 0,4457	~ 1,0000 0,1826	< 10^{-5} 5,4374	< 10^{-5} 5,0172
Pretest (3) +/5HT-1A-GAL4 R: 82,800	--	--	~ 1,0000 0,6483	< 10^{-5} 4,9249	0,0001 4,5239
Test (Stress) (4) <i>5HT-1A-GAL4</i> > NaChBac	--	--	--	< 10^{-5} 5,9018	< 10^{-5} 5,4408

R: 90,231					
Test (Stress) (5) UAS-NaChBac/+ R: 23,50	--	--	--	--	~ 1,0000 0,2825
Test (Stress) (6) +/5HT-1A-GAL4 R: 26,947	--	--	--	--	--

Tabelle 61:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei Verfütterung des Serotonin-Rezeptoragonisten Naratriptan bei Stress aus Abbildung 69A auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest Gruppe Stress	29	0,8064	< 0,05	< 0,01	< 10 ⁻⁵
Pretest Gruppe Kontrolle	25	0,9000	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵
Test Gruppe Stress	26	1,8745	> 0,20	< 0,05	= 0,0142
Test Gruppe Kontrolle	20	1,0501	< 0,20	< 0,01	= 0,0558
Test 2 + Naratriptan Gruppe Stress	19	1,6614	> 0,20	< 0,10	= 0,3340
Test 2 + Naratriptan Gruppe Kontrolle	19	1,6667	> 0,20	< 0,05	= 0,0464

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei Verfütterung des Serotonin-Rezeptoragonisten Naratriptan bei Stress aus Abbildung 69A mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
K-Wallis-Test: H(5, N=133)=72,9694 p< 10 ⁻⁵					
Pretest (1) Gruppe Stress R: 78,923	~ 1,0000 0,8175	~ 1,0000 0,3382	~ 1,0000 1,0579	< 10 ⁻⁵ 4,9017	0,0001 4,4686
Pretest (2) Gruppe Kontrolle R: 88,167	--	~ 1,0000 0,4457	~ 1,0000 0,1826	< 10 ⁻⁵ 5,4374	< 10 ⁻⁵ 5,0172
Test (3) Gruppe Stress R: 82,800	--	--	~ 1,0000 0,6483	< 10 ⁻⁵ 4,9249	0,0001 4,5239
Test (4) Gruppe Kontrolle R: 90,231	--	--	--	< 10 ⁻⁵ 5,9018	< 10 ⁻⁵ 5,4408
Test + Naratriptan (5) Gruppe Stress R: 23,50	--	--	--	--	~ 1,0000 0,2825
Test + Naratriptan (6) Gruppe Kontrolle R: 26,947	--	--	--	--	--

c) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei Verfütterung des Serotonin-Rezeptoragonisten Naratriptan bei Stress aus Abbildung 69B mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Group	(2)	(3)
K-Wallis-Test: $H(2, N=64)=25,7076$ $p < 10^{-5}$		
Pretest (1) Gruppe Kontrolle R: 42,960	0,5539 1,3266	$< 10^{-5}$ 4,8412
Test (2) Gruppe Kontrolle R: 35,550	--	0,0024 3,3570
Test + Naratriptan (3) Gruppe Kontrolle R: 15,526	--	--

Tabelle 62:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei Verfütterung des Serotonin-Rezeptoragonisten Naratriptan bei Stress aus Abbildung 69C auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest	24	0,9631	$< 0,10$	$< 0,01$	= 0,0003
Test + Naratriptan	23	1,6776	$> 0,20$	$< 0,05$	= 0,1903

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens vor und nach Gabe von Naratriptan aus Abbildung 69C (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU)

Group	U	Z	2*1 sided exact p
Pretest vs. Test + Naratriptan	97,00	3,8094	0,0001

Tabelle 63:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei Verfütterung des Serotonin-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT bei Stress aus Abbildung 70A auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest Gruppe Stress	20	1,0195	$< 0,05$	$< 0,01$	= 0,0001
Pretest Gruppe Kontrolle	20	0,6863	$< 0,01$	$< 0,01$	$< 10^{-5}$
Test Gruppe Stress	20	2,1374	$> 0,20$	$< 0,10$	= 0,1696
Test Gruppe Kontrolle	16	1,5275	$> 0,20$	$< 0,01$	= 0,0364
Test 2 + 8-OH-DPAT Gruppe Stress	18	2,0934	$> 0,20$	$< 0,15$	= 0,5749
Test 2 + 8-OH-DPAT Gruppe Kontrolle	16	1,4818	$> 0,20$	$< 0,20$	= 0,2551

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei Verfütterung des Serotonin-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT bei Stress aus Abbildung 70A mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
K-Wallis-Test: $H(5, N=110)=47,6340$ $p=0,0000$					
Pretest (1) Gruppe Stress R: 81,950	~ 1,0000 0,3965	0,0012 3,9506	0,2754 2,3583	0,0300 3,7208	< 10 ⁻⁵ 5,4602
Pretest (2) Gruppe Kontrolle R: 77,950	--	0,0057 3,5540	0,7081 1,9844	0,0128 3,3349	< 10 ⁻⁵ 5,0863
Test (3) Gruppe Stress R: 42,100	--	--	~ 1,0000 1,3664	~ 1,0000 0,1244	~ 1,0000 1,7356
Test (4) Gruppe Kontrolle R: 56,719	--	--	--	~ 1,0000 1,2162	0,0488 2,9427
Test + 8-OH-DPAT (5) Gruppe Stress R: 43,389	--	--	--	--	~ 1,0000 1,8118
Test + 8-OH-DPAT (6) Gruppe Kontrolle R: 23,531	--	--	--	--	--

c) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei Verfütterung des Serotonin-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT bei Stress aus Abbildung 70B mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Group	(2)	(3)
K-Wallis-Test: $H(2, N=52)=29,0198$ $p=0,0000$		
Pretest (1) Gruppe Kontrolle R: 37,900	0,1118 2,0829	< 10 ⁻⁵ 5,2060
Test (2) Gruppe Kontrolle R: 27,313	--	0,0091 2,9629
Test + 8-OH-DPAT (3) Gruppe Kontrolle R: 11,438	--	--

Tabelle 64:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei Verfütterung des Serotonin-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT bei Stress aus Abbildung 70C auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest	20	0,9881	< 0,15	< 0,01	= 0,0006
Test + 8-OH-DPAT	18	1,0432	> 0,20	< 0,05	= 0,1268

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens vor und nach Gabe von 8-OH-DPAT aus Abbildung 70C (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU)

Group	U	Z	2*1 sided exact p
Pretest vs. Test + Naratriptan	81,50	2,2833	0,0210

Die Auswirkung von Lithium auf das depressionsartige Verhalten von *Drosophila melanogaster*

Tabelle 65:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei Verfütterung von Lithium (80mM) bei Stress aus Abbildung 71A auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest Gruppe Stress	21	0,8944	< 0,05	< 0,01	= 0,0010
Pretest Gruppe Kontrolle	10	0,7379	> 0,20	< 0,10	= 0,0359
Test Gruppe Stress	18	1,1448	< 0,20	< 0,01	= 0,0130
Test Gruppe Kontrolle	10	0,8433	> 0,20	< 0,05	= 0,1716
Test 2 + Lithium Gruppe Stress	13	0,8006	> 0,20	< 0,05	= 0,0096
Test 2 + Lithium Gruppe Kontrolle	8	0,7440	> 0,20	< 0,05	= 0,0270

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei Verfütterung von Lithium (80mM) bei Stress aus Abbildung 71A mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
K-Wallis-Test: $H(5, N=80) = 62,9340$ $p < 10^{-5}$					
Pretest (1) Gruppe Stress R: 42,00	~ 1,0000 0,1288	0,0003 4,2313	~ 1,0000 0,9912	0,0094 3,4190	0,2581 2,3822
Pretest (2) Gruppe Kontrolle R: 40,850	--	0,0135 3,3205	~ 1,0000 0,7409	0,0424 2,9862	0,4269 2,1909
Test (3) Gruppe Stress R: 10,417	--	--	0,1968 2,4804	< 10^{-5} 7,0491	< 10^{-5} 5,5279
Test (4) Gruppe Kontrolle R: 33,150	--	--	--	0,0024 3,7740	0,0579 2,8895
Test + Lithium (5) Gruppe Stress R: 70,038	--	--	--	--	~ 1,0000 0,4825
Test + Lithium (6) Gruppe Kontrolle R: 65,00	--	--	--	--	--

Tabelle 66:

Überprüfung der Datensätze aus Abbildung 71B auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Zusätzlich werden die Datensätze mittels des Sign-Tests (SN) gegen ein Zufallsniveau mit dem Wert 0 getestet.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW	p SN vs. 0
Fall bei der Bewegung Nach Lithium-Verfütterung	21	2,5672	> 0,20	< 0,10	= 0,2555	< 10^{-5}

Tabelle 67:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei Verfütterung von Lithium (40mM) bei Stress aus Abbildung 72 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest Gruppe Stress	19	0,8377	< 0,15	< 0,01	= 0,0163
Pretest Gruppe Kontrolle	18	0,8556	< 0,20	< 0,10	= 0,0279
Test Gruppe Stress	17	0,8489	> 0,20	< 0,05	= 0,0332
Test Gruppe Kontrolle	17	0,8703	< 0,15	< 0,01	= 0,0295
Test 2 + Lithium 40 mM Gruppe Stress	14	1,0510	> 0,20	< 0,10	= 0,0516
Test 2 + Lithium 40 mM Gruppe Kontrolle	15	1,1339	> 0,20	< 0,05	= 0,0050

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei Verfütterung von Lithium (40mM) bei Stress aus Abbildung 72 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
K-Wallis-Test: $H(5, N=100) = 73,6387$ $p < 10^{-5}$					
Pretest (1) Gruppe Stress R: 42,00	~ 1,0000 0,3190	0,0061 3,5373	~ 1,0000 0,3922	0,0029 3,7254	0,0010 3,9995
Pretest (2) Gruppe Kontrolle R: 40,850	--	0,0022 3,8020	~ 1,0000 0,0769	0,0106 3,3878	0,0039 3,6513
Test (3) Gruppe Stress R: 10,417	--	--	0,0020 3,8247	< 10^{-5} 6,9078	< 10^{-5} 7,2332
Test (4) Gruppe Kontrolle R: 33,150	--	--	--	0,0160 3,2729	0,0062 3,5300
Test + Lithium (5) Gruppe Stress R: 70,038	--	--	--	--	~ 1,0000 0,1864
Test + Lithium (6) Gruppe Kontrolle R: 65,00	--	--	--	--	--

Tabelle 68:

a) Überprüfung der Datensätze des Laufverhaltens in der Buridan Arena bei Stress (Distanz und Laufgeschwindigkeit) aus Abbildung 78 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Gruppe Stress Distanz (A)	46	231,7811	> 0,20	< 0,05	= 0,0036
Gruppe Kontrolle Distanz (A)	51	208,1170	> 0,20	> 0,20	= 0,2935
Gruppe Stress Laufgeschwindigkeit (B)	46	5,2976	> 0,20	> 0,20	= 0,1021
Gruppe Kontrolle Laufgeschwindigkeit (B)	51	4,6633	> 0,20	< 0,15	= 0,2512

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 78A (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) der beiden Gruppen Stress vs. Kontrolle im Laufverhalten (Distanz)

Group	U	Z	2*1 sided exact p
Gruppe mit Stress vs. Gruppe ohne Stress	789,00	-2,7743	0,0052

c) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 78B (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) der beiden Gruppen Stress vs. Kontrolle im Laufverhalten (Laufgeschwindigkeit)

Group	U	Z	2*1 sided exact p
Gruppe mit Stress vs. Gruppe ohne Stress	955,50	-1,5714	0,1164

Tabelle 69:

a) Überprüfung der Datensätze des Laufverhaltens der *dnc¹*-Mutante in der Buridan Arena bei Stress (Distanz und Laufgeschwindigkeit) aus Abbildung 79 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
<i>dnc¹</i> Gruppe Stress Distanz (A)	48	182,0256	> 0,20	< 0,01	= 0,0202
<i>dnc¹</i> Gruppe Kontrolle Distanz (A)	47	283,8259	> 0,20	> 0,20	= 0,5402
<i>dnc¹</i> Gruppe Stress Laufgeschwindigkeit (B)	48	3,6585	> 0,20	> 0,20	= 0,4471
<i>dnc¹</i> Gruppe Kontrolle Laufgeschwindigkeit (B)	47	4,6539	> 0,20	> 0,20	= 0,0073

b) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 79A (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) der beiden Gruppen (*dnc¹*) Stress vs. Kontrolle im Laufverhalten (Distanz)

Group	U	Z	2*1 sided exact p
Gruppe mit Stress vs. Gruppe ohne Stress	661,00	-3,4762	0,0004

c) Vergleich der medianen Daten aus Abbildung 79B (ungepaart) mittels des Mann-Whitney-U-Test (MannU) der beiden Gruppen (*dnc*¹) Stress vs. Kontrolle im Laufverhalten (Laufgeschwindigkeit)

Group	U	Z	2*1 sided exact p
Gruppe mit Stress vs. Gruppe ohne Stress	769,00	-2,6723	0,0072

Tabelle 70:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens bei einer eintägigen Verfütterung eines 5HT-Inhibitors und Saccharose ohne Stress aus Abbildung 80 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest	82	0,9656	< 0,01	< 0,01	< 10 ⁻⁵
Test	78	1,0489	< 0,01	< 0,01	= 0,0001
Test mit H ₂ O	20	1,3803	> 0,20	> 0,20	= 0,3717
Test mit Sacc.	19	0,9703	> 0,20	< 0,05	= 0,1122
Test mit αMTP	18	1,1010	> 0,20	< 0,05	= 0,0882
Test mit αMTP & Sacc.	20	1,2927	< 0,10	< 0,01	= 0,0138

b) Vergleich der medianen Daten des Kletterverhaltens bei eintägiger Verfütterung eines 5HT-Inhibitors und Saccharose ohne Stress aus Abbildung 80 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Genotyp	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
K-Wallis-Test: H(5,N=237)=4,2651 p=0,5119					
Pretest (1) R: 121,65	~ 1,0000 0,0758	~ 1,0000 0,4798	~ 1,0000 0,1968	~ 1,0000 0,7227	~ 1,0000 1,6315
Test (2) R: 122,47	--	~ 1,0000 0,4296	~ 1,0000 0,2427	~ 1,0000 0,7652	~ 1,0000 1,6712
Test 2 mit H₂O (3) R: 129,85	--	--	~ 1,0000 0,5299	~ 1,0000 0,9473	~ 1,0000 1,6651
Test 2 mit Sacc. (4) R: 118,21	--	--	--	~ 1,0000 0,4195	~ 1,0000 1,1137
Test 2 mit αMTP (5) R: 108,75	--	--	--	--	~ 1,0000 0,6734
Test 2 mit αMTP & Sacc. (6) R: 93,750	--	--	--	--	--

Tabelle 71:

a) Überprüfung der Datensätze des Kletterverhaltens aus Abbildung 81 auf Normalverteilung unter Verwendung des KOLMOGOROV-SMIRNOV-Tests (KS) und des LILLIFORS-Test (Lillif) und mit Gegentest durch den SHAPIRO-WILK-Test (SW) zur Erhöhung der Genauigkeit. Auf Basis der angegebenen Werte wird der nachfolgende Test zwischen den Datensätzen durchgeführt.

	N	Std.Dev.	p KS	p Lillif	p SW
Pretest	46	0,9168	< 0,05	< 0,01	= 0,0001
Stress	23	1,0798	> 0,20	< 0,10	= 0,0511
Kontrolle	23	1,2834	< 0,15	< 0,01	= 0,0944

b) Vergleich der medianen Daten der Kletteraktivität aus Abbildung 81 mittels des Kruskal-Wallis-Test (K-W). Multiple Vergleichs p-Werte in der oberen Reihe; z-Werte in der unteren Reihe.

Group	(2)	(3)
K-Wallis-Test: $H(2, N=91)=47,3423$ $p < 10^{-5}$		
Pretest (1) R: 57,554	$< 10^{-5}$ 6,4505	$\sim 1,0000$ 0,3366
Stress (2) R: 14,043	--	$< 10^{-5}$ 5,2313
Kontrolle (3) R: 55,250	--	--

