

Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Die Entwicklung und Anwendung hochauflösender Analysen zur Untersuchung von Modulatoren des sozialen Explorationsverhaltens bei Mäusen

*Eine Untersuchung verhaltensmodulierender Eigenschaften
von Oxytocin, sozialem Gedächtnis und aversiven Erfahrungen
durch Verwendung neuronaler Netzwerke und
maschineller Lernverfahren*

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von
Marcel Moor
aus Pfungstadt

Mainz, 2025

© 2025 Marcel Moor

Diese Dissertation ist urheberrechtlich geschützt.
Alle Rechte, insbesondere das Recht der Vervielfältigung, Verbreitung und öffentlichen Zugänglichmachung, bleiben vorbehalten.
Eine Nutzung über die gesetzlichen Schranken des Urheberrechts hinaus bedarf der vorherigen schriftlichen Zustimmung des Autors.

Tag der Promotion: 13.11.2025

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	III
1 Einleitung:	1
1.1 Zielsetzung.....	3
2 Literaturdiskussion	4
2.1 Methodische Entwicklungen der Verhaltensanalyse	5
2.1.1 Evolution der Verhaltensanalysemethoden	5
2.1.2 Fortschritte durch Computer Vision und maschinelles Lernen.....	6
2.1.3 Fortschritte durch Verwendung tiefer neuronaler Netzwerke	6
2.1.4 Aktuelle Limitationen und Forschungslücken.....	7
2.2 Oxytocin als Modulator explorativer sozialer Verhaltensweisen	8
2.2.1 Neurophysiologischer Hintergrund und Funktion von Oxytocin	8
2.2.2 Heterogene Befunde zur Wirkung von Oxytocin auf soziale Verhaltensweisen.....	8
2.2.3 Oxytocin und die Verarbeitung olfaktorischer Informationen	9
2.2.4 Forschungslücken in der Untersuchung verhaltensmodulierender Eigenschaften von Oxytocin.....	10
2.3 Soziales Gedächtnis und explorative Verhaltensweisen	11
2.3.1 Grundlagen des sozialen Gedächtnisses bei Nagetieren	11
2.3.2 Aktueller Forschungsstand zum Zusammenhang von Explorationsverhalten und Gedächtnisbildung	11
2.3.3 Korrelation von Explorationsparametern und der Ausbildung des Gedächtnisses	12
2.3.4 Methodische Limitationen und bestehende Forschungslücken	13
2.4 Der Einfluss aversiver sozialer Erfahrungen	14
2.4.1 Das Social Defeat Paradigma als experimentelles Modell.....	14
2.4.2 Auswirkungen des Social Defeats auf die soziale Rangordnung	15

2.4.3	Der prädiktive Wert individueller Verhaltensreaktionen während des Social Defeats	15
2.4.4	Methodische Limitationen und bestehende Forschungslücken	16
2.5	Forschungslücken und methodische Herausforderungen	17
3	Material und Methoden	19
3.1	Experimentelle Grundlage	19
3.2	„Social Defeat“ Paradigma	20
3.2.1	Versuchstiere und Haltungsverfahren	20
3.2.2	Verhaltensanalyse	25
3.3	Social Interaction Paradigma	43
3.3.1	Allgemeines	43
3.3.2	Versuchstiere, Haltungsverfahren und Interventionen im Rahmen der Vorbereitung	43
3.3.3	Experimentelles Paradigma:	46
3.3.4	Elektrophysiologische Datenerhebung und Analyse	48
3.3.5	Verhaltensanalyse	49
4	Ergebnisse	67
4.1	Die Anwendung neuronaler Netzwerke und maschineller Lernmechanismen ermöglicht die Durchführung von hochauflösenden Verhaltensanalysen	67
4.2	Oxytocin als Modulator sozialer Verhaltensweisen	69
4.2.1	Oxytocin moduliert Annäherungs- und Explorationsverhalten	69
4.2.2	Oxytocin fördert die Strukturierung sozialer Verhaltenssequenzen	73
4.3	Soziale Exploration und die Ausbildung des sozialen Gedächtnisses	81
4.3.1	Interaktionshäufigkeit und soziales Gedächtnis	81
4.3.2	Interaktionsdauer und soziales Gedächtnis	82
4.4	Verhaltensreaktionen auf singuläre aversive Erlebnisse beeinflussen bestehende soziale Strukturen	84
4.4.1	Räumliche Präferenzen während des „Social Defeats“	85
4.4.2	Korrelation zwischen Distanzverhalten und Rangveränderungen	86

5	Diskussion	88
5.1	Methodische Implikationen	88
5.1.1	Innovation in der Verhaltensanalyse	88
5.2	Biologische Implikationen	90
5.2.1	Oxytocin als Modulator sozialer Verhaltensweisen	90
5.2.2	Soziales Gedächtnis und explorative Verhaltensweisen	91
5.2.3	Verhaltensreaktionen bei aversiven sozialen Erfahrungen	92
5.3	Limitationen	94
5.3.1	Herausforderungen bei der Nutzung neuronaler Netzwerke:	94
5.3.2	Einschränkungen der Verhaltensklassifikation:	94
5.3.3	Videoqualität und technische Begrenzungen:	95
5.3.4	Variabilität im "Social Defeat" Paradigma:	95
5.3.5	Interpretierbarkeit und Anwendung:	95
5.4	Relevanz der Doktorarbeit und weiterer Ausblick	95
6	Zusammenfassung	97
7	Literaturverzeichnis	99
8	Anhang	110
8.1	Vorveröffentlichungen	110
8.1.1	Teilpublikationen	110
8.1.2	Publikationen in Vorbereitung	110
9	Danksagung	111
10	Tabellarischer Lebenslauf	112

Abkürzungsverzeichnis

AON	Anteriorer olfaktorischer Nucleus
Ano	Anogenital Sniffing
Appr	Approach (Annäherungsverhalten)
BORIS	Behavioral Observation Research Interactive Software
CD1	Outbred-Mausstamm (Aggressormäuse)
C57BL/6	Inbred-Mausstamm (Versuchsmäuse)
CSV	Comma-Separated Values
DLC	DeepLabCut
F1	F1-Score
Flank	Flank Sniffing (Flankenschnüffeln)
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomografie
fps	frames per second
GUI	Graphical User Interface
H5	Hierarchical Data Format Version 5
Idle	Ruhezustand ohne definierte Verhaltensweisen
LME	Linear Mixed Effects Models
MAE	Mean Average Euclidean Error
MP4	MPEG-4 Part 14 Videoformat
N2N	Nose-to-Nose Sniffing
NoSeMaze	Non-invasive Sensor-Rich Maze
OXT	Oxytocin
OXTR	Oxytocinrezeptor
oxtR	Gruppe mit optogenetisch induzierter Oxytocinfreisetzung
oxtR_control	Kontrollgruppe mit physiologischer Oxytocinfreisetzung

OXTR ^{fl/fl}	Oxytocin-Rezeptor floxed
PBS	Phosphate Buffered Saline
PVN	Paraventriculärer Nucleus
Purs	Pursuit (Verfolgung)
RFID	Radio-Frequency Identification
ROI	Region of Interest
SimBA	Simple Behavioral Analysis
SON	Supraoptischer Nucleus
TTL	Transistor-Transistor Logic
VBA	Visual Basic for Applications

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Experimentelle Konfiguration des NoSeMaze.....	21
Abbildung 2: Experimentelles Design des NoSeMaze-Ansatzes mit intermittierenden „Social Defeat“ Experimenten:.....	23
Abbildung 3: Das „Social Defeat“ Paradigma - eine aggressive soziale Interaktion außerhalb des Labyrinths	25
Abbildung 4: Strukturierte Übersicht der Herangehensweise zur Verhaltensanalyse	26
Abbildung 5: Analyse der „Regions of Interest“ (ROI).....	39
Abbildung 6: Durchführung der Distanzanalyse.....	41
Abbildung 7: Quantitative Vergleichsanalyse der ‚Column ROIs‘	42
Abbildung 8: Ablauf des zweiphasigen experimentellen Designs:	47
Abbildung 9: Methodischer Ablauf zur Verhaltensanalyse des Interaction Paradigmas	50
Abbildung 10: Vergleich maschineller mit manueller Verhaltensanalyse.	68
Abbildung 11: Die Streudiagramme der Anzahl beobachteter Verhaltensweisen	70
Abbildung 12: Transitionsmatrizen zum Gruppenvergleich der Anzahl von Verhaltensübergängen	71
Abbildung 13: Streudiagramme der mittleren Dauer (sec) untersuchter Verhaltenszustände	72
Abbildung 14: Streudiagramme der Gesamt-Dauer verschiedener Verhaltensweisen	72
Abbildung 15: Transitionsmatrizen zum Gruppenvergleich der Wahrscheinlichkeit von Verhaltensübergängen	74
Abbildung 16: Streudiagramme zum Vergleich der Häufigkeiten verschiedener Verhaltenssequenzen aus jeweils 3 Verhaltenszuständen zwischen Mäusen mit verstärkter Oxytocinausschüttung und Kontrollsitzen.	75
Abbildung 17: Streudiagramme zum Vergleich der Häufigkeiten verschiedener Verhaltenssequenzen aus jeweils 4 Verhaltenszuständen zwischen Mäusen mit verstärkter Oxytocinausschüttung und Kontrollsitzen.	77
Abbildung 18: Streudiagramme zum Vergleich der Häufigkeiten verschiedener Verhaltenssequenzen aus jeweils 5 Verhaltenszuständen zwischen Mäusen mit verstärkter Oxytocinausschüttung und Kontrollsitzen.	80

Abbildung 19: Korrelation zwischen der Anzahl sozialer Interaktionen und der Differenz der euklidischen Distanz für die Unterscheidung zwischen vertrauten und unbekanntem Artgenossen	82
Abbildung 20: Korrelationsanalyse zwischen der Gesamtinteraktionszeit und der Differenz der euklidischen Distanz für die Unterscheidung zwischen vertrauten und unbekanntem Artgenossen.....	83
Abbildung 21: Räumliche Verteilung der Mäuse während des „Social Defeat“-Paradigmas.	85
Abbildung 22: Mediane Distanz zwischen Mäusen während des „Social Defeat“-Paradigmas.	86

1 Einleitung:

Als Grundlage des sozialen Zusammenlebens sind soziale Verhaltensweisen entscheidend für die Entwicklung von stabilen sozialen Strukturen. Ihre wissenschaftliche Untersuchung ist sowohl aus Sicht der Verhaltensbiologie, als auch Seitens der neuropsychiatrischen Forschung von zunehmendem Interesse. So gehen zahlreiche psychiatrische Krankheitsbilder, wie etwa Störungen des Autismus-Spektrums mit sozialen Defiziten einher.

Angesichts dessen könnten insbesondere wissenschaftliche Ausarbeitungen verhaltensmodulierender Faktoren vielversprechende Erkenntnisse liefern:

Hormonelle Einflüsse des Neuropeptids Oxytocin oder soziale Faktoren wie die Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses wurden bereits diskutiert. Auch aversive soziale Erfahrungen und dabei gezeigte Verhaltensreaktionen könnten sich nachhaltig auf die Entwicklung sozialer Verhaltensweisen auswirken. Entsprechende wissenschaftliche Untersuchungen führten jedoch bislang zu kontextabhängigen oder widersprüchlichen Ergebnissen.

Die hohe Dynamik und Komplexität sozialer Interaktionen setzt hochauflösende Verhaltensanalysen voraus und stellt die Forschung somit vor technische Herausforderungen. Traditionelle Verfahren nutzen die manuelle Annotation ausgewählter Verhaltensweisen durch geschulte Beobachter. Diese gehen jedoch mit erheblichem Zeitaufwand, einer Begrenzung der zeitlichen und räumlichen Auflösung und einer unvermeidlichen Subjektivität einher, was eine standardisierte Klassifikation von Verhaltensweisen deutlich erschwert. Die Entwicklung erster computergestützter Ansätze bis hin zur innovativen Integration maschinellen Lernens und künstlicher Intelligenz brachte jedoch neue technische Lösungen hervor. So ermöglichen neuronale Netzwerke erstmals eine sogenannte markerlose Posenerkennung von Versuchstieren, bei der einzelne Körperteile ohne externe Marker oder andere Hilfsmittel verfolgt und zur Rekonstruktion von Körperhaltungen herangezogen werden können. Zugleich eröffnen Random Forest-basierte Modelle Möglichkeiten zur Durchführung von automatisierten Verhaltensklassifikationen.

Ziel dieser Doktorarbeit ist die Entwicklung und Anwendung eines innovativen methodischen Ansatzes zur präzisen Analyse komplexer sozialer Interaktionen.

Grundlage dafür bildet die Kombination der zweier Softwareanwendungen:

DeepLabCut ist eine Deep-Learning-basierte Anwendung zur markerlosen Aufzeichnung von Versuchstieren und SimBA, eine Open-Source Anwendung zur Erstellung einer automatisierten Verhaltensklassifikation auf Grundlage von Random Forest-Algorithmen.

Anschließend wurde dieser methodische Ansatz verwendet, um Verhaltensanalysen anhand von Videoaufzeichnungen experimenteller Paradigmen im Rahmen der AG Kelsch durchzuführen:

In Orientierung an das zur Erforschung von sozialem Stress etablierte „Social Defeat“-Paradigma erfolgte die temporäre Konfrontation von Versuchstieren mit einem überlegenen aggressiven Artgenossen im kontrollierten Setting. Ziel war hierbei die Beobachtung unmittelbarer Verhaltensreaktionen der Mäuse in singulären aversiven Situationen, um einen möglichen Zusammenhang zu Veränderungen der sozialen Rangordnung zu analysieren. Dazu erfolgte die Erfassung der sozialen Hierarchie im Rahmen des Zusammenlebens von Mäusen durch sogenannte Tube-Tests innerhalb des sogenannten NoSeMaze. Ausführlichere Beschreibungen erfolgen im Kapitel der Materialien und Methoden.

Das Social Interaction Paradigma diente der Untersuchung des sozialen Erinnerungsvermögens von Mäusen in Zusammenhang mit sozialem Explorationsverhalten. Hinzu kam eine optogenetisch induzierte Oxytocinausschüttung bei einem Teil der Versuchstiere, um hormonelle Auswirkungen auf Verhalten und Gedächtnisbildung zu untersuchen. Die einzelnen experimentellen Durchläufe umfassten die freie Exploration des jeweiligen Versuchstieres mit einem unbekanntem Artgenossen gefolgt von elektrophysiologischen Messungen im kopffixierten Setup. Dabei wurden dem Versuchstier bekannte und unbekannte Körpergerüche randomisiert präsentiert, während simultan neuronale Aktivitäten spezifischer Hirnregionen erfasst wurden, um Anzeichen einer sozialen Wiedererkennung zu detektieren.

Anschließende numerische Auswertungen der erhobenen Datensätze dienten der Identifizierung verhaltensspezifischer Veränderungen in Abhängigkeit von der Freisetzung von Oxytocin, des sozialen Erinnerungsvermögens oder der Bewältigung von aversiven sozialen Erfahrungen.

1.1 Zielsetzung

Ausgehend vom aktuellen Forschungsstand werden in dieser Arbeit folgende zentrale Themenschwerpunkte mit entsprechenden Hypothesen untersucht:

1. **Methodische Hypothese:** Die Optimierung einer kombinierten Anwendung von Deep-Learning-basierter Posenerkennung (DeepLabCut) und Random Forest-basierter Verhaltensklassifikation (SimBA) ermöglicht die Durchführung von hochauflösenden Verhaltensanalysen, zur präzisen Erfassung komplexer sozialer Interaktionen.
2. **Hypothesen zur Wirkung von Oxytocin auf soziale Verhaltensweisen:**
 - a. Oxytocin erhöht die Häufigkeit sozialer Annäherungen.
 - b. Oxytocin erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass Annäherungen zur direkten sozialen Exploration durch „Schnüffelverhalten“ führen.
 - c. Oxytocin reduziert die Dauer explorativer Verhaltensweisen durch verbesserte Effizienz der sensorischen Verarbeitung sozialer olfaktorischer Reize.
 - d. Oxytocin fördert die strukturierte Ausbildung komplexer sozialer Verhaltenssequenzen.
3. **Hypothesen zum Zusammenhang von sozialer Interaktion und der Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses:**
 - a. Intensiver sozialer Kontakt führt zur stärkeren Ausprägung des sozialen Gedächtnisses.
 - b. Die Frequenz vorangehender sozialer Interaktionen steht in direktem Zusammenhang mit der Ausprägung eines sozialen Gedächtnisses.
4. **Hypothesen zu sozialen Strukturen:**
 - a. Singuläre aversive soziale Interaktionen führen zu Änderungen des Sozialverhaltens in der normalen Lebensumgebung.
 - b. Reaktive Verhaltensänderungen im Rahmen von singulären aversiven sozialen Erfahrungen fungieren als prädiktive Faktoren für anschließende Veränderungen der sozialen Rangordnung.

2 Literaturdiskussion

Soziale Verhaltensweisen bilden das Fundament zur nachhaltigen Entwicklung sozialer Netzwerke und gesellschaftlicher Strukturen [1]. Untersuchungen an Nagetieren zeigten mehrfach die breite Vielfalt und Komplexität sozialer Interaktionen. So konnten stereotypische Ausprägungen von Annäherungs- und Explorationsverhalten bis hin zum Dominanzverhalten oder kooperativen Verhaltensweisen beobachtet werden [2]. Wissenschaftliche Untersuchungen in diesen Bereichen treffen neben den grundlegenden Interessen der Verhaltensbiologie auf vielseitige Anwendungsmöglichkeiten zur Erforschung psychiatrischer Krankheitsbilder. So könnten weitergehende Untersuchungen etwa bei Störungen des Autismus Spektrums und entsprechenden Defiziten des sozialen Umgangs zu relevanten Erkenntnissen führen [3].

Eine Erfassung dynamischer Veränderungen von Körperhaltung, Ausrichtung oder komplexen Bewegungsmustern erfordert die Durchführung von räumlich und zeitlich hochauflösenden Analysen. Insbesondere soziale Interaktionen stellen die Verhaltensforschung durch ihre komplexe und subtile Beschaffenheit vor enorme technische Herausforderungen [4].

Die Quantifizierung von Verhaltensweisen durch traditionelle Methoden erfolgte zumeist mittels manueller Annotation durch geschulte Beobachter. Derartige Ansätze sind nach wie vor verbunden mit enormem zeitlichen Aufwand und einer unvermeidbaren Subjektivität, was eine standardisierte Klassifizierung von Verhaltensweisen erschwert [5]. Mithilfe computergestützter Methoden ließen sich vorerst nur grobe Parameter wie die Aufenthaltsdauer innerhalb definierter Zonen, oder die räumlichen Distanzen von Versuchstieren ermitteln. Um ein tieferes Verständnis subtiler sozialer Verhaltensmuster und deren zugrundeliegenden neurobiologischen Mechanismen zu erlangen bleibt die detaillierte Erfassung subtiler Verhaltensübergänge und Nuancen jedoch unerlässlich [6][7].

Fortschritte im Bereich des maschinellen Lernens brachten zuletzt neue technische Ansätze zur Durchführung hochauflösender Verhaltensanalysen hervor [8] und nutzen die Entwicklung abgestimmter neuronaler Netzwerke zur videobasierten Aufzeichnung von Versuchstieren unter Zuordnung von deren Körperteilen und Identitäten [9] - nicht zuletzt um eine automatisierte Klassifikation von definierten Verhaltensweisen zu ermöglichen [10].

Die vorliegende Arbeit widmet sich der fundierten Untersuchung von insgesamt drei relevanten Modulatoren sozialer Verhaltensweisen. Bislang brachten entsprechende Arbeiten neben den genannten methodischen Herausforderungen zahlreiche offene Fragen und widersprüchliche Erkenntnisse mit sich:

1. Die Bedeutung des Neuropeptides Oxytocin für die Modulation des sozialen Explorationsverhaltens durch Optimierung der zugrundeliegenden Verarbeitung olfaktorischer Reize, wozu bisherige Untersuchungen nur widersprüchliche Erkenntnisse hervorbringen konnten [11].
2. Die Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses und dessen neuronale Grundlage in Abhängigkeit von Qualität und Quantität vorangehender sozialer Interaktionen, die bislang nur unzureichend geklärt werden konnten [12].
3. Die Auswirkung individueller Verhaltensreaktionen während des Erlebens sozial aversiver Situationen auf soziale Rangordnung und demzufolge sozialen Verhaltensweisen, sowie die Untersuchung einer potenziell prädiktiven Bedeutung sind bislang unerforscht [13].

Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung eines methodischen Ansatzes zur hochauflösenden Verhaltensanalyse durch die kombinierte Verwendung von Deep Learning und klassischen maschinellen Lernverfahren. Eine anschließende Anwendung zur Untersuchung der genannten Themenschwerpunkte, soll dazu beitragen bestehende Forschungslücken zu schließen und nachhaltige Erkenntnisse über die Modulation sozialer Verhaltensweisen zu gewinnen [14].

2.1 Methodische Entwicklungen der Verhaltensanalyse

2.1.1 Evolution der Verhaltensanalysemethoden

Über die Entwicklung standardisierter Verhaltenstests bis hin zu computergestützten Analysemethoden konnte die systematische Verhaltensforschung am Tiermodell in den vergangenen Jahrzehnten bemerkenswerte Fortschritte verzeichnen [15][16].

Trotz des breiten methodischen Spektrums gilt die manuelle Annotation sozialer Verhaltensweisen durch geschulte Beobachter nach wie vor als Goldstandard [15]. Diese ist allerdings geprägt von hohem zeitlichen Aufwand, begrenzter zeitlicher und räumlicher Auflösung, sowie der Subjektivität der Beobachter [17]. Bei zunehmender Komplexität zugrundeliegender Interaktionssequenzen oder subtilen Übergängen von

Verhaltensweisen führt dies jedoch zu erheblichen Einschränkungen [18].

Erste computergestützte Ansätze ermöglichten bereits eine Erfassung von Distanzen und räumlichen Präferenzen durch die Detektion von Bewegungen über die Nutzung von Infrarotstrahlen, oder die Analyse von Kontrastveränderungen innerhalb von Videosequenzen [19]. Entsprechende Methoden erfassten zumindest objektive Daten zur allgemeinen Beurteilung wie die Erfassung grober Verhaltenskategorien, oder der Aufenthaltszeiten in ausgewählten Zonen. Bei komplexeren sozialen Interaktionen ermöglichten diese jedoch nur eine begrenzte Beurteilung [18].

2.1.2 Fortschritte durch Computer Vision und maschinelles Lernen

Ein Meilenstein der methodischen Entwicklung von Verhaltensanalysen bildete die Verwendung erster Computer-Vision-Algorithmen zur Durchführung automatisierter Verhaltensanalysen [16]. Diese ermöglichten die Verfolgung und Unterscheidung einzelner Versuchstiere durch die Nutzung farblicher Markierungen oder morphologischer Merkmale. Mit fortschreitender Entwicklung gelang dann die Unterscheidung mehrerer Versuchstiere im komplexeren sozialen Kontext [16][20][21]. Die Etablierung von maschinellem Lernen ermöglichte weitere methodische Fortschritte wie die automatisierte Klassifikation von Verhaltensweisen durch anhand von vorab definierten Merkmalen trainierte Netzwerke [22][16]. Die präzise Detektion markerloser Körperteile als Grundlage zur zuverlässigen Erfassung komplexer sozialer Interaktionen bleibt derzeit jedoch eine technische Herausforderung [23].

2.1.3 Fortschritte durch Verwendung tiefer neuronaler Netzwerke

Mit der Entwicklung tiefer neuronaler Netzwerke zur sogenannten markerlosen Posenerkennung gelang ein weiterer Durchbruch für die Entwicklung methodischer Ansätze zur hochauflösenden Analyse komplexer sozialer Verhaltensweisen [24].

So ermöglichte die Einführung von DeepLabCut durch Mathis et al. die präzise Erfassung von Körperteilen ohne Verwendung entsprechender Marker. Dabei erforderte Entwicklung eines leistungsfähigen Netzwerks lediglich eine begrenzte Anzahl manuell annotierter Bildausschnitte [25]. Diese gewährleisteten die zuverlässige Durchführung einer automatisierten und hochauflösenden Verfolgung von Versuchstieren in umfangreichen Videosequenzen [25]. Zugleich konnte die Entwicklung von Anwendungen wie SimBA durch Nilsson et al. bedeutsame

Fortschritte in der automatisierten Erkennung komplexer Verhaltensweisen verzeichnen [26]. Dabei erfolgte die Klassifikation von spezifischen Verhaltensweisen basierend auf Trackingdaten und der Erhebung metrischer Merkmale durch die Nutzung Random Forest-basierter Modelle. Dies ermöglichte die automatisierte Erstellung umfangreicher Datensätze aus quantitativen Verhaltensinformationen bei überschaubarem zeitlichen Aufwand [26].

2.1.4 Aktuelle Limitationen und Forschungslücken

Die methodische Entwicklung von Ansätzen zur hochauflösenden Analyse sozialer Verhaltensweisen steht trotz bemerkenswerter Fortschritte bisweilen vor Herausforderungen und ungeklärten Forschungsfragen:

1. **Reibungslose Integration verschiedener Analysemethoden:** Eine nahtlose Verknüpfung von Posenerkennung und Verhaltensklassifikation zu einem effizienten Analyseprozess erfordert ein umfassendes technisches Verständnis von Nutzern [27].
2. **Validierung automatisierter Analysen:** Die Validierung von automatisiert erhobenen Verhaltensdaten gegenüber einer manuellen Annotation als Goldstandard bleibt ein kritischer Schritt, und erfordert eine systematische Standardisierung [16].
3. **Hochauflösende Analysen komplexer Sequenzen:** Komplexe zeitliche Muster und Verhaltensübergänge erfordern nach wie vor deutliche Fortschritte in der Entwicklung methodischer Ansätze zur Gewährleistung einer hochauflösenden Erfassung und umfassenden Analyse [23].
4. **Anwendungstransfer von Modellen:** Die Robustheit und Zuverlässigkeit trainierter Verhaltensmodelle beschränkt sich meist auf spezifische experimentelle Bedingungen und ermöglicht keine zuverlässige Anwendung auf abweichende experimentelle Umstände [28].
5. **Rechenintensive Verfahren:** Der Umfang benötigter Rechenkapazitäten ist insbesondere bei der Anwendung tiefer neuronaler Netzwerke auf große Datensätze ein technisch limitierender Faktor [29].

Eine umfassende Untersuchung subtiler Verhaltensmodulatoren (Oxytocin, soziales Gedächtnis, aversive Erfahrungen) erfordert die Entwicklung fortschrittlicher methodischer Ansätze zur Überwindung der bestehenden technischen

Einschränkungen [18]. Eine systematische Integration der innovativen Anwendungen DeepLabCut und SimBA könnte unter Nutzung optimierter Trainingsprozesse und systematischer Validierungsprotokolle einen vielversprechenden methodischen Ansatz bieten und zu entscheidenden Erkenntnissen über subtile Modulationsmechanismen von sozialen Verhaltensweisen führen [16][23].

2.2 Oxytocin als Modulator explorativer sozialer Verhaltensweisen

2.2.1 Neurophysiologischer Hintergrund und Funktion von Oxytocin

Dem im Hypothalamus synthetisierten Neuropeptid Oxytocin wird nach derzeitigem Stand der Kenntnis eine regulatorische Rolle sozialer Verhaltensweisen zugeschrieben [30]. Nach der Synthese innerhalb der magnozellulären Neuronen des paraventriculären Nucleus (PVN) und des supraoptischen Nucleus (SON) erfolgt die Freisetzung des Oxytocins sowohl in die Blutbahn, als auch über den axonalen Transportweg entlang von Projektionen direkt in die verschiedenen Hirnregionen [31]. Hierzu zählen insbesondere Projektionen oxytozinerger Neuronen zu Teilen der Amygdala, des Hippocampus, dem Nucleus accumbens und Strukturen der olfaktorischen Informationsverarbeitung [32].

Über die Bindung an G-Protein-gekoppelte Oxytocinrezeptoren (OXTR) erfolgt eine Aktivierung intrazellulärer Signalkaskaden zur Modulation weiterer neuronaler Mechanismen [33]. Die spezifische Expression des OXTR in verschiedenen Hirnregionen konnte an Nagetieren bereits umfassend kartiert werden. Dabei konnte eine verstärkte Dichte in olfaktorischen Strukturen verzeichnet werden, was eine Assoziation von Oxytocin mit der geruchsbasierten sozialen Erkennung unterstreicht [34][35].

2.2.2 Heterogene Befunde zur Wirkung von Oxytocin auf soziale Verhaltensweisen

Untersuchungen der Wirkweise von Oxytocin auf soziale Verhaltensweisen an Nagetieren führten bislang zu komplexen und widersprüchlichen Ergebnissen. So konnten fördernde Effekte auf prosoziale Verhaltensweisen, sowie die Erhöhung der sozialen Interaktionszeit nach zentraler oder peripherer Applikation von Oxytocin verzeichnet werden [36]. So demonstrierten etwa Zhang et. al eine Verstärkung des

sozialen Interaktionsverhaltens von Mäusen bei gleichzeitiger Hemmung einer mittels Applikation von Amphetamin induzierten Lokomotion [37].

Andere Studien wie die von Harrison brachten wiederum gegensätzliche Befunde hervor: So wurde hierbei nach peripherer Applikation von Oxytocin an weiblichen Hausmäusen keine signifikante Steigerung von sozialen Interaktionen verzeichnet [38][39]. Derartige Divergenzen von Befunden legen kontextbezogene Unterschiede in der Wirkweise von Oxytocin nahe, welche nicht zuletzt auch auf methodische Abweichungen zurückgeführt werden könnten [36].

Weitere Hinweise über verhaltensspezifische Wirkungen von Oxytocin lieferten entsprechende genetische Manipulationen: So zeigten Mäuse mit globaler Deletion des OXTR Defizite in der Erkennung von Artgenossen und deutliche Einschränkungen ihres Sozialverhaltens. Tiere in Untersuchungen von Pobbe et al. entwickelten Verhaltensmuster, die am ehesten mit Symptomen von Autismus Spektrum Störungen assoziiert werden [40]. Andere Studien wiederum konnten keine Beeinträchtigung der Kontaktfreudigkeit von OXTR-Knockout-Mäusen feststellen, was die komplexe und kontextabhängige Wirkung von Oxytocin unterstreicht [41].

2.2.3 Oxytocin und die Verarbeitung olfaktorischer Informationen

Die Modulation von Prozessen der olfaktorischen Informationsverarbeitung durch Oxytocin spielt eine entscheidende Rolle bei der Untersuchung explorativer sozialer Verhaltensweisen [42]. So erfolgt die soziale Erkennung bei Nagetieren über Vermittlung durch das primäre olfaktorische System in Form von Detektion und Verarbeitung sozialer Geruchsreize [43]. Die modulierenden Eigenschaften des Oxytocins in olfaktorischen Strukturen konnten im Rahmen mehrerer Studien verzeichnet werden [44]. So konnte der Einfluss des Neuropeptids auf die Signalverarbeitung im anterioren olfaktorischen Nucleus (AON) im Rahmen einer Studie von Oettl et al. verzeichnet werden, was auf einen begünstigenden Effekt der Verarbeitung sozialer Geruchsinformationen hinweisen könnte [42][45].

Die Bedeutung solcher neurophysiologischen Befunde für das Verständnis explorativer Verhaltensweisen gilt bislang als ungeklärt [46].

Es bleibt zu untersuchen, ob eine oxytocinassoziierte Modulation der olfaktorischen Verarbeitung von Reizen zur Ausbildung kurzer effizienter Explorationen von

Artgenossen führt, oder komplexere Verhaltensänderungen induziert.

2.2.4 Forschungslücken in der Untersuchung verhaltensmodulierender Eigenschaften von Oxytocin

Eine wesentliche Einschränkung bisheriger Studien besteht in der zeitlich und räumlich begrenzten Auflösung von Verhaltensanalysen [47]. So erfassten bisherige Untersuchungen zumeist nur die Gesamtdauer sozialer Interaktionen oder grobe Verhaltenskategorien ohne die umfassende Differenzierung explorativer Verhaltensweisen und ohne die Erfassung dynamischer Übergänge bei komplexeren Interaktionen [18].

Von besonderem Interesse und bislang unzureichend erforscht sind die folgenden Aspekte:

1. **Einflüsse von Oxytocin auf die Häufigkeit initialer Annäherungen:** Eine verstärkte soziale Interaktion nach Applikation von Oxytocin konnte bereits in einigen Studien verzeichnet werden, wobei eine systematische Analyse begünstigender Faktoren für initiales Annäherungsverhalten bislang fehlt [49].
2. **Modulation von Verhaltensübergängen:** Die Wahrscheinlichkeit, mit der eine initiale Annäherung zur direkten sozialen Interaktion (z.B. Schnüffeln) führt, könnte durch Oxytocin moduliert werden, wurde jedoch bislang nicht quantitativ erfasst [45].
3. **Effizienz der sozialen Informationsaufnahme:** Die Hypothese, dass Oxytocin durch eine Verbesserung der sensorischen Verarbeitung zu kürzeren, effizienteren Explorationen von Artgenossen führt, erfordert hochauflösende Verhaltensanalysen. Eine Klärung der Zusammenhänge ist daher bislang nicht abgeschlossen [50].
4. **Komplexität sozialer Verhaltenssequenzen:** Eine systematische Untersuchung der Auswirkungen von Oxytocin auf die Struktur und Komplexität sequentieller Verhaltensmuster wurde bislang nicht durchgeführt [51].

Eine hochauflösende Erfassung der räumlichen und zeitlichen Eigenschaften explorativer Verhaltensweisen, sowie die Identifikation komplexer Sequenzmuster, könnte wesentlich zum Verständnis der verhaltensmodulierenden Wirkung von Oxytocin beitragen [18]. Bisherige methodische Ansätze bieten lediglich begrenzte

Möglichkeiten zur Erfassung subtiler Verhaltensmodulationen [52].

Aufgrund dieser methodischen Limitationen und der widersprüchlichen Literatur wäre ein methodischer Fortschritt hin zu verfeinerten Analysetechniken von entscheidender Bedeutung, um eine präzisere Quantifizierung oxytocinvermittelter Modulationen explorativer sozialer Verhaltensweisen zu ermöglichen. Eine Kombination der fortschrittlichen Anwendungen DeepLabCut und SimBA zur markerlosen Posenerkennung und anschließenden Verhaltensklassifikation bietet dafür einen vielversprechenden Ansatz.

2.3 Soziales Gedächtnis und explorative Verhaltensweisen

2.3.1 Grundlagen des sozialen Gedächtnisses bei Nagetieren

Das soziale Gedächtnis bildet eine kognitive Grundlage ermöglicht die Wiedererkennung von Artgenossen als zentrales Element für die Ausbildung sozialer Bindungen [53]. Untersuchungen an Nagetieren zeigen einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Fähigkeit zur Diskriminierung von bekannten und unbekanntem Artgenossen und der olfaktorischen Verarbeitung sozialer Informationen [54].

Untersuchungen im Rahmen von Habituations-Dishabituations-Paradigmen zeigten eine Abnahme explorativer Verhaltensweisen auf Präsentation eines bekannten sozialen Stimulus und die Wiederaufnahme des Interesses gegenüber einem unbekanntem Stimulus [43]. Alternativ konnte ein Unterschied in der Ausprägung explorativer Verhaltensweisen quantifiziert werden und Aufschluss über die Differenzierungsfähigkeit zwischen bekannten und unbekanntem Artgenossen geben [55].

2.3.2 Aktueller Forschungsstand zum Zusammenhang von Explorationsverhalten und Gedächtnisbildung

Für die Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses sind sowohl die Art, als auch die Intensität vorausgegangener sozialer Interaktionen von Bedeutung [54]. So zeigten Untersuchungen von Ferguson et al., dass für die Ausbildung eines robusten sozialen Gedächtnisses ein Mindestmaß an direkter sozialer Interaktion notwendig sei. Zur Aufnahme relevanter Informationen scheinen insbesondere das Schnüffeln an Kopf-

und Anogenitalregion entscheidend zu sein [61].

Untersuchungen zugrundeliegender molekularer Mechanismen der Gedächtnisbildung zeigten die bedeutende Rolle von Neurotransmittern, wie Glutamat [62], Dopamin [63], Oxytocin [58] und Vasopressin [64]. Die Frage, inwiefern spezifische Verhaltensmuster während der Exploration von Artgenossen mit der Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses korrelieren blieb dabei weitestgehend ungeklärt [54].

2.3.3 Korrelation von Explorationsparametern und der Ausbildung des Gedächtnisses

Bisherige Untersuchungen der Beziehung von explorativen Verhaltensweisen und der Ausprägung eines sozialen Erinnerungsvermögens stützten sich zumeist auf grobe Parameter wie der Gesamtdauer von Interaktionen. Differenzierte Verhaltensparameter und deren Auswirkungen wurden bislang jedoch nicht umfassend berücksichtigt [18][54][65].

Insbesondere die folgenden Aspekte sind aktuell nur unzureichend untersucht:

1. **Häufigkeit vs. Dauer sozialer Interaktionen:** Ob häufige kurze Interaktionen oder eher wenige, längere Kontakte zur effektiven Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses beitragen ist bislang nicht abschließend geklärt und erfordert eine zeitlich hochauflösende Analyse von Verhaltensparametern zur detaillierteren Differenzierung [18][66].
2. **Qualität der sozialen Exploration:** Eine systematische Quantifizierung der verschiedenen Formen explorativer Verhaltensweisen (z.B. Schnüffeln am Kopf vs. Anogenitalregion) und deren Auswirkungen auf die soziale Gedächtnisbildung wurde bislang nicht realisiert.
3. **Sequentielle Aspekte der Exploration:** Auswirkungen von Verhaltenssequenzen und -Übergängen auf die Effizienz von Informationen und damit die soziale Gedächtnisbildung blieben bislang ungeklärt
4. **Individuelle Variabilität des Explorationsverhaltens:** Wissenschaftliche Untersuchungen vernachlässigten bislang individuelle Abweichungen und deren Folgen auf die Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses.

Neuartige Ansätze der Elektrophysiologie ermöglichen die simultane Messung neuronaler Aktivitäten während der freien sozialen Interaktion von Versuchstieren. Sie bieten somit das Potenzial zur direkten Gegenüberstellung spezifischer Verhaltensparameter und neuronalen Aktivitäten, die unter anderem mit der Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses assoziiert sein können [67][68]. Die Durchführung von hochauflösenden Verhaltensanalysen in Kombination mit derartigen Messungen entscheidend sein, um die Zusammenhänge zwischen explorativen Verhaltensweisen und der Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses zu verstehen [23][69].

2.3.4 Methodische Limitationen und bestehende Forschungslücken

Die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Explorationsverhalten und Gedächtnisbildung bringt bislang mehrere Forschungsfragen und Herausforderungen mit sich:

1. **Einschränkungen in der zeitlichen und räumlichen Auflösung:** Traditionelle Methoden erfassen oft nur grobe Verhaltensparameter und daher unzureichend für die Analyse subtiler Anpassungsvorgänge. Diese sind jedoch von Nöten, um verhaltensspezifische Einflüsse genauer untersuchen zu können [65].
2. **Mangel an standardisierten Verhaltenskategorien:** Abweichungen in der Definition und Erfassung von sozialen Verhaltensweisen zwischen verschiedenen Studien erschweren systematische Vergleichsanalysen [65][69].
3. **Eingeschränkte Korrelationsmöglichkeiten:** Technischen Einschränkungen standen einer simultanen Erfassung von Verhalten und neuronaler Aktivität zumeist im Wege, sodass bislang kein Zusammenhang von Verhaltensparametern und neurophysiologischen Grundlagen der sozialen Gedächtnisbildung untersucht werden konnte [70].
4. **Fehlen longitudinaler Studien:** Welche langfristigen Folgen ein möglicher Zusammenhang von Explorationsverhalten und Gedächtnisbildung mit sich bringt ist zum aktuellen Zeitpunkt weitestgehend unerforscht [65].

Insbesondere methodische Einschränkungen stellen die Umsetzung tiefergehender Untersuchungen der Beziehung von explorativen Verhaltensweisen und der Ausprägung des sozialen Gedächtnisses vor Schwierigkeiten und erfordern die

Entwicklung innovativer Analysetechniken [65][69][70]. Eine präzise Erfassung sozialer Interaktionen durch die kombinierte Anwendung von Deeplabcut und SimBA bietet hierbei einen vielversprechenden Ansatz [68][23][69].

Deeplabcut ermöglicht die präzise Erfassung von Versuchstieren und deren Interaktionen durch die markerlose Posenerkennung mittels Verwendung neuronaler Netzwerke. Die Anwendung von SimBA hingegen ermöglicht die Klassifikation komplexer Verhaltensweisen durch fortschrittliche maschinelle Algorithmen [23]. Die Kombination von derartigen methodischen Innovationen zur Quantifizierung subtiler Explorationsparameter und simultanen elektrophysiologischen Messungen bietet vielversprechende Ansätze zur Untersuchung der Beziehung zwischen der Ausprägung explorativer Verhaltensweisen und der Entwicklung des sozialen Erinnerungsvermögens [18].

2.4 Der Einfluss aversiver sozialer Erfahrungen

2.4.1 Das Social Defeat Paradigma als experimentelles Modell

Der sogenannte Social Defeat hat sich in den letzten Jahren als robustes experimentelles Modell zur Simulation von chronischem sozialen Stress etabliert [71]. Zentrales Element ist hierbei eine kontrollierte zeitlich begrenzte Konfrontation des Versuchstieres mit einem aggressiven, überlegenen Artgenossen, die üblicherweise zu einer sozialen Niederlage (Defeat) führt [72]. Typischerweise erfolgt die Konfrontation im Rahmen zeitlich versetzter Episoden mit zwischenzeitlichen Phasen der Separation durch eine perforierte Trennwand, die einen sensorischen Kontakt ohne physische Interaktion ermöglicht [73].

Als Versuchstiere werden üblicherweise Mäuse aus C57BL/6-Stämmen mit größeren, aggressiveren CD1-Mäusen konfrontiert, was die zuverlässige Induktion einer sozialen Niederlage gewährleistet und einen robusten Rahmen für die Untersuchung stress-induzierter psychopathologischer Zustände schafft [74][75]. Dies führte bislang zum vermehrten Einsatz in der Erforschung von Depressionen, Angststörungen und sozialen Defiziten [76][77]. Insbesondere die Nutzung ethologisch relevanter sozialer Stressoren bildet einen besonderen Vorteil des Modells zur Nachstellung natürlicher aversiver Erfahrungen innerhalb von sozialen Gruppen [78].

2.4.2 Auswirkungen des Social Defeats auf die soziale Rangordnung

Soziale Niederlagen bei Mäusen, wie innerhalb des Social Defeat Szenarios bringen vielfältige Verhaltensänderungen mit sich: So reichen die Auswirkungen von einer unmittelbar erhöhten sozialen Vermeidung als defensives Verhaltensmuster, bis zum Übergang hin zu langfristigem Vermeidungsverhalten entsprechend der Entwicklung sozialer Ängste als sogenannte „Social Avoidance“ [77][81]. Soziale Niederlagen scheinen sich auch auf den sozialen Status innerhalb der Gruppe auszuwirken. So konnten Studien an Mäusen soziale Rangverluste innerhalb der vorherrschenden sozialen Gruppe verzeichnen, die mit entsprechenden Änderungen des Dominanzverhaltens einhergingen [79][80]. Derartige Verhaltensanpassungen beeinflussen zugrundeliegende neurobiologische Prozesse und sind mit Modifikationen innerhalb der verschiedenen Neurotransmittersysteme assoziiert. Betroffen sind dabei insbesondere die Neurotransmitter Serotonin [81], Dopamin [82] und Oxytocin [83]. Doch auch strukturelle Veränderungen in verhaltensregulatorischen Hirnregionen wie der Amygdala [85], dem präfrontalen Kortex [84] und dem Nucleus accumbens [86] konnten nachgewiesen werden.

2.4.3 Der prädiktive Wert individueller Verhaltensreaktionen während des Social Defeats

Während die Mehrheit der Studien allgemeine physiologische und verhaltensbiologische Auswirkungen sozialer Niederlagen betrachtet blieben unmittelbare Verhaltensreaktionen von Versuchstieren während dem Erleben aversiver sozialer Erfahrungen weitestgehend unbeachtet [87][88]. Erste Hinweise lassen allerdings deutliche Unterschiede individueller Bewältigungsstrategien vermuten [88]. Spezifische Reaktionsmuster von „Freezing“ oder Unterwerfung bis hin zu aktiven Verteidigungsreaktionen könnten von prädiktivem Wert für die Vorhersage langfristiger Entwicklungen der sozialen Rangordnung sein [87][88][89].

Vor diesem Hintergrund erscheinen insbesondere die folgenden Verhaltensparameter während des Social Defeat Paradigmas relevant:

1. **Distanzverhalten:** Als Indikator für die Intensität von Stressreaktionen könnte die räumliche Distanz des Versuchstieres hin zum Aggressor von prädiktiver Bedeutung für nachfolgende Rangveränderungen sein. Dabei könnten neben

selbst während der Separationsintervalle Abweichungen und Tendenzen der einzelnen Tiere berücksichtigt werden.

2. **Defensives Verhalten:** Bereits die Qualität und Quantität defensiver Verhaltensreaktionen während der direkten Konfrontation könnten Aufschluss über die Ausprägung unterschiedlicher Bewältigungsstrategien bieten [89].
3. **Erholungsverhalten:** Die Dauer der Rückkehr der Tiere von einer aggressiven Interaktion zurück zu normalem explorativen Grundzustand könnte einer ersten Abschätzung von Resilienzfaktoren dienen [90].

2.4.4 Methodische Limitationen und bestehende Forschungslücken

Mehrere methodische Herausforderungen erschweren bislang die systematische Untersuchung prädiktiver Verhaltensmarker:

1. **Komplexe Interaktionsdynamik:** Eine präzise manuelle Annotation einzelner Verhaltenskomponenten wird bislang durch die Kombination von Komplexität und Dynamik in aggressiven Interaktionen erschwert [72][5].
2. **Standardisierungsprobleme:** Deutliche Abweichungen in der Ausprägung des aggressiven Verhaltens von CD1-Mäusen erschweren eine Standardisierung der Intensität im Rahmen des Social Defeats [73].
3. **Erfassung subtiler Verhaltensänderungen:** Relevante Verhaltensänderungen sind subtil und werden oftmals von traditionellen Verhaltensmustern überlagert [87].
4. **Longitudinale Verhaltenserfassung:** Die hohen technischen Ansprüche einer kontinuierlichen Erfassung von Versuchstieren erschweren die langfristige Untersuchung subtiler Verhaltensänderungen [72][91].

Dass mögliche Zusammenhänge zwischen spezifischen Verhaltensreaktionen während aggressiven sozialen Konfrontationen ähnlich des etablierten Social Defeat Protokolls und Änderungen der sozialen Rangordnung weitestgehend unerforscht blieben, ist die Folge bestehender methodischer Einschränkungen. Tiefere Untersuchungen könnten entscheidende Erkenntnisse zur Ausprägung individueller Bewältigungsstrategien in Folge sozialer Stressoren bieten und den Grundstein für weitere Untersuchungen im Rahmen der Resilienzforschung legen.

Hochauflösende Verhaltensanalysen durch Anwendung von Deeplabcut und SimBA

könnten subtile Verhaltensreaktionen erfassen. Dies könnte neue Erkenntnisse zu prädiktiven Verhaltensmarkern im Rahmen von Experimenten ähnlich des Social Defeat Paradigmas liefern [92].

2.5 Forschungslücken und methodische Herausforderungen

Zusammenfassend konnte die themenspezifische Literaturrecherche im Rahmen der vorliegenden Arbeit folgende Herausforderungen und Forschungslücken offenlegen:

1. **Im Bereich der Oxytocinforschung:** Eine verhaltensmodulierende Rolle von Oxytocin bleibt trotz zahlreicher Studien insbesondere in Bezug auf die Ausprägung spezifischer Verhaltensmuster und sequenzieller Verhaltensübergänge ungeklärt. Insbesondere unzureichende methodische Ansätze erschweren die Entwicklung und Durchführung von zeitlich und räumlich hochauflösenden Verhaltensanalysen maßgeblich.
2. **Zur Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses:** Ein direkter Zusammenhang zwischen der Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses und dem Auftreten spezifischer sozialer Verhaltensweisen wurde nur unzureichend untersucht. Somit erfolgte in diesem Kontext bislang keine Differenzierung der Auswirkungen auf das Erinnerungsvermögen in Abhängigkeit von Häufigkeit und Dauer sozialer Interaktionen.
3. **Im Bereich aversiver sozialer Erfahrungen:** Die prädiktive Bedeutung spezifischer Verhaltensreaktionen im Rahmen aversiver sozialer Erlebnisse für langfristige Veränderungen der sozialen Rangordnung bleibt weitestgehend unerforscht. Zurückzuführen ist dies unter anderem auf technische Herausforderungen bei der präzisen Erfassung komplexer aggressiver Verhaltensdynamiken.

Die offenen Forschungsfragen und Herausforderungen im Rahmen des aktuellen Forschungsstands bestätigen den Bedarf an methodischen Ansätzen für zeitlich und räumlich hochauflösende Verhaltensanalysen. Sie sind der notwendige Schritt hin zu adäquaten Untersuchungen subtiler, komplexer Verhaltensweisen.

Einen vielversprechenden Ansatz hierzu liefert die Anwendung und Verknüpfung jüngster technische Fortschritte im Bereich der künstlichen Intelligenz und des maschinellen Lernens. So bietet etwa die Entwicklung spezifischer neuronaler

Netzwerke vielversprechende Möglichkeiten zur markerlosen Aufzeichnung von Versuchstieren (Deeplabcut). Zugleich ermöglicht die Verwendung von Random Forest-Modellen die Durchführung einer automatisierten Verhaltensklassifikation (SimBA).

Die systematische Integration derartiger Technologien zu reibungslosen methodischen Abläufen könnte wesentlich zum Verständnis sozialer Verhaltensmuster und Interaktionen beitragen. Letztlich könnte Dies zu entscheidenden Fortschritten der neuropsychiatrischen Forschung beitragen. So könnte ein besseres Verständnis sozialer Defizite bei Erkrankungen wie Störungen des Autismus-Spektrums von therapeutischer Bedeutung sein. Voraussetzung zur Anwendung von gewonnenen Erkenntnissen wären jedoch weitere präzise und differenzierte Analysen grundlegender Verhaltensmechanismen am Tiermodell.

3 Material und Methoden

3.1 Experimentelle Grundlage

Ziel der hier vorliegenden Arbeit war es eine hochauflösende Analyse zur Untersuchung sozialer Interaktionen an Mäusen zu entwickeln und zu validieren. Anschließend erfolgte eine Datenanalyse mit statistischen Testungen. Als Grundlage dienten experimentelle Aufzeichnungen mehrerer Projekte der AG Kelsch unter Verwendung verschiedener Mausmodelle und Kohorten:

1. Videoaufzeichnungen der Experimente des „*Social Defeat*“ Paradigmas. Die Daten wurden durch Dr. *Jonathan R. Reinwald* erhoben. 24 Tiere wurden für das „*Social Defeat*“-Paradigma eingesetzt. Nach dem ersten Durchlauf nahmen 22 Tiere an einem zweiten Durchlauf teil, da zwischenzeitlich zwei Tiere aufgrund von Infektionen ausschieden. Insgesamt liegen den nachfolgenden Untersuchungen somit Daten aus 46 Sessions zugrunde.
2. Videoaufzeichnungen des „*Social Interaction*“ Paradigmas. Die Daten wurden durch *David Wolf* erhoben. Die vorangegangenen Arbeitsschritte einschließlich des Aufbaus des Mausmodells, die entsprechende Viruspräparation der Tiere, die Durchführung elektrophysiologischer Messungen und Analysen erfolgten durch *David Wolf*. Insgesamt wurden 116 Durchläufe mit 28 Mäusen durchgeführt.
 - **Oxytocin-Knockout-Kohorte:** Diese Kohorte umfasste 12 Mäuse, davon 6 Tiere mit OXT-Knockout und 6 Kontrolltiere. Alle Tiere absolvierten jeweils zwei Durchläufe des *Social Interaction* Paradigmas, sodass insgesamt 24 experimentelle Sitzungen vorlagen.
 - **Oxytocin-Release-Kohorte:** Diese Kohorte bestand aus 16 Mäusen, die jeweils 2–3 Kontrollsessions sowie 2–3 Durchläufe mit optogenetisch induziertem Oxytocin-Release durchliefen. In dieser Kohorte wurden insgesamt 45 experimentelle Durchläufe mit Oxytocin-Release und 47 Kontrolldurchläufe ohne Oxytocin-Release durchgeführt.

In den folgenden Abschnitten werden die methodischen Herangehensweisen Untersuchungen und die dabei verwendeten Materialien ausführlich beschrieben. Abläufe, wie die Erstellung und Durchführung experimenteller Szenarien erfolgten in Teilen durch *Herrn Wolf* und *Herrn Reinwald*, sind jedoch für das methodische Hintergrundverständnis meiner Arbeitsschritte relevant und werden deshalb ausführlich beschrieben.

3.2 „Social Defeat“ Paradigma

3.2.1 Versuchstiere und Haltungsprotokoll

■ *Tiere und Rahmenbedingungen der Haltung*

Im Rahmen des „*Social Defeat*“-Paradigmas wurde eine Charge von insgesamt 24 männlichen C57BL/6N-Mäusen des von Charles River Laboratories verwendet. Das Alter der Tiere betrug zum Lieferzeitpunkt elf Wochen. Die experimentelle Vorbereitung folgte einem strukturierten Ablauf, der die Implantation einer Kopfhalterung, Habituerungsprotokolle und die Durchführung verschiedener Experimente. Relevant für diese Arbeit war dabei insbesondere der sogenannte „*Social Defeat*“ (s. Abschnitt 2.1.1b Experimenteller Ablauf des „*Social Defeats*“). Zwischenzeitlich wurden die Tiere gruppenweise im sogenannten NoSeMaze gehalten. Dabei handelt es sich um eine automatisierte Apparatur zur Haltung der Tiere bei zeitgleicher Erfassung diverser Verhaltensmerkmale. Eine genauere Beschreibung erfolgt im entsprechenden Textabschnitt.

Des Weiteren wurden vier CD1-Mäuse im Alter von 21-22 Monaten einzeln in Käfigen gehalten und für das „*Social Defeat*“-Paradigma eingesetzt. Futter und Wasser waren ad libitum zugänglich. Im Allgemeinen wurden keine weiblichen Mäuse verwendet, um mögliche Einflüsse auf das Sozialverhalten wie etwa durch Paarungsverhalten zu vermeiden.

Alle Versuchstiere wurden in einer kontrollierten Umgebung mit einer Temperatur von 24 °C, einer Luftfeuchtigkeit von 40–60 % und einem 24-Stunden-Licht-Dunkel-Zyklus gehalten. Die tägliche Überprüfung verschiedener Parameter wie der Wasseraufnahme, Gesundheit und Wohlbefinden wurde über die gesamte Versuchsdauer konsequent durchgeführt. Eine Gewichtskontrolle der Tiere erfolgte zu

Beginn und zum Ende des Versuchszeitraums. Zwischenzeitlich schieden 2 Mäuse aufgrund von Infektionen aus.

Alle durchgeführten Verfahren entsprachen der „National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals“ und der EU-Richtlinie 2010/63. Des Weiteren erfolgte eine Genehmigung durch die lokale Tierschutzbehörde (Referat 35, Regierungspräsidium Karlsruhe, Karlsruhe, Deutschland).

Non-invasive Sensor-Rich Maze (NoSeMaze)

Der NoSeMaze ist ein automatisiertes Habitat für die Haltung von Mauskohorten, welche auf dem „Automouse-Paradigma“ von Erskine et al., 2019 als technische Weiterentwicklung hervorgegangen ist. Es bietet einen halb-natürlichen Lebensraum, der eine offene Arena und eine Futterarena mit Behausungen beinhaltet. Die einzelnen Elemente des Aufbaus dienten Aufzeichnungen im Rahmen anderweitiger Untersuchungen. Dazu zählten unter anderem die Identifikation der Tiere während des Wechsels der Arenen durch das Passieren der Röhren, sowie die Aufzeichnungen olfaktorischer Lernens am Belohnungspost über den die Tiere ihre Versorgung mit Wasser sicherstellen. Sowohl die offene Arena als auch die Futterarena wurden 24/7 videoüberwacht (Abbildung 1).

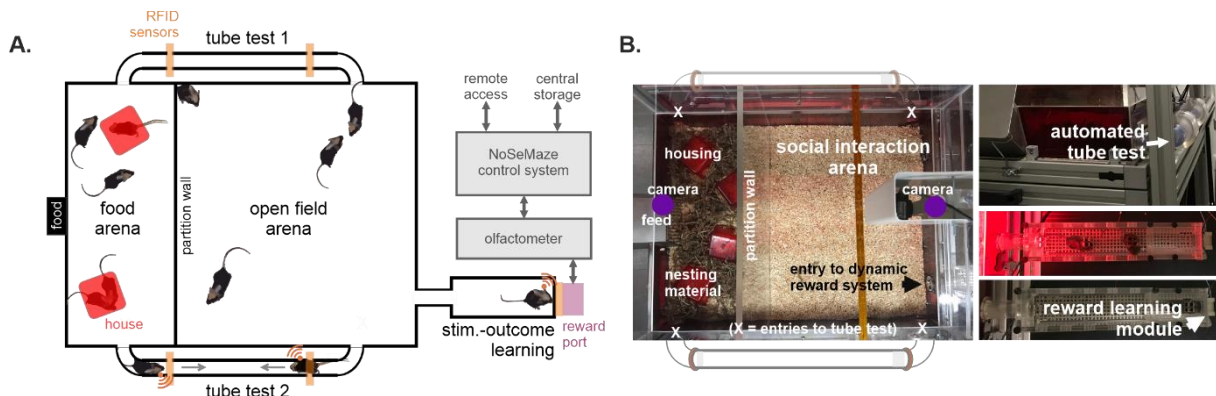


Abbildung 1: Experimentelle Konfiguration des NoSeMaze

A Schematische Darstellung des NoSeMaze-Aufbaus, des automatisierten Tube-Tests und der Verstärkungselemente.

B Foto der NoSeMaze-Konfiguration und ihrer Module.

Tube Tests

Wie bereits erwähnt wurden die beiden Arenen durch zwei mit RFID ausgestattete Tunnelgänge verbunden, welche die passierenden Tiere automatisch identifizierten und damit die Folgen eines Aufeinandertreffens zweier Mäuse erfassten. In der Regel erfolgte eine Unterordnung der rangniedrigeren Maus durch Zurückweichen, um den ranghöheren Artgenossen die ungehinderte Passage des Tunnels zu gewähren. So wurde die Identität der dominanten Maus nachfolgend an beiden Enden des Tunnels erfasst, während die untergeordnete Maus zweifach am selbigen Eingang des Tunnels detektiert wurde. Anhand dieser erfassten Informationen konnte anschließend durch Verwendung des sog. „David Scores“ [93] die Ermittlung sozialer Rangordnungen und Hierarchien erfolgen. Diese sollte dann als Grundlage für weitergehende Untersuchungen des sozialen Verhaltens und Zusammenlebens dienen.

Zeitlicher Ablauf der Haltung

Die Haltung der Mäuse unterlag einem strukturierten zeitlichen Ablauf und diente der simultanen Durchführung mehrerer Experimente. So erfolgte kurz nach Ankunft der C57BL/6N-Mäuse die operative Implantation der Kopffalterung mit anschließender Einzelhaltung zur postoperativen Erholung. Zur Gewöhnung an die halb-natürliche Umgebung der verschiedenen Lernmodule wurden die Mäuse für kurze Zeitabschnitte in kleinen Gruppen in das *NoSeMaze* überführt. Zeitgleich erfolgte die schrittweise Habituation an die Bedingungen der funktionellen Magnetresonanztomografie (fMRT). Dabei wurden die Mäuse schrittweise an die Kopffixation und den Ablauf des fMRT-Paradigmas herangeführt. Die Mäuse lebten dann über den Zeitraum von 7-8 Wochen in je 2 Gruppen mit 12 Tieren im *NoSeMaze*. Dabei erfolgte die Durchführung des „Social Defeat“-Paradigmas aufgeteilt in eine erste Sitzung nach 4-5 Wochen sowie einer zweiten Sitzung zum Ende des Aufenthaltes im Habitat nach weiteren 3-4 Wochen. Des Weiteren wurden verschiedene Experimente und Aufzeichnungen während des gesamten Zeitraums durchgeführt. Unter anderem erfolgte eine umfangreiche Analyse des Sozialverhaltens während des Zusammenlebens innerhalb des *NoSeMaze*, sowie *Tube Tests* zur Auswertung einer bestehenden Rangordnung basierend auf Messungen der Röhren, welche zum Wechsel der Arenen von Mäusen passiert werden mussten (Diese sind nicht Teil der hier vorliegenden Arbeit).

Die vorliegende Arbeit widmet sich der quantitativen Auswertung und Interpretation des „Social Defeats“ durch Betrachtung verhaltensspezifischer Auffälligkeiten in gruppenübergreifenden Vergleichen, sowie der Betrachtung einzelner Mäuse in Gegenüberstellung ihrer verschiedenen zeitlich versetzten Durchläufe. (s. Abschnitt 3.2.2.d Numerische und statistische Untersuchungen)

Während des gesamten experimentellen Zeitraums wurden die Tiere hinsichtlich ihres Gesundheitszustands und Wohlbefindens überwacht. Unter anderem wurde der tägliche Wasserverbrauch kontrolliert, sowie jeweils zu Beginn und Ende jedes Zyklus das Körpergewicht erfasst.

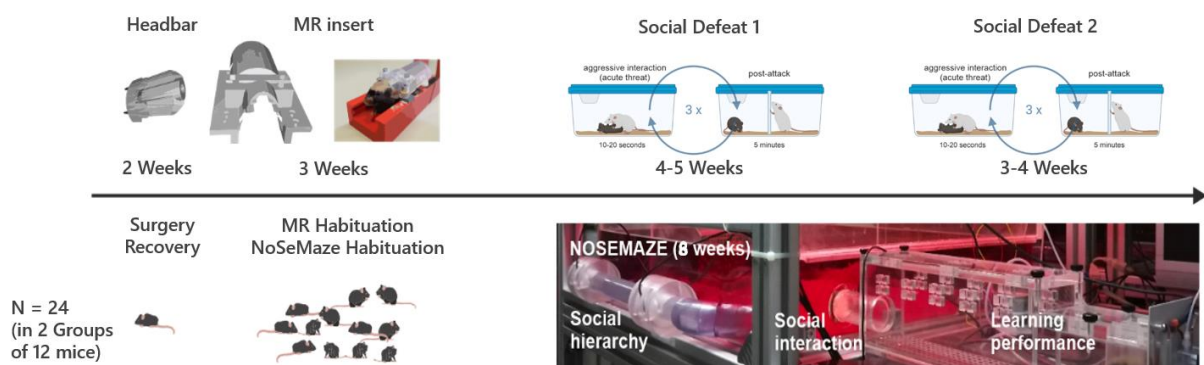


Abbildung 2: Experimentelles Design des NoSeMaze-Ansatzes mit intermittierenden „Social Defeat“ Experimenten:

Initial wurden die Tiere operiert nach einer postoperativen Erholung und an die MRT-Bedingungen zum Zwecke weiterer Experimente sowie das NoSeMaze gewöhnt. Anschließend lebten die Mäuse in 2 Gruppen von 12 Tieren im NoSeMaze und durchliefen parallel zum insgesamt 8 andauernden Autonomous Paradigmas zweimal das „Social Defeat“-Paradigma nach 4-5 Wochen, sowie nach weiteren 3-4 Wochen am Ende des Autonomous Paradigmas. Zwischenzeitliche Interventionen anderweitiger Experimente wie MR Scans oder Pupillentests werden hierbei zur besseren Übersicht vernachlässigt. Zwischenzeitlich wurden 2 Mäuse während des NoSeMaze Zeitraums nach Durchführung des ersten „Social Defeat“ - Durchlaufs aufgrund von Infektionen im Zuge der Kopffixation entfernt. Daher erfolgte der zweite Durchlauf des „Social Defeats“ mit 22 der vorherigen 24 Tiere.

Experimenteller Ablauf des Social Defeats

Die Durchführung der „Social Defeat“-Experimente erfolgte in Anlehnung an das zur Untersuchung von sozialem Stress etablierte Protokoll des „Social Defeat Paradigmas“, wobei eine Soziale Niederlage im Rahmen dieser Arbeit nicht angestrebt

wurde. Im Fokus lag stattdessen eine temporäre aggressive Konfrontation der Versuchstiere mit einem überlegenen Artgenossen zur Induktion sozial aversiver Erfahrungen, um unmittelbare Verhaltensreaktionen der Mäuse beobachten zu können. Um die methodische Abgrenzung zum etablierten Social Defeat-Paradigma zu verdeutlichen, wird der im Rahmen dieser Arbeit verwendete „Social Defeat“ in Anführungszeichen angeführt.

Im Rahmen des „Social Defeat“-Paradigmas wurden die C57BL/6N-Mäuse jeweils zweimal in eine aggressive soziale Interaktion versetzt. Dabei handelte es sich um die Konfrontation mit einer unbekanntem aggressiven CD1-Maus. Hierbei erfolgte eine Vorselektion der Tiere mit kurzen Angriffslatenzen (<10 Sekunden), um eine ausgeprägte Aggressivität zu gewährleisten. Die C57BL/6N-Mäuse wurden in jeder Sitzung einem anderen ihnen unbekanntem Aggressor konfrontiert. Die Durchführung der Experimente erfolgte in einem separaten Käfig außerhalb des NoSeMaze. Dabei gewonnene Videoaufzeichnungen wurden für nachfolgende quantitative Verhaltensanalysen zur Verfügung gestellt.

Für das Experiment wurde jeweils eine C57BL/6N-Maus nach Entfernung von Futter und Einstreu in den Käfig der CD1-Maus überführt. Eine direkte Konfrontation folgte nach einer kurzen anfänglichen Separationsphase, indem eine bisherige Trennung aufgehoben wurde. Die anschließende Phase der direkten Konfrontation führte meist zum unmittelbaren Angriff durch die bereits vorhandene CD1-Maus. Diese „Fighting“ Sequenzen des „*Social Defeats*“ dauerten in der Regel 20-30 Sekunden und wurden unterbrochen sobald die C57BL/6N-Maus Anzeichen von Unterwerfung aufzeigte, um Verletzungen der Tiere zu vermeiden. Die verwendete Trennwand bestand aus luftdurchlässig perforiertem Plastik und diente der Separation der Tiere für den Zeitraum von etwa 5 Minuten bis zur erneuten Konfrontation. Insgesamt erfolgten in jedem Durchlauf 3 derartige Sequenzen. Dabei wurde keine der Mäuse schwerwiegend verletzt. Die Durchführung der Experimente erfolgte durch *Dr. Jonathan Reinwald* als wissenschaftlicher Mitarbeiter der AG Kelsch. Die aufgezeichneten Videodateien wurden anschließend im Rahmen dieser Arbeit zur quantitativen Analyse durch die Anwendungen *Deeplabcut* [25] und *SimBA* zur Verfügung gestellt.

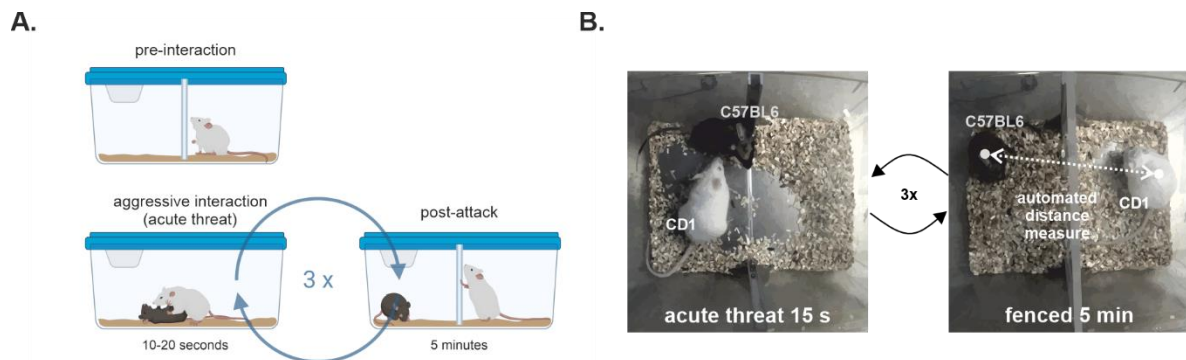


Abbildung 3: Das „Social Defeat“ Paradigma - eine aggressive soziale Interaktion außerhalb des Labyrinths

A Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus des „Social Defeat“ Paradigmas. Eine C57BL/6N-Maus wird in den Heimkäfig einer CD1-Maus gesetzt. Die beiden Mäuse kämpfen und werden anschließend durch eine perforierte Plastiktrennwand getrennt. Die Sequenz aus Angriff und Trennung wiederholt sich insgesamt dreimal.

B Foto aus den beiden Phasen des Experiments: Angriff und Interaktion (akute Bedrohung, links) sowie Trennungsphase (rechts).

3.2.2 Verhaltensanalyse

█ Allgemeiner Ablauf und Vorbereitung

Im Rahmen meiner Doktorandentätigkeit widmete ich mich unter anderem der quantitativen Analyse individueller Verhaltensweisen von Mäusen innerhalb des „Social Defeat“-Paradigmas. Eingeschlossene Videodateien des Formates MP4 wurden vorab vereinheitlicht, um Komplikationen und Abweichungen in nachfolgenden Analysen zu vermeiden. Anschließend verwendeten wir die Open Source Anwendung Deeplabcut (kurz „DLC“) zur Erstellung, Optimierung und Anwendung eines neuronalen Netzwerks. Durch umfangreiches Training, konnte schlussendlich eine zuverlässige Netzwerkleistung zur einheitlichen automatisierten Analyse sämtlicher Videos verwendet werden. Gewonnene Datensätze wurden dann sowohl unter manueller Auswertung mittels Excel VBA, als auch durch die Open Source Anwendung namens *SimBA* (*Simple Behavior Analysis*) verarbeitet.

Der Schwerpunkt lag dabei auf der systematischen Verhaltensklassifikation durch die Zuordnung numerischer Muster innerhalb der mit *Deeplabcut* [25] erhobenen Trackingdaten. Ziel war es, grundlegende Verhaltensvorgänge und Bewegungsabläufe von Mäusen während der Experimente des „Social Defeat“

Paradigmas zu erfassen und für quantitative Verhaltensanalysen zur Verfügung zu stellen.

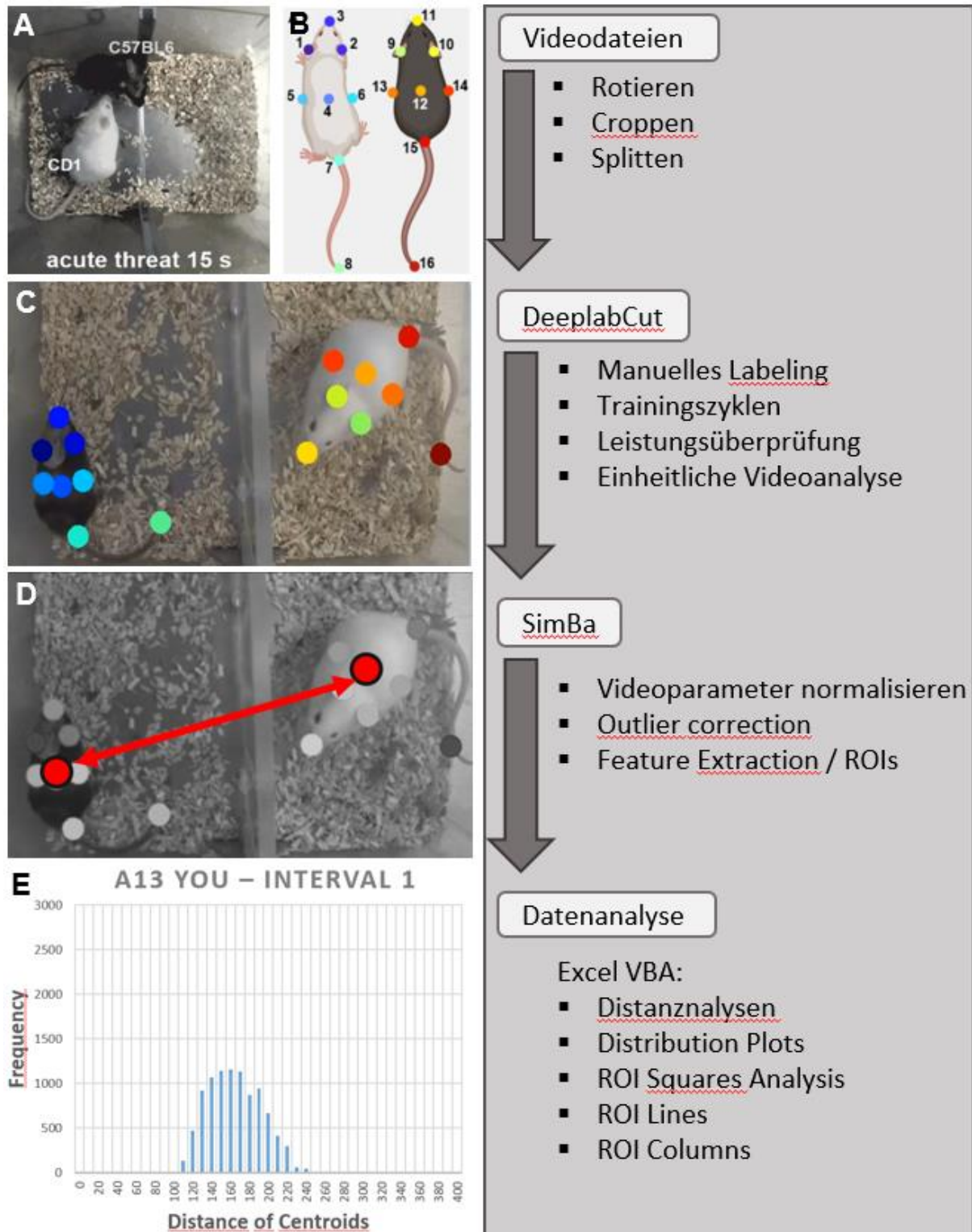


Abbildung 4: Strukturierte Übersicht der Herangehensweise zur Verhaltensanalyse

A Während der „Social Defeat“-Experimente aufgezeichnete Videodateien mussten vorerst vereinheitlicht werden.

B Mit Erstellung des DLC Projektes erfolgte initial eine projektübergreifend einheitliche Deklaration von 16 relevanten Körperteilen der Tiere

C Nach umfangreichem Training des Netzwerks konnten zuverlässige maschinelle Vorhersagen generiert werden und ermöglichten eine einheitliche automatisierte Verhaltensanalyse zur Erstellung metrischer Datensätze als Tracking Informationen.

D Mittels SimBA (Simple Behavioral Analysis) konnten ‚Features‘ (metrische Muster) aus zugrundeliegenden DLC Tracking Informationen extrahiert werden. Distanzen ausgewählter Körperteile konnten für weitere numerische Auswertungen herangezogen werden, wie hier dargestellt die ‚centroid to centroid distance‘. Ein Netzwerk zur automatisierten Verhaltensanalyse wurde im Rahmen des „Social Defeat“ Paradigmas nicht erstellt.

E Anhand der extrahierten Distanzen wurden numerische Untersuchungen mittels Excel in Form von kontinuierlichen Zeitverläufen und darauf basierenden Distributions-Diagrammen hinsichtlich der Häufigkeitsverteilung verschiedener Distanzen veranschaulicht.

Videodateien

Im Rahmen des „Social Defeat“-Paradigmas wurden 46 Videoaufzeichnungen erstellt, wobei aufgrund des zwischenzeitlichen Ausscheidens zweier Mäuse nur 44 davon verwendet wurden. Zur Vereinheitlichung wurden die Bildausschnitte so angepasst, dass sie lediglich den Käfig erfassen, um Störfaktoren der näheren Umgebung zu auszulöschen. Dazu nutzen wir die in *Deeplabcut* integrierte *Cropping* Funktion unter Verwendung einer entsprechenden GUI. Anschließend wurden die Videos mittels entsprechender Bearbeitungsfunktionen innerhalb des VLC Players rotiert, um Verschiebungen des Käfigs auszugleichen.

Aufgrund der unzureichenden Bildauflösung während der intensiven Kampfszenen rückte die Betrachtung der Separationsintervalle für die quantitativen Verhaltensanalysen in den Fokus.

Um zuverlässigere Videoanalysen zu erhalten, splitteten wir die Videos jeweils in 3 „*Fighting*“ und 3 „*Separation*“-Intervalle. Dazu verwendeten wir die „*Website „Split Video Online - Split video in a browser (Free & Secure)*“. Für jede der C57/BL6N-Mäuse wurden entsprechend 3 *Separationsintervalle* ‚1‘, ‚2‘ und ‚3‘ als eigenständige Videodateien im MP4 Format gesichert. Diese wurden auf eine Dauer von 4:30 Minuten standardisiert, was bei einer Bildfrequenz von 29,97 Frames pro Sekunde einer Gesamtzahl von knapp 8091 Frames pro Sequenz entsprach. Zum Training des Netzwerks innerhalb des DLC Projektes verwendeten wir jedoch die ursprünglich ungekürzten 44 Videodateien. Für die endgültige automatisierte DLC Videoanalyse

hingegen nutzten wir die extrahierten Separationsintervalle in Form von 132 kurzen Videoclips.

■ *Markerlose Posenerkennung mittels Deeplabcut*

Zur automatisierten Detektion und Aufzeichnung vordefinierter Körperteile von Mäusen in Videos wurde die Open Source Anwendung *Deeplabcut* (DLC) eingesetzt, welche auf Deep-Learning-Mechanismen basierte. Innerhalb eines spezifischen DLC-Projekts wurde ein auf die verwendeten Videos abgestimmtes neuronales Netzwerk (basierend auf ResNet-50) erstellt und durch mehrere Trainingszyklen optimiert. Zu Beginn wurden Frames ausgewählter Videos extrahiert, anhand deren manuelle Markierungen vorgenommen wurden, um diese als Grundlage für anschließende Trainings des Netzwerks zu verwenden.

Trainingszyklen umfassten jeweils die Erstellung eines aktuellen Trainingsdatensatzes, die Durchführung eines Trainingsdurchlaufs, sowie eine anschließende Evaluation der verbesserten Netzwerkleistung. Nachfolgend wurde das aktualisierte Netzwerk zur Analyse repräsentativer Videos herangezogen. Dabei erstellte Visualisierungen dienten zur subjektiven Leistungsüberwachung. Zugleich wurden dabei sogenannte Outlier-Frames anhand benutzerdefinierter Kriterien identifiziert und extrahiert, um nach gezielter manueller Korrektur zu bestehendem Trainingsdatensatz hinzugefügt, zu werden. Dadurch sollte das Netzwerk weiter verbessert und eine robuste Vorhersageleistung sichergestellt werden.

Zur objektiven Überprüfung des Trainingsfortschritts wurden die während des Evaluationsschritts gewonnenen Messwerte analysiert und mit subjektiven Eindrücken aus den Visualisierungen maschineller Vorhersagen verglichen. Die Trainingszyklen wurden iterativ durchgeführt, bis eine zufriedenstellende Performance in repräsentativen Analysen verzeichnet werden konnte.

Auf Basis eines optimierten Netzwerks erfolgte letztlich die abschließende Analyse aller Videos des „Social Defeat“ Paradigmas. Die dabei erhobenen metrischen Daten wurden nach einer Zwischenfilterung in Dateien des Formates csv gespeichert und für die nachfolgende Verhaltensklassifikation durch die Software *SimBA* (Simple Behavior Analysis) bereitgestellt.

Installation der Anwendung Deeplabcut:

Die Installation wurde auf einem Linux-Server unter Verwendung der Python-Distribution Anaconda durchgeführt. Deeplabcut konnte sowohl über die grafische Benutzeroberfläche (GUI), als auch über das Terminal mittels Python-Befehlen bedient werden.

Erstellung des Deeplabcut Projekts:

Die Einrichtung eines Projekts in Deeplabcut erfolgte über eine entsprechende grafische Benutzeroberfläche (GUI), wobei Parameter wie Speicherort, Projektname, Benutzername und die Videodateien für Analysen festgelegt werden konnten. Im Gegensatz zum späteren Social Interaction Paradigma wurde hierbei ein Single-Animal-Projekt konfiguriert. Dies erfolgte aufgrund der zum damaligen Zeitpunkt verfügbaren Version von Deeplabcut mit noch begrenzter Funktionalität.

Entsprechend des Single-Animal Netzwerks erfolgte die Zuordnung von Körperteilen nicht über definierte Identitäten, sondern wurde singulär ohne Beachtung übergeordneter Identitäten vorgenommen. Dies erwies sich jedoch aufgrund der deutlich zu unterscheidenden Fellfarben von C57BL/6N- und CD1-Mäuse (braun vs. Weiß) als unproblematisch.

Des Weiteren wurden mehrere Subdirektionen zur Sicherung von DLC-Netzwerken, Videodateien, gelabelten Daten und Trainings-Datensätzen erstellt. Zur Sicherung von Deklarationen und Selektionen wurde eine entsprechende Konfigurationsdatei innerhalb des Projektordners abgelegt.

Einige Parameter wurden nicht explizit bei Projekterstellung durch die GUI erfragt, sondern nachträglich manuell innerhalb der Konfigurationsdatei angepasst:

Parameter	Erläuterung
bodyparts	Durch den Benutzer werden gewünschte Bodyparts im Rahmen des Projektes definiert.
Numframes2pick	Die Anzahl der Frames, welche für das manuelle Labeling extrahiert werden sollen.

colormap	Verschiedene Farbkonzepte, die manuell ausgewählt werden konnten
Dotsize	Die Größe der künftigen Markierungen wie bspw. Bodyparts.
iteration	Hierbei konnte zwischenzeitlich ausgewählt werden, welcher Trainingsstand verwendet werden soll. Somit konnte hierbei auf vorangegangene Trainingsstände zurückgegriffen werden.

Extraktion der zu labelnden Frames:

Zur Erstellung des Trainingsdatensatzes wurden jeweils 10 Frames aller 44 Videos des „Social Defeat“ Projektes extrahiert. Damit überschritten wir die offizielle Empfehlung von 100-200 Frames [25], wobei diese in Abhängigkeit zur Videoqualität, gewünschter Genauigkeit oder kontextuellen Faktoren als variabel anzunehmen waren. Zur automatisierten Selektion der Frames verwendeten wir einen k-means Algorithmus, um eine repräsentative Auswahl zu gewährleisten. Bei unkenntlicher Darstellung innerhalb einzelner Bildausschnitte wählten wir alternative Frames, um mittels effektiven zu ermöglichen.

Dabei wurde geprüft, ob ausgewählte Frames relevante Interaktionen in ausreichendem Maße abbilden, um die Robustheit des Netzwerks sicherzustellen. Eine Alternative dazu bildete die Selektion der zu extrahierenden Frames durch manuelles User-Feedback.

Hierbei spezifische Parameter:

Parameter	Erläuterung
Extraction method	„automatic“ da wir eine automatische Selektion mittels k-means Algorithmus (s. obenstehend) bevorzugten
Cropping the frames	„False“, da wir Bildmaße bereits vorab projektübergreifend vereinheitlicht hatten.

User Feedback	'No' , da nur bei manueller Extraktion notwendig.
Algorithm	k-means: da hierbei Frames visuell gruppiert selektiert wurden, repräsentieren verschiedene Szenen basierend auf Ähnlichkeit. Uniform: alternative bei der Frames gleichmäßig in Zeitabständen selektiert worden wären.
Cluster step specification	'1'
GUI Slider width	'25'

Labeling extrahierter Frames:

Mit Hilfe der GUI konnten zuvor extrahierte Frames eines ausgewählten Videos geladen, und anschließend manuelle Markierungen spezifischer Körperteile und Identitäten vorgenommen werden:

Definierte Körperteile: *Nose, Ear_left, Ear_right, Center, Lateral_Right, Lateral_Left, Tailbase, Tailend.*

Verwendete Identitäten: *Keine.*

Benutzte Markergröße: *7'.*

Entsprechende metrische Datensätze wurden in Dateien des Formates „h5“- und „csv“- in jeweiligen Video-Ordern gesichert. Eine manuelle Anpassung der Markierungen konnte stets über die GUI jederzeit vorgenommen werden. Die möglichst präzise Positionierung der Markierungen war von zentraler Bedeutung zur Vermeidung systematische Fehler.

Erstellung des Trainingsdatensatzes:

Für das Training des Netzwerks wurde ein entsprechender Trainingsdatensatz erstellt. Verwendet wurde das Netzwerk *resnet_50'* sowie die Augmentierungsmethode *imgaug'*. Im Bereich *Shuffle index'* konnte die Anzahl paralleler Trainingsdatensätze manuell festgelegt werden. Diese unterschieden sich durch die zufällige Aufteilung der zuvor gelabelten Frames in die Kategorien *Train'* und *Test'*. Um mögliche

Verzerrungen der Leistungsergebnisse durch unterschiedliche Komplexitäten der Frames in der ‚Test‘-Kategorie zu vermeiden, konnten mehrerer Shuffles verwendet werden. Generierte Trainingsdatensätze wurden innerhalb der pose_cfg.yaml Datei gesichert und konnten zwischenzeitlich manuell angepasst werden. Grundsätzlich verwendeten wir zur Erstellung eines Trainingssets nur die allgemein empfohlenen Parameter der Anwendungsersteller und konnten damit zufriedenstellende Ergebnisse verzeichnen.

Training des Netzwerks:

Basierend auf dem erstellten Trainingsdatensatz wurde das Training des Netzwerks für einen spezifisch ausgewählten Shuffle durchgeführt. Dabei kamen die von Single-Animal DLC empfohlenen Parameter zum Einsatz:

Parameter	Erläuterung
Maximum Iterations	1030000
Save Iterations	50000
Display Iterations	1000

Evaluation des Netzwerks:

Im Rahmen der Evaluationsfunktion wurde anschließend nach Durchführung eines Trainings die Leistung des Netzwerks überprüft. Dabei wurden Informationen zur Kontinuität und Zuverlässigkeit analysierter Körperteile und Identitäten erhoben und in entsprechenden Plots visualisiert. Zur Leistungsüberwachung diente insbesondere der "mean average Euclidean error" (MAE), welcher die maschinell gesetzten Markierungen (Labels) den zugrundeliegenden manuellen Markierungen als Kontrolle gegenüberstellte und entsprechende Abweichungen quantifizierte. Insgesamt wurden 15 Trainingszyklen durchgeführt. Nach dem Vergleich sämtlicher ermittelten MAE`s wählten wir das Shuffle 8 für die umfassende einheitliche Videoanalyse. Mit einem Wert von 6,4 erzielte es den vergleichsweise geringsten Test Error (MAE) und präsentierte in Visualisierungen eine zufriedenstellende Vorhersageleistung.

Videoanalyse:

Im Rahmen der Videoanalyse wurde das gewünschte Videomaterial mithilfe spezifischer Shuffles und Trainingsindices automatisiert ausgewertet. Dabei kamen ausschließlich allgemein empfohlene Parameter für Single-Animal DLC-Projekte zum Einsatz, um eine standardisierte Verarbeitung sicherzustellen. Optional bestand die Möglichkeit, maschinell generierte Markierungen visuell darzustellen, um eine qualitative Einschätzung der Netzwerkeleistung zu ermöglichen. Nach Abschluss der Analyse wurden zugehörige Ergebnisse in Form von Tracking Aufzeichnungen als Dateien des Formates ‚csv‘ exportiert. Diese Daten konnten bei Bedarf über die grafische Benutzeroberfläche für ein optionales Refinement herangezogen und verfeinert werden, um Qualität und Verwendbarkeit von Analyseergebnissen zu verbessern.

Parameter	Erläuterung
Using ffmpeg to read metadata	‚No‘
Tracker Method	‚box‘
Overwrite tracking files	‚No‘
Calibrate animal assembly	‚No‘
Prioritize past connections over a window of size	‚0‘

Refinement der Trackingdaten:

Eine optionale Nachbearbeitung zuvor generierter Trackingdaten wurde genutzt, um die Qualität der Analyse aller Videos nach dem Netzwerktraining sicherzustellen. Der Schritt umfasste die manuelle Überprüfung, Korrektur und Filterung der maschinellen Vorhersagen.

Manuelles Refinement:

Über die grafische Benutzeroberfläche (GUI) wurde ein ausgewähltes Video zusammen mit den entsprechenden maschinell erzeugten Markierungen geladen. Die einzelnen Frames konnten manuell überprüft und bei Bedarf korrigiert werden, um die Präzision der Ergebnisse zu verbessern.

Filterung der Trackingdaten:

Zur Verringerung von Unsicherheiten und Ungenauigkeiten kamen Filter zum Einsatz, die anhand der Vorhersagewahrscheinlichkeiten selektierten. Körperteile wurden nur dann markiert, wenn ihre Auftretenswahrscheinlichkeit mindestens 60 % betrug.

Die Ergebnisse wurden in zwei separate CSV-Dateien überführt: Eine Datei enthielt die ungefilterten metrischen Daten maschineller Markierungen, während eine weitere Datei die gefilterten Datensätze sicherte.

Die Erstellung von Visualisierungen:

Optional konnten aus zuvor generierten Tracking-Daten und zugehörigen Videodateien aufschlussreiche Visualisierungen maschineller Markierungen erstellt werden. Diese ermöglichten die subjektive Überprüfung des Trainingsfortschritts und erfolgten anhand der nachfolgend zu jedem Trainingszyklus durchgeführten Analysen repräsentativer Videos.

Nach Angabe der gewünschten Videodatei, Auswahl eines Shuffles und eines entsprechenden Trainingsindex konnte zwischen einer farblichen Hervorhebung nach Körperteilen oder Individuen gewählt werden. Dabei wurden ebenfalls standardisierte Parameter für Multi-Animal DLC-Projekte verwendet, um eine konsistente und aussagekräftige Darstellung der Markierungen zu gewährleisten.

Parameter	Erläuterung
Videotype	„.mp4“
Shuffle	Entsprechend durchgeführter Analyse
Trainingsindex	Entsprechend durchgeführter Analyse
Include the skeleton	„No“
Specify number of trail points	„0“
With animal ID colored	Entsprechend der Fragestellung
Filter Prediction	Entsprechend der Fragestellung
Plot all bodyparts	„Yes“
Plot the trajectories	„Yes“
Tracker Method	„Box“

Extraktion von Outlier Frames:

Zur gezielten Optimierung des Netzwerks und Behebung von Schwachstellen bestand die Möglichkeit, fehlerhaft gelabelte Frames (*Outlier Frames*) manuell zu korrigieren. Die Selektion derartiger Frames erfolgte entsprechend verschiedener Kriterien, um gezielte Anpassungen des Trainingsdatensatzes vorzunehmen:

- **Jump:** Frames mit auffälligen Sprüngen in der Lokalisation einzelner Körperteil-Marker im Vergleich zu vorherigen Frames.
- **Fitting:** Zufällig ausgewählte Frames mit möglichst präzisen Markierungen durch das Netzwerk.
- **Uncertain:** Frames mit unsicheren Markierungen basierend auf einer Vorhersagewahrscheinlichkeit, die einen festgelegten Schwellenwert unterschreitet.
- **Manual:** Manuell ausgewählte Frames, die über die GUI gezielt für Korrekturen bestimmt wurden.

Nach jedem Trainingsdurchlauf erfolgte die Analyse exemplarischer Videos, wobei stets 100 Outlier Frames extrahiert und zur manuellen Korrektur bereitgestellt wurden. Anschließend wurden die korrigierten Frames dem bestehenden Trainingsdatensatz hinzugefügt, sodass dadurch bereits im nachfolgenden Training die effiziente Optimierung des Netzwerks bewirkt werden konnte.

Videoanalyse im Rahmen des „Social Defeat“ Paradigmas:

Nach mehreren Trainingszyklen erzielten wir eine Netzwerkleistung, die sowohl objektiv durch entsprechende Metriken als auch subjektiv anhand der Visualisierungen als zufriedenstellend bewertet werden konnte. Aufgrund von begrenzter Auflösung und Bildrate der Videoaufzeichnungen, die durch die hohe Bewegungsgeschwindigkeit der Tiere verursacht wurden, erfolgte eine Segmentierung der Videos in Fighting- und Separationsintervalle. Für die nachfolgende Analyse wurden ausschließlich die Separationsintervalle herangezogen, da diese eine präzisere Auswertung ermöglichten.

Insgesamt wurden 132 Separationsintervalle als eigenständige Videodateien innerhalb eines externen Ordners gespeichert und mittels trainiertem Deeplabcut-Netzwerk analysiert. Dabei erhobene Datensätze wurden in Dateien des Formates

CSV gesichert und für die weitere Verarbeitung mit SimBA verwendet.

■ *Maschinelle Verhaltensklassifikation mittels SimBA*

Die Anwendung SimBa wurde verwendet, um auf Grundlage von mittels DLC erhobener metrischer Datensätze spezifische Verhaltensanalysen durchzuführen. Anders als bei Analyse des Social Interaction Paradigmas erfolgte hierbei keine Verwendung eines Netzwerks, sondern der ROI – Analyse, sowie der Feature-Extraktion, die anschließend im Rahmen einer externen Datenanalyse mittels Excel, Matlab und Python verarbeitet werden konnte. Initial erfolgte die Erstellung des SimBA Projektes und der Import zu untersuchender Videodateien und zugehöriger DLC Tracking Dateien.

Nachfolgende Schritte dienten der Normierung von Videomaßstäben und der Bereinigung potenzieller Störfaktoren, durch die Korrektur vereinzelter Outlier Frames. Die Extraktion von Features als gezielte metrische Messgrößen, bildete die Grundlage weitergehender Datenanalysen. Aufgrund spezifischer ROI Analysen konnten Lokalisationen der Mäuse und Reaktionen auf gegenüberstehende Aggressoren in Form von CD1-Mäusen untersucht werden. Durch den Vergleich derselben Tiere über die Zeit hinweg sowie den Vergleich verschiedener Tiere innerhalb der beiden „Social-Defeat“-Durchläufe konnten weitere Erkenntnisse gewonnen werden.

Eine Entwicklung Random-Forest-basierter Verhaltensmodelle erfolgte im Rahmen des Social Interaction Paradigmas. Im Rahmen des „Social Defeats“ erfolgten weitergehende Verhaltensanalysen lediglich auf Grundlage der ‚Regions of Interest‘ (ROI) oder Feature Extraction.

Installation von SimBA:

Die Installation des Netzwerks wurde auf dem ZI-Server unter Nutzung der Python-Distribution Anaconda durchgeführt. Sämtliche Anwendungen und Analysen wurden vollständig über die zugehörige grafische Benutzeroberfläche (GUI) gesteuert.

Projekterstellung:

Die Projekte wurden über die grafische Benutzeroberfläche (GUI) initiiert, wobei der Speicherort, der Projektname und die Körperteilkonfiguration für die geplanten Verhaltensanalysen festgelegt wurden. Bereits bei der Erstellung oder auch

nachträglich konnten sogenannte Classifier (Verhaltensklassifikatoren) definiert werden, um die zu analysierenden Verhaltensweisen im weiteren Verlauf zu repräsentieren. Im Rahmen der Projekterstellung konnten direkt Videodateien im .MP4-Format sowie Trackingdaten im H5-Format importiert werden. Nach Abschluss des Vorgangs wurde ein Projektordner angelegt und relevante Deklarationen und Einstellungen in einer Konfigurationsdatei für die weitere Verarbeitung gesichert.

Definition der Videoparameter:

In diesem Schritt wurden einheitliche Standards für alle verwendeten Videos festgelegt, einschließlich der Auflösung (Pixel), der Bildrate (fps) und metrischer Distanzen. Über die grafische Benutzeroberfläche (GUI) wurden repräsentative Punkte innerhalb des Videos manuell markiert, sodass unter Berücksichtigung der angegebenen Distanzen in Millimetern die Pixel/mm-Auflösung berechnet wurde.

Diese Kalibrierung diente als Referenz bei weiteren Analyseschritten und konnte einheitlich auf alle Videos des Projekts angewendet werden, um konstante Rahmenbedingungen zu gewährleisten.

Funktion der Outlierkorrektur:

Zur Vermeidung systematischer Fehler innerhalb der nachfolgenden Analyseschritte, konnte die Korrekturfunktion von Outlierframes angewendet werden. Selektierte Outlierframes waren durch stark abweichende Positionen von Körperteilen gekennzeichnet, die anhand relativer Abstände ausgewählter Körperteile identifiziert wurden. Zur Korrektur konnten für jedes der analysierten Tiere zwei repräsentative Körperteile ausgewählt werden, deren mittlere oder mediane Distanz (je nach Auswahl) als Maßstab diente. Zusätzlich wurden gemäß Empfehlungen der Entwickler, ein sogenanntes *Location Criterion* von 1,5 und ein sogenanntes *Movement Criterion* von 1,0 festgelegt. Überschritten gemessene Distanzen die festgelegten Kriterien deutlich, wurden entsprechende Frames als Ausreißer klassifiziert und korrigiert. Nach Abschluss dieses Korrekturvorgangs wurde eine CSV-Datei zur Dokumentation der korrigierten Frames erstellt und innerhalb des Projektordners zur weiteren Nachverfolgung gesichert.

ROI – Regions of Interest:

Diese Funktion ermöglichte die Definition beliebiger Areale zur Durchführung spezifischer Messungen und Analysen. Eine sitzungsübergreifende Vereinheitlichung dieser sogenannten ROIs war von großer Bedeutung, um zuverlässige Ergebnisse gewährleisten zu können. Spezifische Messungen erfolgten hierbei durch Aufzeichnung wie die verbrachte Zeit innerhalb der definierten Areale (als Anteil der gesamten Sitzung), sowie die darin gemessene Geschwindigkeit und zurückgelegte Distanzen, oder der Distanz zwischen ausgewählten Körperteilen der betrachteten Tiere.

Für die Analysen wurden ROIs in unterschiedlicher Anordnung definiert (Abbildung 5 B-E). Die Rasterung des Käfigs mittels 9 Rechtecken ermöglichte es örtliche Präferenzen der Mäuse innerhalb des Käfigs zu untersuchen. Dazu wurden die Rechtecke entsprechend numerisch zu Columns (hinten, zentral, frontal) und zu Lines (oben, mitte, unten) summiert. Durch die Definition von ROIs sogenannter *Escape zones* entlang der Käfigwände (Abbildung 5 B), ließ das Fluchtverhalten in Form von Sprüngen, Klettern oder gezielter Exploration detektieren.

Durch die objektive Gegenprobe durch den Abgleich von jeweils gemessenen Zeiten konnten Überlappungen der ROIs stets vermieden werden. Wir verrechneten im Rahmen der Square Analysen die Datensätze der Körperteile *Ear_left* und *Ear_right* miteinander zum numerischen Äquivalent des Kopfes, um die vereinzelt Unzuverlässigkeit des Labels *Nose* zu kompensieren.

(Abbildung 5 A) Zur Extraktion ROI-assoziierter Merkmale innerhalb der *Escape zones* verwendeten wir jedoch wieder dem Körperteil ‚Nose‘ der Tiere aufgrund der repräsentativeren Lokalisation im Vergleich zum numerischen Mittelpunkt der beiden Ohren.

Die Auswertung sämtlicher *Separations-Intervalle* einzelner Durchläufe des „Social Defeat“ Paradigmas erfolgte unabhängig voneinander. Aus extrahierten Merkmalen konnten relevante Parameter für weitere Untersuchungen herangezogen werden. Dabei handelte es sich um folgende Messgrößen:

1. Der Anteil der Sitzung, in dem die experimentellen C57BL/6N-Mäuse im vorderen Bereich des Käfigs erkannt wurden.

2. Der Anteil der Sitzung, in dem die C57BL/6N-Mäuse in den *Escape zones* erkannt wurden.

3. Die gesamte von den C57BL/6N-Mäusen auf ihrer Käfigseite zurückgelegte Distanz in cm.

Bei insgesamt 35 Tieren konnte in 2 Fällen aufgrund beschädigter Videodaten nur jeweils eine der beiden „Social Defeat“-Sitzung analysiert werden.

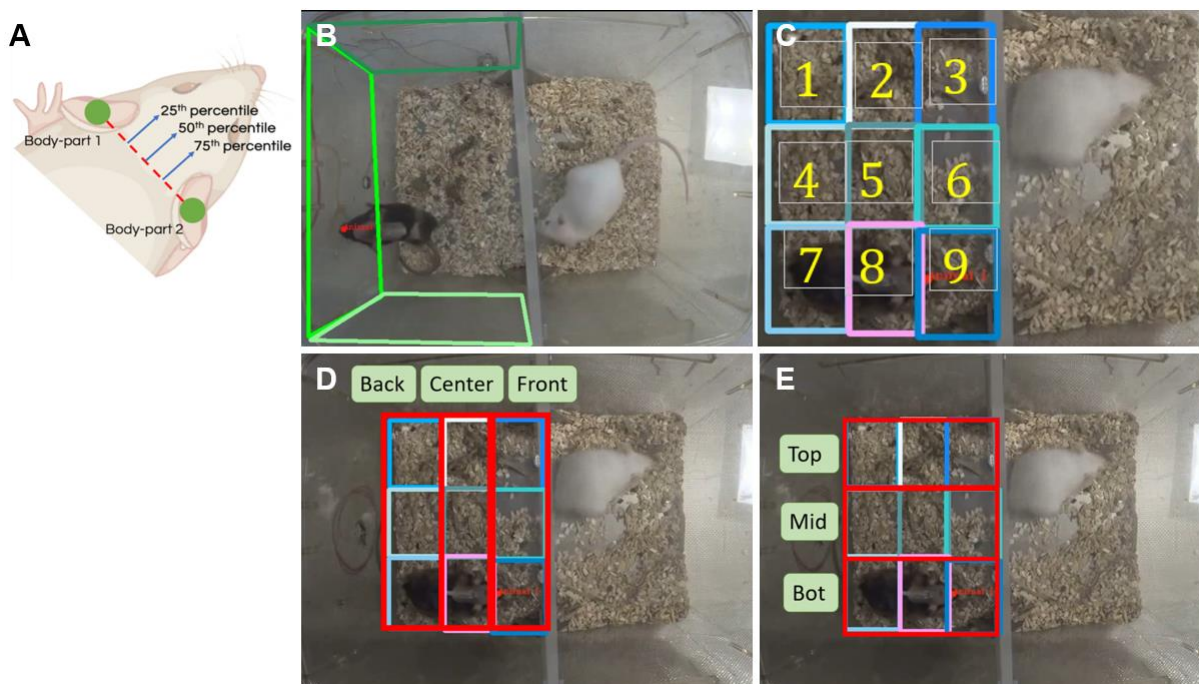


Abbildung 5: Analyse der „Regions of Interest“ (ROI)

A Errechnung eines numerischen Äquivalentes zur Lokalisation des Kopfes als 50. Perzentile der beiden Bodyparts ‚Ear_left‘ und ‚Ear_right‘.

B Die *Escape zones* wurden videoübergreifend angewendet um das Eintreten des Bodyparts ‚Nose‘ zu detektieren und daraus entsprechende Häufigkeit und Gesamtdauer, sowie mittlere Intervalllängen zu ermitteln.

C Die sogenannte *Square Analysis* umfasste 9 Rechtecke, deren Analyseergebnisse sich anschließend numerisch als Lines oder Columns summieren ließen, um spezifischere Betrachtungen zu ermöglichen.

D Die *Column ROIs* wurden numerisch aus zugrundeliegenden Daten der *Square ROIs* errechnet, wie bereits in C erläutert. Dabei galt folgende Zuordnung: Colum ‚Back‘ = Squares 1,4,7 / Column ‚Center‘ = Squares 2,5,8 / Column ‚Front‘ = Squares 3,6,9

E Die *Line ROIs* wurden numerisch aus zugrundeliegenden Daten der *Square ROIs* errechnet, wie bereits in C erläutert. Dabei galt folgende Zuordnung: Line ‚Top‘ = Squares 1,2,3 / Line ‚Middle‘ = Squares 4,5,6 / Line ‚Bot‘ = Squares 7,8,9

Feature-Extraktion:

Die Grundlage weiterer Schritte zu Erstellung und Training eines Netzwerks bildete die Extraktion spezifischer Verhaltensmerkmale (sogenannter Features) aus importierten Tracking-Daten. Unter Berücksichtigung von Koordinaten, der Bildrate und der Videoparameter (Pixel pro Millimeter), wurde eine Vielzahl von Features (Merkmale im Sinne genormter metrischer Messgrößen) berechnet, die weitergehend für die Verhaltensklassifizierung genutzt werden konnten. Im Rahmen unserer Untersuchung verwendeten wir sie direkt zur Durchführung numerischer und statistischer Auswertungen. Die extrahierten Features umfassten Abstände zwischen Körperteilen, Winkel, Flächen, Bewegungsmuster, Pfade und deren Abweichungen sowie hierarchische Beziehungen und Rangordnungen. Diese konnten sowohl innerhalb der einzelnen Frames, als auch über fortlaufende Zeitfenster hinweg analysiert werden. Die Auswahl der zu berechnenden Merkmale war dabei abhängig von definierten Körperteilen und spezifischen Anforderungen des Projekts. Weitere Informationen und eine umfassende Beschreibung der Features sind im SimBA-Repository hinterlegt:

(https://github.com/sgoldenlab/simba/blob/master/misc/features_user_defined_pose_config.csv)

Numerische und statistische Untersuchungen

Zur Untersuchung relevanter Verhaltensweisen der C57BL/6N-Mäuse während der „Social Defeat“ - Experimente führten wir grundlegende Distanzanalysen durch. Diese wurden initial phasenübergreifend (Abbildung 6 B) und anschließend tiefergehend hinsichtlich einzelner Separation Intervalle (Abbildung 6 B) untersucht. Auf Anzeichen deutlicher Abweichungen der einzelnen Tiere während der zeitlichen Verlaufsanalyse entschieden wir uns zur anschließenden Betrachtung der Häufigkeit definierter Distanzen über sogenannte Distributionsplots (Abbildung 6 C und D). Betrachtet wurde dabei stets die Messgröße ‚Nose_to_Nose_distance‘, welche vorab als Merkmal im Rahmen der Feature Extraktion ermittelt wurde.

Anschließende Auswertungen der im Rahmen von ROI Analysen ermittelten Messdaten verwendeten wir zur Betrachtung individueller Orts-Präferenzen und möglicher Anpassungen der Versuchstiere als Reaktion auf das Verhalten des Aggressors. Dabei summierten wir die innerhalb der Square Analyse ermittelten

Aufenthaltsdauern der einzelnen Tiere zu Columns (Abbildung 5 D) oder zu Lines (Abbildung 5 E). Des Weiteren quantifizierten wir die Ausprägung des individuellen Fluchtverhaltens durch Summation sowohl der Eintrittshäufigkeiten, als auch der innerhalb der Escape zones verbrachten Zeit (Abbildung 5 B). In sämtlichen Auswertungen der ROI Analysen lag das Hauptaugenmerk nicht nur auf interindividuellen Vergleichen, sondern ebenso auf der Betrachtung intraindividuelle Veränderungen. So konnten langfristige Verhaltensanpassungen zwischen den zeitlich versetzten Durchläufen der „Social Defeat“ Experimente erfasst werden.

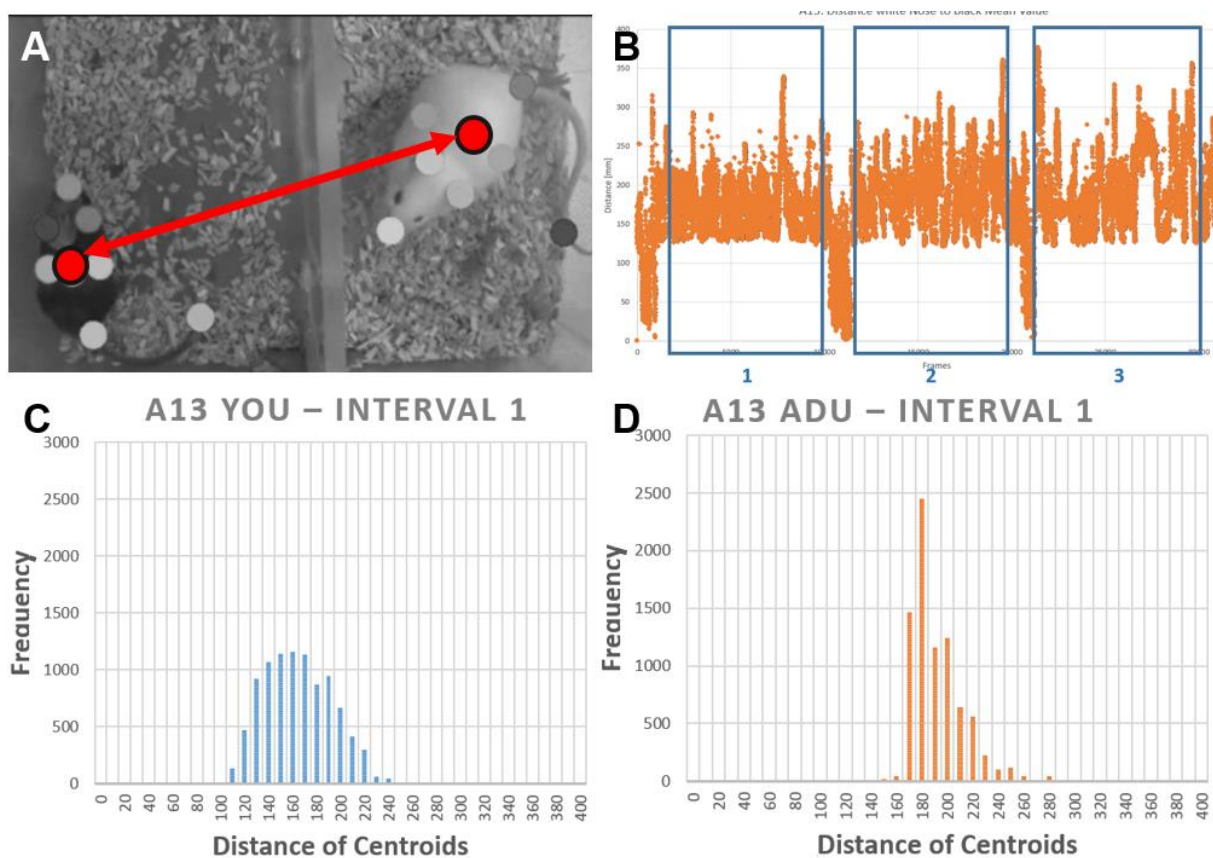


Abbildung 6: Durchführung der Distanzanalyse

A Aufgrund von höherer Zuverlässigkeit im Vergleich zum Label ‚Nose‘ wählten wir die Messgröße ‚Center_to_Center_distance‘, welche im Rahmen der Feature-Extraktion erhoben wurde.

B Die extrahierte Distanz visualisierten wir als kontinuierliche Darstellung der im zeitlichen Verlauf über die gesamte Videolänge von knapp über 30.000 Frames. Aufgrund der erschwerten Bedingungen während der „fighting“ Sequenzen fokussierten wir uns auf die im Ausschnitt B mit blau umrahmten Phasen der Separation. Diese folgten regulär auf die „fighting“ Phasen und boten aufgrund der räumlichen Trennung für 4:30min eine Abschwächung der interaktiven Dynamik und somit eine bessere Beurteilbarkeit.

C Zur besseren Beurteilbarkeit ermittelten wir das Profil der Distanzverteilung in Form von Distribution

Plots, wobei zu möglichen Distanzen entsprechende Häufigkeiten zugeordnet wurden, um mögliche Tendenzen der einzelnen Tiere und gruppeninterne Abweichungen herauszuarbeiten.

D Verglichen wurde nicht nur die Häufigkeitsverteilung der unterschiedlichen Tiere, sondern auch die Häufigkeitsverteilung desselben Tiers in gewissen zeitlichem Abstand als young (s. C) und als adult (s. D), um mögliche Veränderungsmuster mit steigendem Alter der Mäuse zu untersuchen.

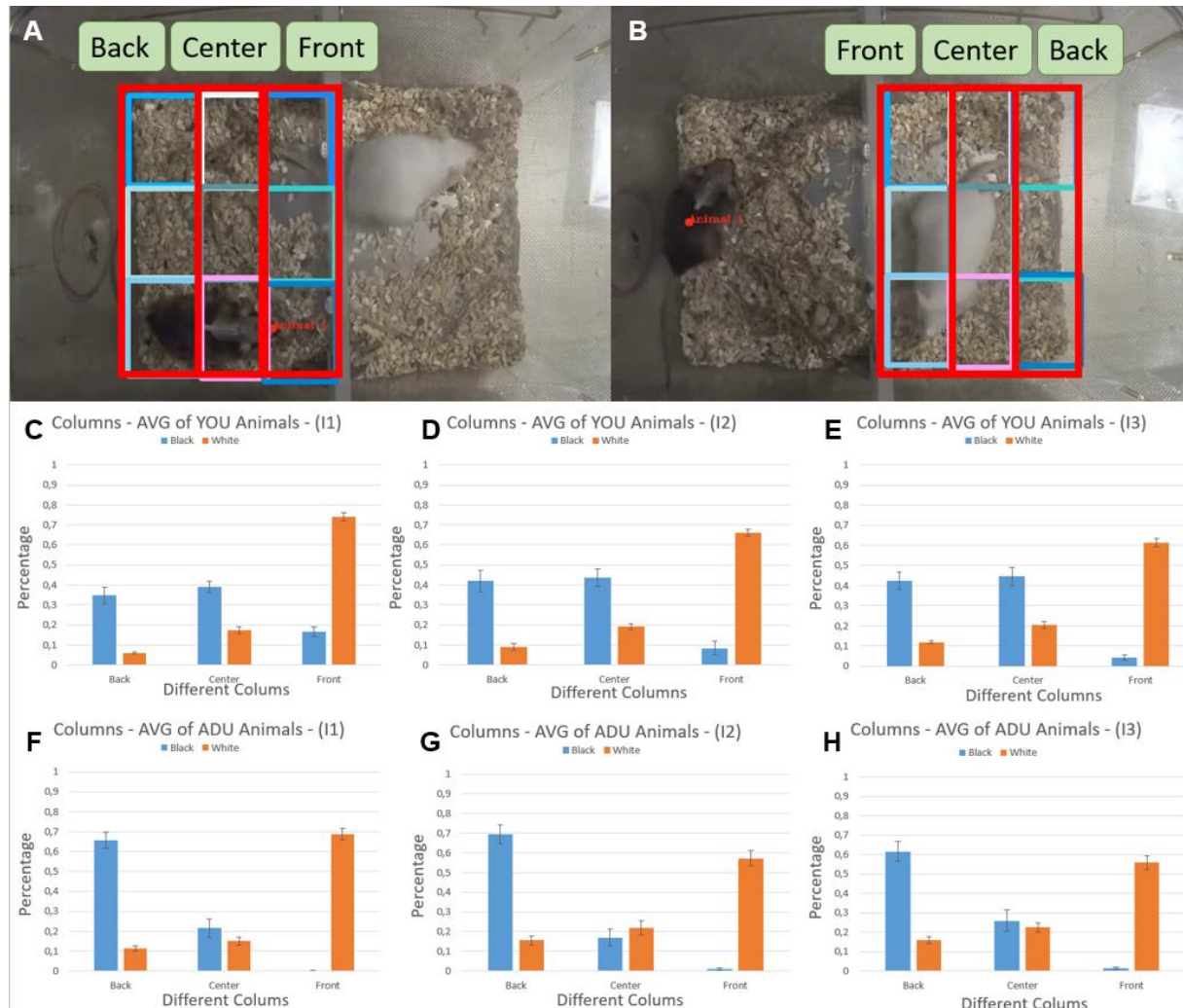


Abbildung 7: Quantitative Vergleichsanalyse der ‚Column ROIs‘

A-B: Zugrundeliegende ‚Square ROIs‘ wurden numerisch zu ‚Column ROIs‘ summiert. Dabei wurden ROIs für beide Käfighälften gespiegelt betrachtet, um reaktive Verhaltensweisen der C57BL/6N-Mäuse hinsichtlich des Verhaltens der CD1-Mäuse zu untersuchen.

C-H: Untersucht wurden die prozentualen Anteile der gesamten Videolänge die von C57BL/6N- und CD1-Mäusen in den jeweiligen Colum-ROIs verbracht wurden. Diese Anteile wurden innerhalb derselben Videosequenz zwischen den beiden Mausgruppen verglichen. Zusätzlich wurden die Separationsintervalle des „Social Defeat“-Experiments sowohl zu einem früheren Zeitpunkt (C-E) als auch zu einem späteren Zeitpunkt (F-H) gegenübergestellt.

3.3 Social Interaction Paradigma

3.3.1 Allgemeines

Zugrundeliegende Daten dieser Arbeit entstammen aus Experimenten des Social Interaction Paradigmas. Die experimentelle Durchführung erfolgte dabei durch David Wolf. Die verwendeten Mäuse wurden in unterschiedliche Gruppen aufgeteilt und entsprechenden Vorbereitungsmaßnahmen unterzogen. Anschließende Experimente gliederten sich in 2 Phasen:

Die Soziale Interaktionsphase des einzelnen Versuchstiers mit einem unbekanntem Artgenossen und die anschließende Phase der sozialen Wiedererkennung. Dabei erfolgte die randomisierte Präsentation bekannter und unbekannter Gerüche bei simultanen elektrophysiologischen Messungen neuronaler Aktivitäten. Dazu wurde eine Kopffixierung der untersuchten Mäuse vorgenommen. Ziel war die Messung neuronaler Korrelate des sozialen Erinnerungsvermögens zu erfassen.

Während der sozialen Interaktionsphase aufgezeichnete Videos wurden im Rahmen der vorliegenden Dissertation einer umfassenden computergestützten Verhaltensanalyse unterzogen. Dabei erhobene quantitative Verhaltensinformationen wurden nachfolgend in umfassenden Korrelationsanalysen auf Zusammenhänge zu Messergebnissen der Elektrophysiologie untersucht. Der Fokus lag dabei auf der Untersuchung des sozialen Erinnerungsvermögens in Abhängigkeit von vorangehenden sozialen Explorationen.

Weitergehende Informationen zur experimentellen Vorbereitung, Durchführung und anschließend erfolgten Arbeitsschritten werden in nachfolgenden Textabschnitten erläutert.

3.3.2 Versuchstiere, Haltungsprotokoll und Interventionen im Rahmen der Vorbereitung

Versuchstiere und Haltungsbedingungen

Für die Experimente des Social Interaction Paradigmas wurden transgene Mäuse im Alter von mindestens 12 Wochen verwendet: 16 männliche heterozygote OXT-Cre-Mäuse (B6;129S-Oxt^{tm1.1(cre)Dolsn}/J, RRID:IMSR_JAX:024234, Jackson Laboratory, [95]) wurden in der Sozialen Interaktionsphase verwendet, wobei 8 dieser Tiere innerhalb der kopffixierten Phase der Wiedererkennung und Geruchspräsentation zu

elektrophysiologischen Aufzeichnungen des anterioren olfaktorischen Nucleus (AON) herangezogen wurden 12 männliche homozygote OXTR^{fl/fl}-Mäuse (B6.129(SJL)-Oxtr^{tm1.1Wsy}/J, RRID: IMSR_JAX:008471, von W.S. Young, NIMH [96]) randomisiert in Cre-Injektions- und Kontrollgruppen entsprechend dem Verhältnis von 1:1 aufgeteilt. Alle transgenen Mäuse wurden intern auf einem C57BL/6J-Hintergrund (Charles River Laboratories) (>F10) gezüchtet. Nach chirurgischen Eingriffen wurden die Tiere einzeln gehalten, hatten freien Zugang zu Futter und Wasser und unterlagen einem 12-Stunden-Licht-Dunkel-Zyklus.

Als Interaktionspartner für die Phase der Sozialen Interaktion, sowie als Geruchsemitter während der Phase des Wiedererkennens und der Geruchspräsentation wurden insgesamt 15 männliche C57BL/6J-Mäuse im Alter zwischen P35 bis P50 (Tage nach Geburt) von Charles River Laboratories verwendet. Dabei wurde jedoch jede Emitter-Maus nur einmalig pro Empfänger-Maus verwendet. Die verschiedenen Interaktionspartner wurden einzeln in gereinigten Käfigen untergebracht, um eine potenzielle Geruchskontamination zu vermeiden.

Alle Verfahren wurden von der örtlichen Tierschutzbehörde (Regierungspräsidium Karlsruhe) genehmigt und gemäß der EU-Richtlinie 2010/63 durchgeführt.

Virusinjektion und stereotaktische Chirurgie

Zur Untersuchung verhaltensmodulierender Eigenschaften des Neuropeptides Oxytocin, erfolgten Virusinjektionen, um entsprechend der jeweiligen Kohorte eine optogenetische Steuerung der Oxytocin Ausschüttung oder den selektiven Knockout von Oxytocin Rezeptoren in gewünschten Hirnregionen zu ermöglichen.

Zur Gewährleistung einer optogenetischen Aktivierung von OXT-Neuronen innerhalb des paraventriculären Nucleus (PVN) wurde rAAV₅-DIO-hChR2(H134R)-mCherry verwendet (20297-AAV₅, Addgene) verwendet.

Der konditionale Knockout von Oxytocin Rezeptoren im anterioren olfaktorischen Nucleus (AON) erfolgte durch die Injektion von AAV-Cre in transgene OXTR^{fl/fl}-Mäuse [97].

Unter einer Anästhesie mittels Isofluran erfolgte die Virusinjektion bei stereotaktischer Fixation der Tiere. Die Injektion der Viruspartikel (0,5 µl pro Stelle) erfolgte unter Verwendung einer Glas-Mikropipette. Die entsprechenden Injektionskoordinaten für den PVN waren (in mm): 0,1/0,3 posterior, 1,0 lateral, 4,8 ventral. Für AON-Injektionen

waren die Koordinaten: 3,0 anterior, 0,7/1,2 lateral, 3,5 ventral.

■■■■■ *Immunhistochemische Validierung*

Zur Validierung einer adäquaten viralen Expression wurde eine immunhistochemische Färbung verwendet. Drei Wochen nach Virusinjektion erfolgte eine transkardiale Perfusion unter Anästhesie mittels eines Ketamin/Xylazin Gemischs. Im Anschluss an eine Nachfixierung wurden serielle koronale 50 µm Schnitte angefertigt und mit spezifischen Antikörpern gegen OXT [98], Cre oder GFP (je nach Experiment) inkubiert.

Fluoreszenz-markierte Sekundärantikörper ermöglichten bei Verwendung einer konfokalen Mikroskopie die Visualisierung zur Validierung der adäquaten optogenetischen Manipulation bzw. des Knockouts von Oxytocin Rezeptoren innerhalb der gewünschten Regionen.

■■■■■ *Elektrophysiologie und Aufnahmearrays*

Zur Messung neuronaler Aktivitäten innerhalb spezifischer Hirnregionen wurden maßgefertigte Aufnahmearrays verwendet [94]. Die Tetroden bestanden aus 12,5 µm dickem Teflon-beschichtetem Wolframdraht und wurden über entsprechende Führungslöcher innerhalb von Leiterplatten eingeführt. Anschließend erfolgte die Anpassung auf die gewünschte Länge und die Fixierung mittels Acrylkleber. Die Drähte wurden dann an vergoldete Durchkontaktierungen gelötet, um als sogenanntes Breakout-Board zu einem Anschluss als Verbindung zu einem Intan-Verstärker zu dienen. Vor der Implantation wurde der Widerstand jedes Tetrodenkanals auf 300 kΩ gesenkt. Für spätere AON-Aufzeichnungen wurden jeweils 8 Tetroden in beide Hemisphären implantiert. Die Ermittlung der Zielkoordinaten erfolgte dabei relativ zu Bregma (Referenzpunkt bei stereotaktischen Operationen) und zur dorsalen Gehirnoberfläche.

■■■■■ *Ablauf der operativen Implantation des Aufnahmearrays*

Die operative Implantation der Aufnahmearrays erfolgte in Anästhesie mittels Isofluran. Im Anschluss an die vorbereitenden Maßnahmen wie der stereotaktischen Fixierung des Schädels, der Entfernung des Fells am dorsalen Schädel, sowie der lokalen Desinfektion mit anschließender Hautexzision, erfolgte die Kraniotomie an zuvor

ermittelten Koordinaten. Ein weiteres Loch am dorsalen Schädel diente der Platzierung eines Erdungsstiftes. Die anschließende Positionierung des Implantates erfolgte unter Anwendung eines motorisierten 3-Achsen-Mikromanipulators. Die Länge der Tetroden wurde so gewählt, dass die gewünschte Tiefe erreicht wurde, während die Leiterplatte parallel zum Schädel platziert werden konnte. Anschließend wurde Dentalzement aufgetragen, um Lücken zu verschließen und eine mechanische Verbindung zwischen Implantat und dem mit Klebstoff bedeckten Schädel zu gewährleisten. Nach Beendigung des Eingriffs folgte die postoperative Überwachung der Mäuse über sieben Tage hinweg bis zum Beginn der Habituation für die anschließenden Experimente.

■■■■■ *Histologische Bestätigung der Aufzeichnungsstelle*

Nach Abschluss der Experimente wurden die Tiere zur histologischen Bestätigung der Aufzeichnungsstellen und der viralen Expression mittels Ketamin/Xylazin anästhesiert und anschließend transkardial mittels 0,9%PBS und 4% Paraformaldehyd perfundiert. Der gesamte Kopf verblieb für zwei Wochen in 4% Paraformaldehyd fixiert, um die Tetrodenbahnen visualisieren zu können. Dazu wurden anschließend serielle koronale 200 µm dicke Schnitte angefertigt. Die Aufnahme von entsprechenden Bildern erfolgte auf einem Axio Imager 2. Die Tetrodenposition wurde auf einer Atlasschablone kartiert.

3.3.3 Experimentelles Paradigma:

■■■■■ *Soziale Interaktionsphase*

Zur Durchführung der Interaktionsphase wurden die zu untersuchenden Mäuse jeweils einzeln in einem frischen Heimkäfig (70Lux Umgebungsbeleuchtung) überführt, in dem sie für den Zeitraum von 5 Minuten mit einem unbekanntem, gleichgeschlechtlichen und juvenilen Artgenossen frei interagierten.

Die einzelnen experimentellen Durchläufe wurden mit einer Sony FDR-X1000V Kamera (30 fps) aufgezeichnet und für spätere Verhaltensanalysen durch Kombination der Anwendungen BORIS [100], DeepLabCut und SimBA zur Verfügung gestellt. Diese werden in nachfolgenden Textabschnitten umfassend beschrieben.

Innerhalb der Durchläufe mit OXT-Cre-Mäusen kam es während der Interaktionsphasen in zeitlichen Abständen von 30 Sekunden zur optogenetisch induzierten Freisetzung von Oxytocin (60 Pulse mit 5ms Dauer bei 30Hz). Bei

entsprechenden Kontrolldurchläufen wurde die Laserübertragung zum Gehirn blockiert, sodass keine zusätzliche OXT-Freisetzung ausgelöst werden konnte.

Wiedererkennungsphase und Geruchspräsentation

In direktem Anschluss an die soziale Interaktionsphase erfolgte die Überführung des Interaktionspartners in einen entsprechenden hermetischen Duftbehälter als sogenannter „vertrauter“ Artgenosse. Zugleich wurde ein weiteres Tier als „unbekannter“ Artgenosse in einem separaten Duftbehälter platziert. Die zu untersuchende Maus wiederum wurde in ein kopffixiertes Setup [68] überführt. Es folgte eine randomisierte Präsentation der jeweiligen Gerüche der vertrauten und unbekannter Emittiermäuse. Simultane Aufzeichnungen neuronaler Aktivitäten werden in nachfolgenden Textabschnitten umfassend erläutert.

Die Duftabgabe der Körpergerüche erfolgte über ein maßgefertigtes Luftverdünnungs-Olfaktometer [94], [99], welches den Luftauslass der Geruchsemitter aus den jeweiligen hermetischen Plastikbehältern über entsprechende Ventile in den Luftstrom überführte.

Die Präsentation der Gerüche des vertrauten und des unbekanntes Artgenossen erfolgte jeweils 30 Mal für 1 Sekunde in pseudorandomisierter Reihenfolge bei Zwischenintervallen von 10-12 Sekunden.

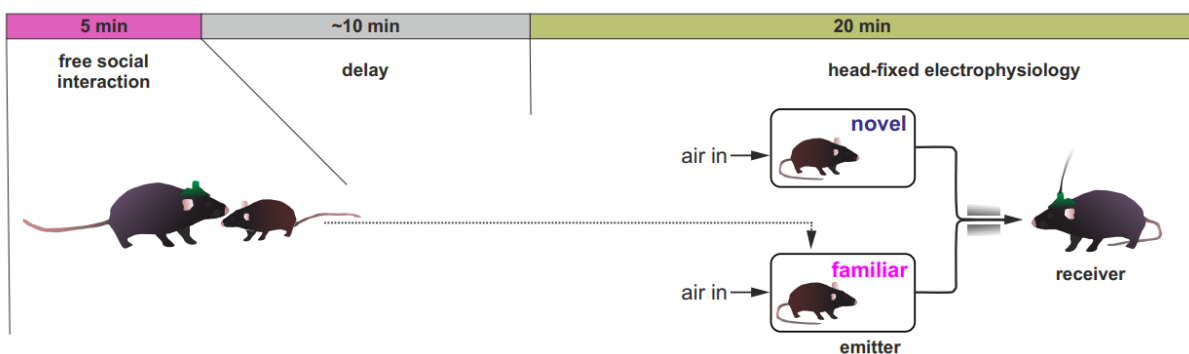


Abbildung 8: Ablauf des zweiphasigen experimentellen Designs:

Auf eine 5 Minuten andauernde Phase der freien sozialen Interaktion der zu untersuchenden Maus mit einem unbekanntes Artgenossen erfolgte Zwischenphase von etwa 10 Minuten zur Überführung der Tiere in das kopffixierte Setup der Elektrophysiologie, bei der Gerüche bekannter und unbekanntes Artgenossen innerhalb eines entsprechenden experimentellen Aufbaus in hermetischen Plastikbehältern konserviert und durch Einsatz eines Olfaktometers randomisiert übermittelt an die zu untersuchende Maus übermittelt wurden.

3.3.4 Elektrophysiologische Datenerhebung und Analyse

■ *Kopffixierte Aufzeichnungen*

In einer fünftägigen Habituation wurden die Mäuse schrittweise an das kopffixierte Setup gewöhnt. Die elektrophysiologischen Aufzeichnungen erfolgten innerhalb eines Faraday-Käfigs mit blauem Umgebungslicht. Mit Intal-64-Kanal RHD 2164 Miniaturverstärker-Platinen wurden sämtliche Signale verbunden mit einer RHD2000-Schnittstellenplatine (Intan Technologies) bei einer Abtastrate von 30kHz erfasst. Die jeweiligen Versuchszeiten wurden von den TTL-Ausgängen des Olfaktometers an die Schnittstellenplatine übermittelt.

■ *Datenverarbeitung und Spike-Sortierung von Single Units*

Die aufgezeichneten Rohdaten wurden mithilfe der Software von Intan Technologies und spezifischen Matlab-Skripten in binäre Datensätze konvertiert. Eine Spike-Sortierung wurde dann mittels KiloSort2 [101] durchgeführt und anschließend in Phy2 visuell kuratiert. Auswahlkriterien basierten dabei auf der Wellenform und Refraktärperiodenverletzungen (<2% aller Spikes innerhalb der Refraktärperiode von 2 ms). AON-Einheiten mit einer durchschnittlichen Feuerrate zwischen 0,1 und 20 Hz wurden in die Analyse einbezogen.

Initial erfolgte die Erfassung der neuronalen Aktivitäten auf der Ebene der einzelnen neuronalen Einheiten (sog. Single Units).

■ *Populationsanalyse*

Zur umfassenderen Analyse erfolgte die Zusammenfassung der simultan erfassten „Single-Units“ in Populationsvektoren. Dabei definierte sich der entsprechende Populationsvektor für n zeitgleich aufgezeichnete Einheiten der Sitzung S im Zeitfenster t als $V_t^S = [FR_t^{S,u1}, \dots, FR_t^{S,un}]$. Dabei repräsentierte $FR_t^{S,u1}$ die Menge der Spikes innerhalb der untersuchten Single-unit 1 im Zeitfenster t . Erstellt wurden Populationsvektoren für Zeitfenster von 100ms. Die Populationsvektoren einzelner Sitzungen wurden anschließend konkateniert. Zur Quantifizierung der Stärke neuronaler Antworten diente die euklidische Distanz des Populationsvektors zur Basislinie. Die Ermittlung des Basisvektors erfolgte durch Mittelung aller Versuche innerhalb des Zeitfensters -1 bis 0s vor Duftbeginn [100]. Die Populationsdistanzen

bildeten ein robustes Maß der jeweiligen Stärke und Spezifität neuronaler Antworten.

■ *Korrelationsanalysen*

Um die Beziehung zwischen Explorationsverhalten und neuronalen Antworten zu untersuchen wurde eine Spearman-Korrelationsanalyse durchgeführt, welche die Anzahl von Interaktionsphasen mit der Differenz der jeweiligen euklidischen Distanz zur Baseline von vertrauten und unbekanntem Duftantworten gegenüberstellte.

3.3.5 **Verhaltensanalyse**

■ *Allgemeiner Ablauf und Vorbereitung*

Nachfolgend werden die zur Durchführung einer hochauflösenden Analyse des Sozialverhaltens notwendigen Arbeitsschritte umfassend beschrieben.

Zugrundeliegende Informationen in Form von Videodateien entstammen Aufzeichnungen der experimentellen Durchläufe des Social Interaction Paradigmas. Diese galt es initial zu vereinheitlichen, um Komplikationen bei späteren Analyseschritten zu vorbeugen. Anschließend erfolgte die markerlose Posenerkennung durch die Open-Source Anwendung DeepLabCut. Im Rahmen dessen erfolgte die Entwicklung eines entsprechenden neuronalen Netzwerks, zur Detektion und Verfolgung von Versuchstieren zur Erstellung metrischer Datensätze. Diese wurden dann mit einer weiteren Open-Source-Anwendung namens SimBA (Simple Behavior Analysis) zu automatisierten Verhaltensklassifikationen herangezogen. Zentrales Element war dabei die Verwendung maschineller Algorithmen zur Identifikation spezifischer metrischer Muster und die Zuordnung von entsprechenden Verhaltensweisen. Dadurch gewonnene Analyseergebnisse wurden abschließend in SimBA visualisiert und von Jonathan Reinwald unter Verwendung von Hidden Markov Modellen in Form einer Transitions-Analyse ausgewertet. Dazu folgen jedoch genauere Ausführungen in späteren Textabschnitten.

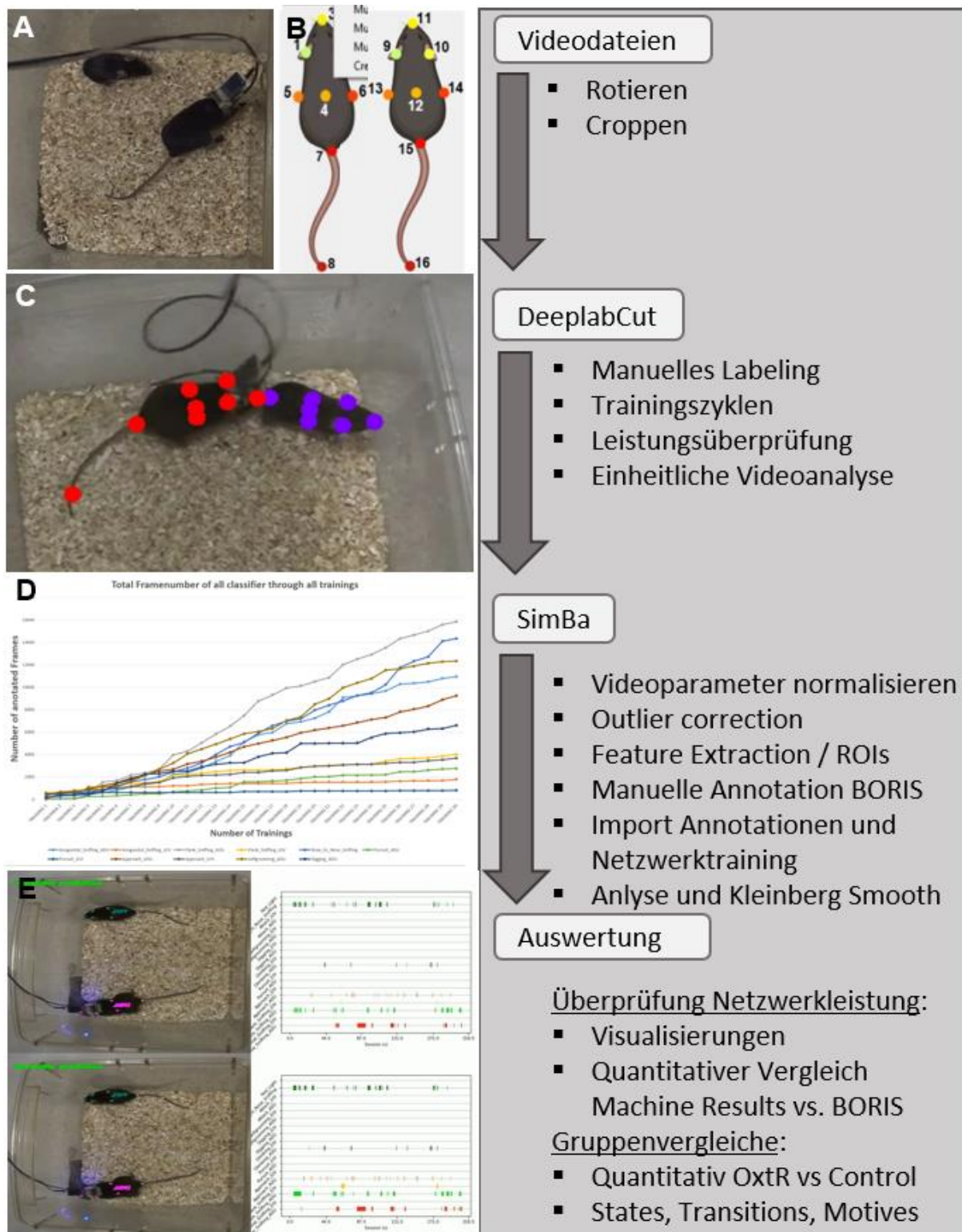


Abbildung 9: Methodischer Ablauf zur Verhaltensanalyse des Interaction Paradigmas

A Während der Social Interaction-Experimente aufgezeichnete Videodateien wurden vorerst vereinheitlicht.

B Mit Erstellung des DLC Projektes erfolgte initial eine projektübergreifend einheitliche Deklaration von 16 relevanten Körperteilen der Tiere.

C Nach umfangreichem Training des Netzwerks konnten zuverlässige maschinelle Vorhersagen generiert werden und ermöglichten eine einheitliche automatisierte Verhaltensanalyse zur Erstellung

metrischer Datensätze als Tracking Informationen. Hierbei wurde im Rahmen des Multi-Animal Projekts Fokus auf die robuste Unterscheidung der Identitäten gelegt.

D Mithilfe von SimBA (Simple Behavioral Analysis) wurden aus den zugrunde liegenden DLC-Tracking-Daten spezifische Merkmale (metrische Muster) extrahiert. Ergänzend dazu erfolgte die manuelle Annotation von Verhaltensweisen mit der Software BORIS. Diese Annotationen wurden anschließend in SimBA importiert und dienten als Trainingsdaten für das Netzwerk. Die resultierenden Graphen verschiedener Verhaltensweisen verdeutlichen den Informationszuwachs in Abhängigkeit von der Häufigkeit, mit der ein bestimmtes Verhalten im Datensatz repräsentiert wurde.

E Die objektive Überprüfung des Trainingsfortschritts erfolgte durch quantitative Vergleiche der maschinellen Analyseresultate und manueller Annotationen mittels BORIS

████████ *Zugrundeliegende Videos:*

Mit dem Ziel einer Standardisierung aller Videolängen, kürzten wir die Videodateien mithilfe der Website ‚*Split Video Online - Split video in a browser (Free & Secure)*‘ auf jeweils 4:30 Minuten. Bei einer Bildfrequenz von 29,97 Frames pro Sekunde entsprach dies insgesamt 8091 Frames pro Video. Die Bildausschnitte sämtlicher Videos wurden anschließend mit dem Windows Media Player adjustiert und vereinheitlicht, um potenzielle Verzerrungen und Abweichungen bei nachfolgenden Analysen zu vermeiden.

████████ *Metrische Videoanalysen mittels Deeplabcut:*

Die OpenSource Software *Deeplabcut* [25] wurde verwendet, um festgelegte körperliche Merkmale (sogenannte Bodyparts) der Versuchstiere innerhalb von Videoaufzeichnungen zu verfolgen und daraus metrische Datensätze zu generieren (Trackinginformationen). Grundlegend für die Automatisierung derartiger Vorgänge war die Verwendung von Deep-Learning-Mechanismen. So wurde im Rahmen des jeweiligen DLC Projektes ein angepasstes Netzwerk (basierend auf ResNet-50) generiert und über mehrere Trainingszyklen hinweg optimiert.

Grundlage dafür bildete die Extraktion repräsentativer Bildausschnitte. Mittels Verwendung einer GUI (Graphic User Interface) wurden diese im nachfolgenden Schritt zur manuellen Markierung festgelegter Körperteile herangezogen und bildeten die Grundlage zur Erstellung und des Trainings eines neuronalen Netzwerks. Das Training verlief in mehreren Zyklen bestehend aus der Erstellung des Trainingssets und der Durchführung eines Trainingsdurchlaufs mit abschließender Evaluation der

verbesserten Netzwerkleistung. Daraufhin folgte die Anwendung zur automatisierten Analyse repräsentativer Videos.

Den letzten Schritt bildete dann die Extraktion sogenannter Outlier Frames. Dabei handelte es sich um Bildausschnitte mit fehlerhaften Markierungen im Rahmen der vorangehenden Analyse durch das Netzwerk. Diese Outlier Frames konnten nach ausgewählten Kriterien extrahiert manuell korrigiert werden. Durch eine anschließende Integration dieser problematischen Bildausschnitte ins bestehende Trainingsset konnte eine effiziente Verbesserung des DLC Netzwerks erzielt werden.

Kontrollen des Trainingsfortschritts erfolgten objektiv anhand der Resultate zwischenzeitlicher Evaluationen der Netzwerkleistung oder subjektiv durch Visualisierungen maschineller Analysen. Die vorangehend beschriebenen Trainingszyklen wurden wiederholt, bis sowohl objektiv, als auch subjektiv zufriedenstellende Leistungen des Netzwerks verzeichnet wurden. Das Netzwerk konnte dann zur umfassenden Analyse sämtlicher Videos des Social Interaction Paradigmas herangezogen werden. Abschließend erfolgte eine optionale Filterung der gewonnenen Datensätze und die Sicherung in Form von Dateien des h5 Formats. Die Gesammelten Dateien dienen im zweiten Schritt als Grundlage zur spezifischen Verhaltensklassifikation durch die Anwendung von SimBA.

Installation von Deeplabcut:

Die Installation erfolgte auf einem Linux-Server im Rahmen der AG Kelsch unter Verwendung der Python-Distribution Anaconda. Die Anwendung konnte sowohl über eine grafische Benutzeroberfläche (GUI), als auch über den Terminal durch direkte Eingabe von Python-Befehlen genutzt werden.

Erstellung eines Projekts

Projekte wurden über eine zugehörige GUI erstellt, wobei der Speicherort, Projektname, Benutzername und die zu analysierenden Videodateien angegeben wurden. Bei der Verwendung mehrerer optisch unterscheidbarer Tiere wurde ein *Multi-Animal-Projekt* gewählt. Es erfolgte die Deklaration der zu verwendenden Identitäten und Körperteile für die künftigen Schritte der Netzwerkerstellung. Zur Sicherung sämtlicher Einstellungen und Parameter wurde eine entsprechende Konfigurationsdatei erstellt und innerhalb des Projektordners abgelegt.

Frames Extraktion:

Zur Erstellung eines zugrundeliegenden Trainingsatzes wurden jeweils 10 Frames der gruppenübergreifend 116 verwendeten Videos extrahiert. Die Auswahl erfolgte automatisiert unter Verwendung eines k-means Algorithmus. Bei unklaren Bildausschnitten wurden alternative Frames desselben Videos ausgewählt, um sicherzustellen, dass jedes Video gleichem Maße repräsentiert wurde, um die Verwendung unterschiedlicher Mäuse zu generalisieren. Dabei wurde beachtet, dass jene Frames relevante Interaktionen im repräsentativen Maße beinhalten, um eine grundlegende Robustheit des Netzwerks gewährleistet.

Die alternative Möglichkeit der manuellen Auswahl von zu extrahierenden Frames wurde nicht verwendet.

Verwendete Parameter:

Parameter	Erläuterung
Extraction method	,automatic‘
Cropping the frames	‘False‘
User Feedback	‘No‘
OpenCV	‘Yes‘
Algorithm	‘kmeans‘
Cluster step specification	‘1‘
GUI Slider with	‘25‘

Labeln der extrahierten Frames:

Extrahierte Frames gewünschter Videos konnten unter Verwendung der GUI zur manuelle Markierung deklarierte Körperteile und Identitäten herangezogen werden.

Deklarierte Körperteile:

Nose; Ear_left; Ear_right; Center; Lateral_Right; Lateral_Left; Tailbase; Tailend.

Verwendete Identitäten:

,Adult‘; ,Juvenile‘,

Ausgewählte Markergröße: ,7‘

Die in diesem Schritt generierten metrischen Informationen wurden in videospezifischen Subdirektionen als Dateien des „h5“ und „csv“ Formats gesichert. Eine akkurate Platzierung der manuellen Markierungen war von entscheidender Bedeutung um systematischer Fehlerquellen in nachfolgenden Analysen zu vermeiden. Nachträgliche Korrekturen der manuellen Markierungen konnten über die GUI vorgenommen werden.

Erstellung des Trainingssets:

Zur Durchführung der Netzwerktrainings wurde ein entsprechendes Trainingsset erstellt. Verwendet wurde dabei das Netzwerk *resnet_50*, sowie die Augmentierungsmethode *imgaug*. Unter dem Reiter *Shuffle Index* konnte eine Anzahl simultaner Trainingssets erstellt werden. Diese unterschieden sich in der randomisierten Zuordnung der zuvor gelabelten Frames in die Fraktionen *Train* und *Test*. Frames der 'Test'-Fraktion wurden dem Netzwerk als unbekannt vorenthalten, um sie anschließend zur Leistungsevaluation zu nutzen. Um Fehleinschätzungen der Netzwerkleistung aufgrund von Komplexitätsunterschieden der Frames in der 'Test'-Fraktion vorzubeugen, wurden mehrere Shuffles eingesetzt. Entsprechende Informationen erstellter Trainingssets wurden innerhalb des Projektes als Dateien des *pickle*-Formates gespeichert.

Training des Netzwerks:

Auf Grundlage des erstellten Trainingssets folgte die Durchführung des eigentlichen Netzwerktrainings eines spezifisch ausgewählten Shuffles. Verwendet wurden hierbei die allgemein für maDLC empfohlenen Parameter:

Parameter	Erläuterung
Maximum Iterations	1030000
Save Iterations	50000
Display Iterations	1000

Evaluation des Netzwerks:

Zur Überprüfung der Netzwerkleistung folgte die Evaluation des Netzwerks auf abgeschlossene Trainingsdurchläufe. Für ausgewählte Shuffles und Trainingsset-indizes wurden hierbei objektive Leistungsparameter wie der "Mean Average Euclidean Error" (MAE) ermittelt. Grundlage dafür war die Gegenüberstellung von

manuellen und maschinellen Markierungen. Plots zur Visualisierung von Kontinuität und Reliabilität der verwendeten körperlichen Merkmale (Bodyparts) und Identitäten wurden ebenfalls erhoben.

Die Verlaufskontrolle der Netzwerkleistung erfolgte anhand des MAE. Nach 5 Trainingszyklen zeigte das Shuffle 5 nach Gegenüberstellungen der Netzwerkleistungen überlegene Leistungen mit dem vergleichsweise niedrigsten MAE von 3,0 für Train und 3,6 für Test.

Die Videoanalyse:

Die automatisierte Videoanalyse als zentrale Funktion zur quantitativen Erfassung metrischer Verhaltensinformationen von Versuchstieren diente zur zwischenzeitlichen Leistungskontrolle nach abgeschlossenen Trainingsdurchläufen. Die Durchführung erfolgte nach Auswahl der zu analysierenden Videodateien, des zu verwendenden Shuffles und des Trainingsindex. Variable Parameter wählten wir gemäß der allgemeinen Empfehlung für die Durchführung von Multi-Animal Deeplabcut Projekten:

Parameter	Erläuterung
Using ffmpeg to read metadata	,No‘
Tracker Method	,box‘
Overwrite tracking files	,No‘
Calibrate animal assembly	,No‘
Assemble with identity only	,No‘
Prioritize past connections over a window of size	,0‘

Optional konnte im Rahmen der Videoanalyse eine entsprechende Visualisierung der maschinell gesetzten Markierungen erstellt und zur subjektiven Beurteilung der Netzwerkleistung herangezogen werden. Nach Abschluss des Analysevorgangs wurden die entsprechenden Trackinginformationen als Dateien im Format ,h5‘ gespeichert. Eine manuelle Korrektur konnte nachträglich im Rahmen eines optionalen Refinements über die GUI vorgenommen werden.

Das Refinement der Trackingdaten:

Die optionale Verfeinerung, Korrektur und Filterung zuvor generierter Tracklets konnte zur abschließenden Qualitätssicherung nach abgeschlossenen Videoanalysen verwendet werden und beinhaltete unterschiedliche Funktionen:

Refine Tracks:

Ein ausgewähltes Video wurde im Rahmen der GUI mit zugehörigen maschinellen Markierungen von Körperteilen geladen und konnte Frame für Frame manuell kontrolliert und korrigiert werden.

Filter Tracks:

Durch die optionale Anwendung der Filterfunktion ließen sich Unsicherheiten und damit potenzielle Ungenauigkeiten der Aufzeichnungsinformationen beseitigen.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde ein Schwellenwert von mindestens 60% Vorhersagewahrscheinlichkeit verwendet. Gefilterte, sowie ungefilterten Ergebnisse der Videoanalysen wurden dabei in separaten CSV Dateien gesichert.

Create Videos:

Dieser Schritt beinhaltete die Erstellung von Visualisierungen aus vorangehend erhobenen Tracking Informationen und zugehörigen Videos. Verwendet wurde dies unter anderem zur subjektiven Kontrolle des Trainingsfortschritts. Die objektive Kontrolle nutzte hierbei die Betrachtung des *MAE*, welcher durch die Evaluation im Anschluss zu abgeschlossenen Trainingsdurchläufen ermittelt wurde. Nach Auswahl von *Videodatei*, *Format (MP4)*, *Shuffleindex* und *Trainingsindex*, konnte zwischen der farblichen Unterscheidung der einzelnen Bodyparts oder der Identitäten einzelner Versuchstiere gewählt werden.

Verwendet wurden für die für Multi-Animal Deeplabcut empfohlenen Parameter:

Parameter	Erläuterung
Videotype	„.mp4“
Shuffle	Entsprechend durchgeführter Analyse
Trainingsindex	Entsprechend durchgeführter Analyse
Include the skeleton	„No“
Specify number of trail points	„0“
With animal ID colored	Entsprechend der Fragestellung

Filter Prediction	Entsprechend der Fragestellung
Plot all bodyparts	'Yes'
Plot the trajectories	'Yes'
Tracker Method	'Box'

Extract Outlier Frames:

Eine optionale Möglichkeit spezifische Abweichungen und damit verbundene Schwachstellen des Netzwerks zu eliminieren, bot der Schritt der sogenannten *Outlier Frames*. Hierbei konnten Frames gezielt extrahiert werden, wenn sie durch das Netzwerk unzuverlässig oder falsch gelabelt wurden. Folgende Kriterien standen dabei zur Auswahl:

Jump: Nach diesem Kriterium wurden insbesondere Frames ausgewählt, in denen einzelne Marker von Körperteilen deutliche Sprünge in ihrer Lokalisation zu vorangehenden Frames aufzeigten.

Fitting: Hierbei wurden Frames ausgewählt, die eine möglichst präzise Lokalisation der durch das Netzwerk gewählten Markierungen von Körperteilen aufzeigten.

Uncertain: Insbesondere Frames mit niedrigen Vorhersagewahrscheinlichkeiten wurden hierbei ausgewählt.

Manual: Hierbei erfolgte die Auswahl der Outlier Frames manuell über die GUI

Die Anzahl der auszuwählenden Frames wurde innerhalb unseres Projektes manuell in der Konfigurationsdatei auf 100 festgelegt.

Nach jedem abgeschlossenen Trainingszyklus erfolgte eine Videoanalyse unter Verwendung des neuesten Trainingsstands. Anschließend extrahierten wir jeweils 100 Outlier Frames und korrigierten diese manuell über die GUI. Die korrigierten Bildausschnitte wurden anschließend in das Trainingsset hinzugefügt und ermöglichten somit eine effiziente und zielgerichtete Anpassung des Netzwerks.

Videoanalyse im Rahmen des Social Interaction Paradigmas:

Nach 5 der oben beschriebenen Trainingszyklen konnten sowohl objektiv als auch subjektiv zufriedenstellende Netzwerkleistungen verzeichnet werden. Es folgte die abschließende Videoanalyse aller gruppenübergreifenden 116 Videos unter Verwendung der aktuellsten Netzwerkleistung. Entsprechende Analyseergebnisse

wurden als Dateien des Formates *h5* gesichert und zur weiteren Verarbeitung durch die Anwendung *SimBA* bereitgestellt.

■ *Maschinelle Verhaltensanalyse mittels SimBA*

SimBA wurde verwendet, um auf Grundlage der mittels *Deeplabcut* erhobenen Trackingdaten automatisierte Verhaltensklassifikationen durchzuführen. Die Anwendung ermöglicht die Entwicklung Random Forest-basierter Verhaltensmodelle zur systematischen Zuordnung metrischer Merkmale (Features) und deklarierten Verhaltensweisen (Classifier).

Nach Erstellung eines *SimBA* Projektes folgte der Import der zu untersuchenden Videos und zugehörigen Trackingdaten, welche mittels *Deeplabcut* generiert wurden. Um systematische Fehlerquellen zu vermeiden, erfolgte eine umfassende Vereinheitlichung von Videoparametern und die Durchführung einer *Outlier Korrektur* zur numerischen Bereinigung der Trackingdaten. Auf der Grundlage erfolgte die sogenannte *Feature-Extraction* zur Erhebung metrischer Merkmale aus den importierten Trackingdaten. Anschließend erfolgte die Erstellung manueller Verhaltensannotationen, welche aufgrund der höheren Nutzerfreundlichkeit über die externe Anwendung „BORIS“ erstellt und dann in *SimBA* importiert wurden. Den wichtigsten Schritt bildete jedoch die Erstellung eines Trainingssets und eigenständiger maschineller Modelle entsprechend der vorab definierten Verhaltensklassifikatoren (Classifier).

Diese ermöglichten basierend auf Random Forest-Algorithmen eine präzise Zuordnung extrahierter Features zu manuellen Annotationen. Durch die Hinzugabe weiterer Annotationen und wiederholte Trainingsprozesse stieg die Leistungsfähigkeit der Modelle bis hin zu robusten maschinellen Verhaltensklassifikationen.

Zwischenzeitliche Visualisierungen einzelner maschineller Analysen dienten der subjektiven Beurteilung des Trainingsfortschritts. Eine objektive Leistungsüberprüfung erfolgte anhand von Evaluationsmetriken wie Recall, Precision und des F1-Scores, die basierend auf der Gegenüberstellung maschineller und manueller Annotationen ermittelt wurden (s. Abschnitt „Training Machine Model“). Die zunehmende Ergänzung manueller Annotationen und umfassendes Training führten zur stetigen Verbesserung der Modelleistung und zuverlässigeren maschinellen Verhaltensanalysen, sodass eine abschließende projektübergreifende Verhaltensanalyse durchgeführt werden konnte. Dabei erhobene

Verhaltensinformationen konnten dann für quantitative Gruppenvergleiche herangezogen werden, um Veränderungen und Modulationen sozialer Verhaltensweisen zu untersuchen.

Installation der Anwendung SimBA:

Die Installation der Anwendung erfolgte auf dem ZI Server über die Python-Distribution Anaconda unter Verwendung der zugehörigen Benutzeroberfläche (GUI).

Erstellung des SimBA Projekts

Eigenständige SimBA Projekte wurden über die GUI erstellt unter Angabe von Speicherort, Projektname, sowie der Angabe zu verwendenden Körperteilkonfiguration (entsprechend der zuvor in DLC bestimmten). Bereits zu diesem Zeitpunkt, konnten Classifier erstellt werden, um die zu untersuchenden Verhaltensweisen im Laufe des Projekts zu repräsentieren. Bereits bei Erstellung des Projektes konnten relevante Video- (.mp4-Format) und Trackingdateien (H5-Format) importiert werden. Nach abgeschlossener Erstellung des Projektes folgte die Sicherung sämtlicher Parameter und Dateipfade in Form einer entsprechenden Konfigurationsdatei.

Standardisierung der Videoparameter:

Nach abgeschlossenem Import von Trackingdaten und Videos folgte die Vereinheitlichung sämtlicher Videoparameter wie der Auflösung (px), der Bildrate (fps) und der metrischen Distanzen. Die Berechnung des Maßstabs in Pixel/mm basierte auf der manuellen Markierung von Distanzen in einzelnen Bildausschnitten über eine entsprechende GUI und die manuelle Eingabe der realen Distanz in Millimetern. Die ermittelte Bildauflösung konnte dann auf sämtliche Videos des Projektes angewendet werden und somit eine Standardisierung gewährleisten. Wir standardisierten in diesem Zuge eine Auflösung von 0.78837 Pixel/mm bei einer allgemeinen Bildrate von 29 fps.

Outlier-Korrektur Funktion:

Um systematische Fehlerquellen in nachfolgenden Analyseschritten zu vermeiden erfolgte die sogenannte *Outlier Correction*. Sogenannte *Outlier Frames* sind fehlerhafte Bildausschnitte, die durch abrupte und stark abweichende Positionen von Körperteilen auffallen und potenzielle Fehlerquellen für nachfolgende

Analysevorgänge darstellen. Vor der Durchführung dieser Korrektur konnten neben der Anzahl der verwendeten Tiere jeweils zwei zugehörige Körperteile ausgewählt werden, deren mittlere/ mediane Distanz in Relation zur verzeichneten Abweichung betrachtet wurde. Entsprechend der offiziellen Empfehlung wählten wir als Referenzwerte ein *Location Criterion* von 1,5 sowie dem *Movement Criterion* von 1,0. Betroffene Bildausschnitte wurden als Ausreißer Frames selektiert und korrigiert, wenn Abweichungen die Faktoren in den jeweiligen *Criteria*s überschritten. Eine entsprechende Datei zur Dokumentation von selektierten *Outlier Frames* wurde innerhalb des Projektordners im CSV Format hinterlegt.

Feature-Extraktion:

Die umfangreiche Extraktion standardisierter metrischer Merkmale aus importierten Trackingdateien bildete die Voraussetzung für die Erstellung und das Training neuronaler Netzwerke mittels SimBA. Grundlage bildeten hierbei die Koordinaten ausgewählter Körperteile. Die systematische Extraktion umfasste einen Satz von 492 spezifischen Merkmalen und wurde in separaten CSV Dateien entsprechend der jeweiligen Videos gesichert. Dazu gehörten metrische Abstände zwischen Körperteilen, Winkel, Flächen, Bewegungen, Pfade und deren Abweichungen innerhalb der einzelnen Frames und über fortlaufende Zeitfenster hinweg.

Weitere Details sind in einer Merkmalsbeschreibung im SimBA-Repository verfügbar. Eine Auflistung der zu extrahierenden Merkmalskategorien steht im Rahmen des offiziellen SimBA Tutorials zur Verfügung:

[„simba/misc/Feature_description.csv at master · sgoldenlab/simba · GitHub“](#)

Label Behavior/BORIS-Import:

Der Schritt der manuellen Annotation von Bildausschnitten ermöglichte eine präzise Zuordnung definierter Verhaltensweisen (*Classifier*) für einzelne Bildausschnitte. Dies erfolgte optional über die entsprechende GUI in SimBA oder über alternative externe Anwendungen. Aufgrund der verbesserten Nutzerfreundlichkeit wurde zur Erstellung der manuellen Annotationen die externe Anwendung BORIS verwendet. Dabei generierte Annotationen wurden dann als Dateien des CSV-Formates ins SimBA Projekt importiert.

BORIS ermöglichte eine effiziente manuelle Annotation durch einfache Tastenkombinationen simultan zur Wiedergabe der Videos. Im Rahmen der GUI von

SimBA war es von Nöten einen nachfolgenden Bildausschnitt auszuwählen und zu markierende Verhaltensweisen über separate Checkboxen zu bestätigen.

Nach erfolgreichem Import der Boris Dateien wurden diese in der Subdirektion "Targets_inserted" hinterlegt und zur Durchführung eines initialen Netzwerktrainings bereitgestellt.

Training Machine Model:

Das Training der Netzwerke bildete einen zentralen Schritt zur Ausbildung präziser Verhaltensmodelle und der automatisierten Verhaltensklassifikation. Vorab erfolgte die Konfiguration sogenannter Hyperparameter, zur manuellen Anpassung der maschinellen Lernverfahren, des Samplings und der zwischenzeitlichen Leistungsüberprüfung einzelner Classifier. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden jedoch die offiziell empfohlenen Hyperparameter verwendet, welche in Form einer entsprechenden csv-Datei in das Projekt importiert und angewendet werden konnten.

Die Trainings wurden mit zunehmender Menge an manuellen Annotationen zunehmend rechenintensiver. Zur Verfolgung des Trainingsstands konnten verschiedene Kriterien verwendet werden. Die Visualisierung zugrundeliegender maschineller Entscheidungsbäume oder Klassifikationsberichte ermöglichten transparente Einblicke. Auch die Darstellung assoziierter Features einzelner Classifier gab Aufschluss über die bisherige Trainingsentwicklung.

Der *F1-Score* repräsentierte das harmonische Mittel der beiden ebenfalls üblichen Messgrößen Maschineller Lernverfahren: *Precision* und *Recall* nach der folgenden Berechnung:

$$F1 = \frac{2 \times Precision \times Recall}{Precision + Recall}$$

Precision entsprach dem Anteil der korrekt als positiv klassifizierten Fälle von sämtlichen als positiv vorhergesagten Fällen.

Recall wiederum repräsentierte den Anteil der korrekt markierten positiven Fälle von allen tatsächlich positiven Fällen.

Grundlage zur Berechnung bildete die Gegenüberstellung von maschinellen Vorhersagen (positive Vorhersagen) und manuell erstellten Annotationen als

Goldstandard und Kontrolle (tatsächlich positive Fälle).

Im Rahmen der Trainingsdurchläufe erfolgte die Ermittlung von verhaltensspezifischen Precision- und Recallverläufen zu verschiedenen Vorhersagewahrscheinlichkeiten. Diese dienten der Orientierung zur Auswahl von Schwellenwerten für Vorhersagewahrscheinlichkeiten. Precision- und Recallwerte verhielten sich dabei reziprok, sodass der optimale Schwellenwert für Vorhersagewahrscheinlichkeiten dem Schnittpunkt der beiden Werteverläufe entsprach. Somit konnten für anschließende Analysen effizient verhaltensspezifische Schwellenwerte ausgewählt werden.

Nach abgeschlossenem Trainingsdurchlauf wurden eigenständige Verhaltensmodelle entsprechend der Classifier erstellt und innerhalb des Projektordners abgelegt. Diese repräsentierten alte Trainingsstände und ermöglichten deren rückwirkende Verwendung zur Durchführung von Videoanalysen.

Validierung der Maschinellen Verhaltensmodelle

Die Validierung einzelner Verhaltensmodelle bildete einen optionalen Schritt zur Testung unterschiedlicher Schwellenwerte. Dazu erfolgte die interaktive Visualisierung im Rahmen einer GUI, die entsprechende Verläufe der Vorhersagewahrscheinlichkeit aufzeigte und direkte Sprünge hin zu entsprechenden Bildausschnitten innerhalb der Videos ermöglichte. Dabei konnte überprüft werden, welche Vorhersagewahrscheinlichkeit mit einer bestmöglichen Markierung von Verhaltensweisen einhergehen würde. Auf diese Weise konnten kurzfristig videospezifischen Modelleleistungen beurteilt werden.

Nebst der Vorhersagewahrscheinlichkeit spielte ebenfalls die Auswahl einer sogenannten Minimum Bout-Size eine wichtige Rolle als vorausgesetzte Mindestdauer zur Erkennung von Verhaltensevents.

Anwendung von Verhaltensmodellen zur maschinellen Analyse:

Die Durchführung von Verhaltensanalysen erfolgte unter Auswahl und Anwendung spezifischer Verhaltensmodelle aus vorangegangenen Trainingsdurchläufen. Dabei erfolgte die manuelle Angabe von Schwellenwerten der Vorhersagewahrscheinlichkeit und der jeweiligen Bout-Sizes. Entsprechende Angaben wurden innerhalb der Konfigurationsdatei gesichert. Auf dieser Grundlage folgte dann die Durchführung der Analyse ausgewählter Videodateien und Trackingdaten.

Kleinberg Smoothing

Erhobene Datensätze der maschinellen Verhaltensanalyse konnten durch Anwendung des sog. Kleinberg-Algorithmus „geglättet“ (verfeinert/ bereinigt) werden.

Auf Grundlage von heuristischen Regeln ließen sich stabile Verhaltensmuster identifizieren und bereinigt darstellen.

Variable Parameter im Rahmen des Smoothing-Algorithmus waren „Sigma“, „Gamma“, „Hierarchie“ und „Hierarchical Search“. Verwendet wurden bei der vorliegenden Arbeit jedoch nur die offiziell empfohlenen Parameter. Nach abgeschlossener Verarbeitung erfolgte die Sicherung der geglätteten Datensätze als separate Dateien.

Analyse der maschinellen Ergebnisse:

Dieser optionale Schritt ermöglichte eine tiefere Auswertung der maschinell generierten Analyseergebnisse zur weiteren numerischen Untersuchung und Differenzierung. Die spezifischen Funktionen umfassten dabei:

1. Vorhersageanalyse:

Erstellung einer deskriptiven Statistik, die Kennzahlen wie Gesamtdauer, Anzahl der Ereignisse und Intervalle für jeden Verhaltensklassifizierer umfasste.

2. Bewegungs- und Distanzanalyse:

Berechnung der mittleren und medianen Bewegungsgeschwindigkeit sowie der Entfernungen zwischen Tieren.

3. Zeitintervallanalysen:

Bestimmung der Vorhersage- und Bewegungsdaten innerhalb benutzerdefinierter Zeitintervalle (Time-Bins), um zeitliche Muster zu erfassen.

4. Regionen-Analyse (ROI):

Auswertung der maschinellen Verhaltensklassifikationen in festgelegten Interessensbereichen, um Auswirkungen in spezifischen Regionen zu untersuchen.

5. Schweregradanalyse:

Bewertung der Intensität eines klassifizierten Verhaltens auf einer benutzerdefinierten Skala, basierend auf Bewegungen im oberen Perzentil.

Erstellung von Visualisierungen in SimBA:

Die Funktion der ‚*Sklearn-Visualisierung*‘ bietet die Möglichkeit, verschiedene Diagramme und Visualisierungen von Klassifizierungsergebnissen und Bewegungsmustern der Tiere zu erstellen. Die generierten Darstellungen enthielten Videos und Bilder mit Vorhersage-Overlays, Gantt-, Linien- und Pfaddiagrammen oder Heatmaps. Nachfolgend werden diese näher beschrieben:

1. **Video- und Bildgenerierung:** Hierbei wurden Ergebnisse vorangehender maschineller Verhaltensklassifikationen durch markierte Videosequenzen oder Bildausschnitte veranschaulicht. Sie dienten dem visuellen Abgleich aufgezeichneter sozialer Interaktionen und maschinell detektierter Verhaltensweisen.
2. **Gantt-Plot:** Diese Visualisierung zeigte die Dauer und Frequenz von Verhaltensevents in einem Gantt-Diagramm und ermöglichte somit einen schnellen Überblick über das zeitliche Auftreten der Verhaltensweisen.
3. **Live-Daten-Plots:** "Live"-Datenplots veranschaulichten Entfernungen und Geschwindigkeiten der Tiere innerhalb des untersuchten Videos.
4. **Pfaddiagramm:** Hierbei wurden Bewegungen der Tiere nachverfolgt und durch Pfaddiagramme visualisiert. Soziale Interaktionen konnten durch Anwendung einer entsprechenden farbcodierten „Schweregrad“-Skala visualisiert werden.
5. **Entfernungsdiagramme:** Für ausgewählte Körperteile wurden Linienplots erstellt um die Distanz zwischen den Tieren im Verlauf des untersuchten Videos zu visualisieren.
6. **Heatmaps:** Diese veranschaulichten basierend auf erfassten Häufigkeiten eine geografische Darstellung von Verhaltensereignissen.

Die erläuterten Visualisierungen trugen wesentlich zur Überprüfung und Deutung maschineller Verhaltensanalysen bei und konnten zu regelmäßigen subjektiven Kontrollen des aktuellen Trainingsfortschritts herangezogen werden.

Mit der Funktion „*Merge Frames*“ konnten mehrere Visualisierungen simultan in einer Videodatei zusammengeführt werden. Dies ermöglichte den Leistungsvergleich verschiedener Trainingsstände: Nach der Analyse eines identischen Videos wurden sowohl Verbesserungen als auch mögliche Schwächen anschaulich hervorgehoben.

Kohortenübergreifende Analyse aller Videoaufzeichnungen mittels SimBA:

Nach Abschluss des Netzwerktrainings erfolgte die abschließende Kontrolle der Netzwerkleistung basierend auf dem Abgleich von manuell und maschinell erstellter Verhaltensannotationen. Bei zufriedenstellenden Visualisierungen der Netzwerkleistung erschien das trainierte Netzwerk ausreichend robust und zuverlässig für die finale Anwendung zur kohortenübergreifenden Analyse sämtlicher Videos des Social Interaction Paradigmas. Geeignete Schwellenwerte und Minimum Bout-Sizes wurden dabei durch Gegenüberstellung von maschinellen Vorhersagen und manuellen Markierungen für die unterschiedlichen Verhaltensweisen ermittelt. Nach Durchführung der umfassenden Verhaltensanalyse wurden die gewonnenen Datensätze mittels Kleinberg-Smoothing Algorithmus verfeinert und für anschließende numerisch-statistischen Gruppenvergleiche zur Verfügung gestellt.

■ *Numerisch-statistische Auswertung von Gruppenvergleichen*

Die mittels SimBA erhobenen Datensätze des Social Interaction Paradigmas wurden in Zusammenarbeit mit *David Wolf* und *Jonathan Reinwald* anschließenden numerisch-statistischen Auswertungen unterzogen.

Dabei erfolgten quantitative Gruppenvergleiche basierend auf zuvor erstellten Analysen sozialer Verhaltensweisen.

So konnten etwa Verhaltensänderungen in der Folge einer optogenetisch induzierten Freisetzung von Oxytocin oder die Auswirkungen eines selektiven Knockouts von Oxytocin-Rezeptoren untersucht werden, wobei sich jedoch die statistische Power als unzureichend erwies. Folgende statistisch-numerische Arbeitsschritte erfolgten dabei in Zusammenarbeit mit *Dr. Jonathan Reinwald*:

Durch Anwendung einer hierarchischen Zustandsklassifikation gelang die Zuordnung der klassifizierten Verhaltensweisen in sechs distinkte Kategorien: Anogenital Sniffing (ano), Nose to Nose Sniffing (N2N), Flank Sniffing (Flank), Approach (appr), Pursuit (purs) und dem zwischenzeitlichen Normalzustand ohne relevante Verhaltensweise (idle). Die hierarchische Struktur diente der Priorisierung und Auswahl von Verhaltensweisen bei Mehrfachdetektionen. Des Weiteren wurde eine Mindestlänge von 1 Sekunde als Voraussetzung zur Detektion von Zuständen festgelegt.

Die Durchführung von Gruppenvergleichen erfolgte unter Verwendung von Linear Mixed Effects Models (LME) unter Berücksichtigung der Kohorten und Tier-IDs als Zufallseffekte. Erfasst wurden sowohl die Eigenschaften einzelner Verhaltenszustände

(mittlere Dauer, Gesamtdauer, Häufigkeit), als auch die jeweiligen Übergangswahrscheinlichkeiten (Transitions) der verschiedenen Zustände. Für die gesamte numerische Verarbeitung der Daten und die nachfolgende statistische Auswertung wurden entsprechende MATLAB-Skripte entwickelt. Die grafische Darstellung der Ergebnisse erfolgte in Form von Explorationsgrafiken für individuelle Versuchstiere sowie Gruppensummierungen der Verhaltenszustände und Übergangsmatrizen.

Im Rahmen der Transitions-Analysen dienten probabilistische Übergangsmatrizen der Veranschaulichung zeitlicher Dynamiken des Sozialverhaltens durch Ermittlung von Übergangswahrscheinlichkeiten zwischen den verschiedenen Verhaltenszuständen. Betrachtet wurden dabei sowohl absolute, als auch relative Gegenüberstellungen. Mittels MATLAB-basierter Skripte wurden hierbei vier Arten von Übergangsmatrizen generiert:

1. Absolute Übergangsmatrix (AbsTransMat)
2. Reduzierte absolute Übergangsmatrix (AbsTransMatReduced)
3. Übergangswahrscheinlichkeitsmatrix (TransProbMat)
4. Reduzierte Übergangswahrscheinlichkeitsmatrix (TransProbMatReduced)

Die Motiv-Analysen dienten der Identifikation von wiederkehrenden Verhaltensmustern im Sinne einer Verkettung von drei bis zu sieben aufeinanderfolgenden Zuständen. Diese sogenannten Verhaltens-„Motive“ wurden hinsichtlich ihrer Häufigkeitsverteilung analysiert. Eine Quantifizierung der Komplexität der jeweiligen Verhaltenssequenzen erfolgte mittels normalisierter Permutationsentropie. Dabei verzeichneten regelmäßigere, deterministische Verhaltensmuster niedrigere Werte, als zufälliger Sequenzen. Eine Präsentation und Beschreibung der entsprechenden Übergangsmatrizen und Diagramme erfolgt im Rahmen des Ergebnisteils der vorliegenden Arbeit.

4 Ergebnisse

Die nachfolgenden Textabschnitte widmen sich der kontextuellen Einordnung und umfassenden Beschreibung gewonnener Ergebnisse im Rahmen dieser Dissertation.

4.1 Die Anwendung neuronaler Netzwerke und maschineller Lernmechanismen ermöglicht die Durchführung von hochauflösenden Verhaltensanalysen

Hohe methodische Anforderungen stellten die verhaltensbiologische Forschung bislang vor technische Herausforderungen. Im Rahmen dieser Arbeit gelang die Entwicklung eines methodischen Ansatzes zur automatisierten Durchführung hochauflösender Verhaltensanalysen. Unter Verwendung neuronaler Netzwerke und Random Forest-basierter Modelle erfolgte die präzise Extraktion quantitativer Verhaltensinformationen auf Grundlage von Videos, die im Rahmen des Social Interaction Paradigmas durch David Wolf, sowie bei Durchführung des „Social Defeat“ Paradigmas durch Dr. Jonathan Reinwald aufgezeichnet wurden.

Zentrales Element des entwickelten methodischen Ansatzes bildete die kombinierte Anwendung der beiden Softwares Deeplabcut und SimBA. Ziel war dabei die präzise Erfassung aufgezeichneter Versuchstiere, sowie die anschließende numerische Auswertung von dabei gewonnenen metrischen Datensätze im Rahmen einer maschinellen Verhaltensklassifikation. Die Validierung der Herangehensweise erfolgte subjektiv durch Visualisierung vorangehender Verhaltensanalysen, sowie der objektiven Kontrolle durch manuell erstellte Annotationen durch die Software BORIS. Als Referenzkriterium diente der F1-Score, ein harmonisches Mittel aus Präzision (Anteil korrekter Detektionen an allen maschinellen Detektionen) und Recall (Anteil korrekt erkannter Ereignisse an allen tatsächlichen = manuellen Ereignissen).

Die untenstehende Abbildung 10 belegt die Zuverlässigkeit der automatisierten netzwerkgesteuerten Verhaltensanalyse durch Gegenüberstellung von Gant-Plots auf Grundlage der manuell (b) und maschinell (c) gewonnenen Annotationen. Ausschnitt (a) präsentiert die jeweiligen F1-Scores der verschiedenen Verhaltensweisen, die wie obenstehend erläutert anhand von maschinellen Annotationen und den entsprechenden Kontrollen aus BORIS ermittelt wurden. Dabei zeigt eine

abschließende Glättung der Datensätze durch Anwendung des sog. Kleinberg-Algorithmus (s. Methodik) eine deutliche Verbesserung besonders bei "Nose to Nose Sniffing" (Verbesserung des F1-Scores 0 auf 0.52), "Selfgrooming" (F1-Score von 0.39 auf 0.64) und "Approach" (F1-Score von 0.34 auf 0.62), wobei höhere F1 Werte bedeuten, dass relevante Ereignisse mit höherer Präzision und Trefferquote durch das Netzwerk identifizieren werden. Im vorliegenden Anwendungsbereich entspricht dies einer zuverlässigeren Detektion ausgewählter Verhaltensweisen, was ein robustes Fundament zur Durchführung sozialer Verhaltensanalysen bietet.

Mithilfe der methodischen Innovation konnte eine hochauflösende Erfassung komplexer sozialer Verhaltensweisen gewährleistet werden und zur tiefgehenden Untersuchung verhaltensmodulierender Faktoren verwendet werden:

Die Ausschüttung von Oxytocin, das Erleben aversiver aggressiver Interaktionen oder die Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses. Anhand von Aufzeichnungen des Social Interaction-, und des „Social Defeat“-Paradigmas erfolgten aussagekräftige Verhaltensanalysen und Gruppenvergleiche, welche in nachfolgenden Textabschnitten erläutert werden.

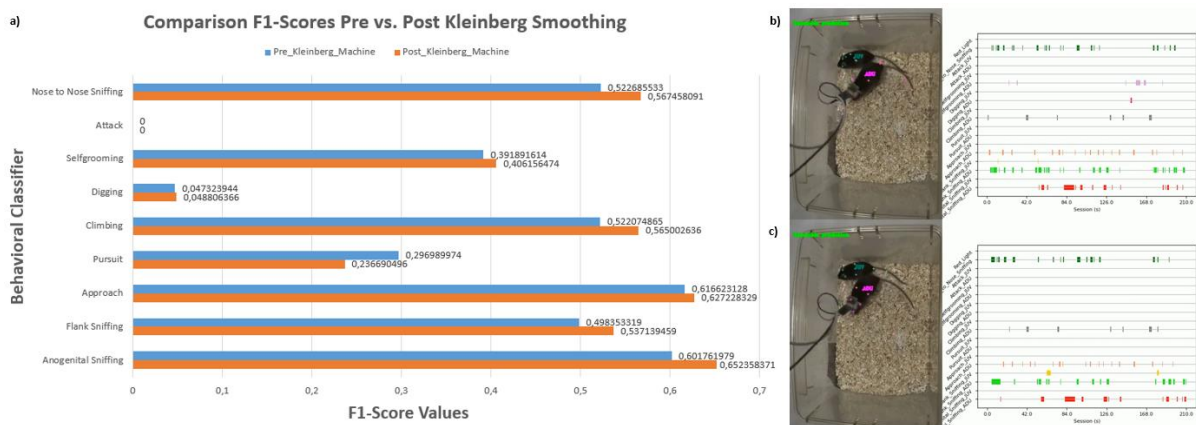


Abbildung 10: Vergleich maschineller mit manueller Verhaltensanalyse.

- a)** F1-Scores verschiedener Verhaltens-Classifier vor (blau) und nach (orange) Anwendung des Kleinberg-Glättungsalgorithmus. Die höheren Werte nach der Glättung demonstrieren die verbesserte Erkennungsgenauigkeit, insbesondere bei Nose to Nose Sniffing, Selfgrooming und Approach.
- b)** Visualisierung manuell annotierter Verhaltensweisen mittels BORIS in Form von dynamischen Gant-Plots, die detektierte Events im zeitlichen Verlauf des Videos darstellen.
- c)** Entsprechende Visualisierung der maschinell durch SimBA erkannten Verhaltensmuster. Die hohe Übereinstimmung zwischen manueller (b) und maschineller (c) Analyse belegt die Zuverlässigkeit des entwickelten methodischen Ansatzes zur Ultra High Resolution Verhaltensanalyse.

4.2 Oxytocin als Modulator sozialer Verhaltensweisen

4.2.1 Oxytocin moduliert Annäherungs- und Explorationsverhalten

Um die Einflüsse einer optogenetisch induzierten Oxytocinfreisetzung auf das Sozialverhalten bei Mäusen zu untersuchen, ergaben sich drei zentrale Hypothesen: (1) dass Oxytocin die Häufigkeit sozialer Annäherungen erhöht, (2) dass diese Annäherungen häufiger zu direkter sozialer Untersuchung durch Schnüffeln führen, und (3) dass die Dauer des Schnüffelverhaltens abnimmt, entsprechend der Annahme, dass Oxytocin die Effizienz der sensorischen Verarbeitung verbessert, indem es das kortikale Signal-Rausch-Verhältnis erhöht und die Informationsaufnahme beschleunigt.

Die durchgeführten Analysen basierten auf Videodaten, die während der freien Interaktionsphase des Sozialen Interaction Paradigmas aufgezeichnet wurden. Dabei wurden einzelne adulte Mäuse während ihrer Interaktion mit einem unbekanntem juvenilen Artgenossen für den Zeitraum von fünf Minuten beobachtet. Anschließend wurden folgende Gruppenvergleiche aufgestellt:

Die Gruppe „oxtR“ mit optogenetisch induzierter Oxytocinfreisetzung (45 Interaktionssitzungen, Lichtstimulation: 2 Sekunden Burst alle 30 Sekunden) wurden einer Kontrollgruppe „oxtR_control“ mit normaler Oxytocinausschüttung (47 Interaktionssitzungen) gegenübergestellt. Die Verhaltensquantifizierung konzentrierte sich hierbei auf drei Schlüsselmetriken: die Häufigkeit des Annäherungsverhaltens, Übergänge von der Annäherung zum Schnüffeln (Nase-zu-Nase-Schnüffeln [N2N], Anogenitalschnüffeln [ano], Flankenschnüffeln [flank]) und die Dauer dieser Schnüffelereignisse.

Das Annäherungsverhalten

Ein Vergleich der Verhaltenshäufigkeiten zeigte, dass Kontrollmäuse eine signifikant höhere Anzahl von Annäherungsereignissen aufwiesen als Tiere mit optogenetisch induzierter Ausschüttung von Oxytocin (Abb. 11).

Dieser Befund widerspricht der ersten Hypothese, dass Oxytocin zu einer erhöhten Häufigkeit des Annäherungsverhaltens führen würde, und deutet stattdessen unter den spezifischen getesteten Bedingungen darauf hin, dass eine verstärkte Oxytocin-

Signalübertragung eine reduzierte Initiierung sozialer Interaktionen zu bewirken scheint, wenn auch nur mit geringfügigen Auswirkungen bei Betrachtung der absoluten Häufigkeiten.

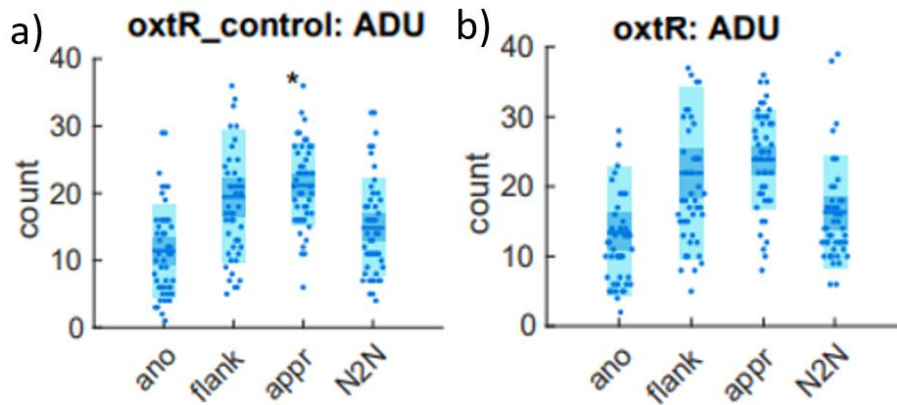


Abbildung 11: Die Streudiagramme der Anzahl beobachteter Verhaltensweisen

- a) Bei Mäusen mit optogenetisch verstärkter Oxytocinfreisetzung (oxtR: ADU)
 b) Bei Kontrolltieren (oxtR_control: ADU). Jeder Punkt repräsentiert die Messung eines einzelnen Tieres. Blaue Balken kennzeichnen die Gruppenmittelwerte. Statistisch signifikante Unterschiede sind mit Sternchen markiert (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$).

Übergänge vom Annäherungsverhalten zum Schnüffelverhalten

Die Übergangsanalyse mit linearen gemischten Modellen (hierarchische LME) ergab, dass Mäuse innerhalb der Oxytocin-Release-Gruppe signifikant häufiger von der Annäherung zum Flankenschnüffeln oder zum Nase-zu-Nase-Schnüffeln übergingen (Abb. 12). Im Gegensatz dazu wechselten Kontrolltiere häufiger von der Annäherung in einen Ruhezustand. Diese Ergebnisse unterstützen die zweite Hypothese und deuten darauf hin, dass Oxytocin möglicherweise nicht die Häufigkeit sozialer Annäherungen erhöht, sondern vielmehr die Umwandlung dieser Initiierungen in eine anhaltende soziale Interaktion fördert.

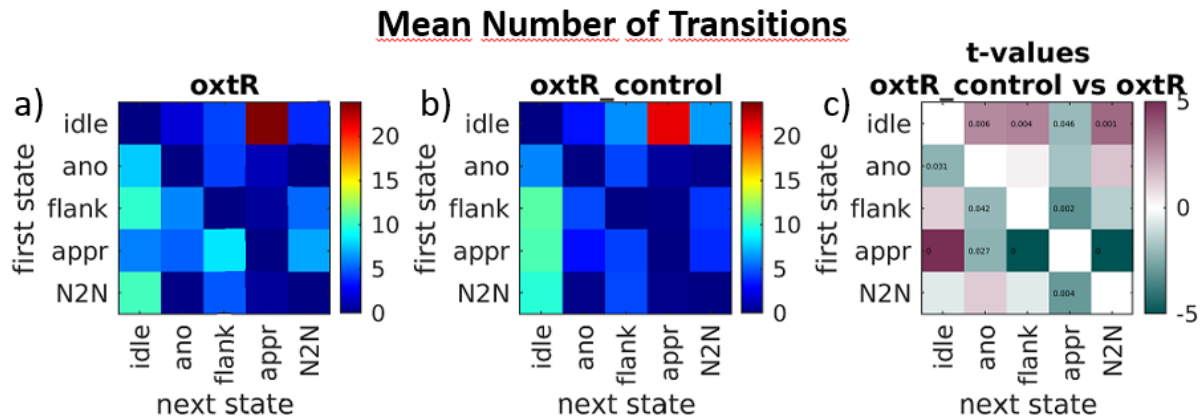


Abbildung 12: Transitionsmatrizen zum Gruppenvergleich der Anzahl von Verhaltensübergängen

Bei Mäusen mit (a) verstärkter Oxytocinfreisetzung und (b) Kontrollsituationen. Die Matrizen veranschaulichen Verhaltensübergänge von einem "ersten Zustand" (y-Achse) zu "folgenden Zuständen" (x-Achse). Die Verhaltenszustände umfassen: idle = Abwesenheit definierter Verhaltensweisen, N2N = Nase-zu-Nase-Sampling, ano = Anogenitales Sampling, flank = Flankensampling, appr = Annäherungsverhalten und purs = Verfolgung eines Artgenossen. (c) Statistische Auswertung der Übergänge zwischen Mäusen mit verstärkter Oxytocinfreisetzung und Kontrollsituationen.

Mittlere Sequenzlängen von Schnüffelverhalten

Bei Betrachtung der mittleren Dauer von Verhaltenssequenzen zeigten Mäuse mit verstärkter Oxytocinfreisetzung signifikant kürzere Sequenzlängen für Flankenschnüffeln und Nase-zu-Nase-Schnüffeln (kurz N2N) im Vergleich zu Kontrolltieren (Abb. 13). Auch beim Anogenitalschnüffeln zeigte sich eine geringere Varianz hin zu kürzeren mittleren Sequenzlängen innerhalb der Release-Gruppe. In Zusammenschau entsprechen diese Ergebnisse der dritten Hypothese - dass Oxytocin die neuronale Verarbeitung verbessern würde, indem es das Signal-Rausch-Verhältnis in kortikalen Schaltkreisen erhöhen und dadurch eine schnellere Aufnahme sensorischer Informationen ermöglichen würde. In Verhaltensaspekten könnte somit dank der schnelleren Erfassung relevanter sozialer Informationen zu kürzeren Schnüffelsequenzen führen.

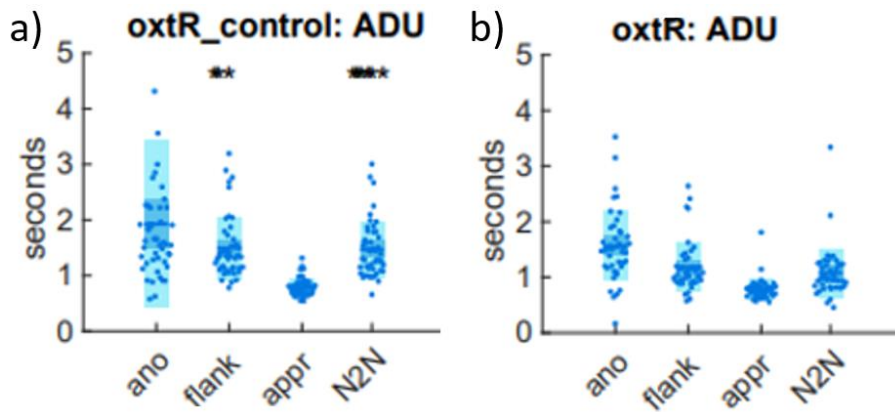


Abbildung 13: Streudiagramme der mittleren Dauer (sec) untersuchter Verhaltenszustände

bei (a) Mäusen mit optogenetisch verstärkter Oxytocinfreisetzung (oxtR: ADU) und (b) Kontrollsituationen (oxtR_control: ADU). Jeder Punkt repräsentiert ein einzelnes Tier. Blaue Balken kennzeichnen die Gruppenmittelwerte. Statistisch signifikante Unterschiede sind mit Sternchen (**p < 0,01).

█ Gesamtdauer des Schnüffelverhaltens

Zusätzliche Analysen der gesamten Verhaltensdauer (Abb. 14) während der fünfminütigen sozialen Interaktion bestätigen bereits gewonnene Erkenntnisse: Mäuse in beiden Gruppen zeigten ähnliche Gesamtzeiten bei Untersuchungen des Schnüffelverhaltens. Allerdings wurden innerhalb der Releasegruppe längere Gesamtzeiten des Annäherungsverhaltens (,appr') verzeichnet als in der entsprechenden Kontrollgruppe.

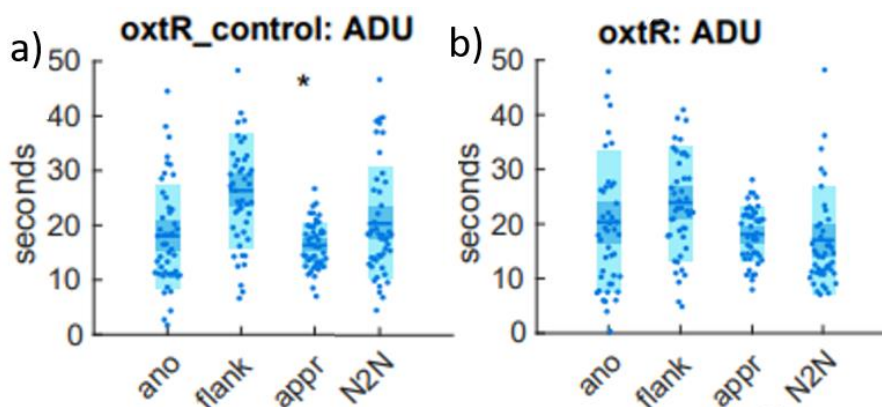


Abbildung 14: Streudiagramme der Gesamt-Dauer verschiedener Verhaltensweisen

für (a) Mäuse mit optogenetisch induzierter Oxytocinfreisetzung (oxtR: ADU) und (b) Kontrolltiere (oxtR_control: ADU). Jeder Punkt repräsentiert ein einzelnes Tier. Blaue Balken kennzeichnen die Gruppenmittelwerte. Statistisch signifikante Unterschiede sind mit Sternchen markiert (*p < 0,05, **p < 0,01).

Zusammengenommen zeigen diese Ergebnisse, dass Oxytocin nicht die Häufigkeit sozialer Annäherungen erhöht und widersprechen damit der ersten Hypothese. Die zweite Hypothese hingegen bestätigt sich, da sich durch die optogenetisch induzierte Freisetzung von Oxytocin höhere Wahrscheinlichkeiten für Übergänge von Annäherungen hin zu direkter Exploration durch Schnüffelverhalten verzeichnet wurden. Des Weiteren konnten unter dem Einfluss der optogenetisch induzierten Oxytocinausschüttung kürzere, aber effizientere Schnüffelsequenzen verzeichnet werden, was auf eine effizientere Verarbeitung sozialer Geruchsinformationen hindeutet. Die Freisetzung von Oxytocin scheint somit eine qualitative Verbesserung der sozialen Exploration zu bewirken, indem es die Umwandlung von Annäherungen in direkte Explorationen begünstigt.

4.2.2 Oxytocin fördert die Strukturierung sozialer Verhaltenssequenzen

Aufbauend auf den oben beschriebenen Verhaltensbeobachtungen bestand ein sekundäres Ziel dieser Studie darin, zu untersuchen, ob Oxytocin die zeitliche Strukturierung sozialer Verhaltensweisen moduliert. Dazu wurden Verhaltensabfolgen als komplexe Sequenzen (Motiven) einer Länge von 3 bis 5 Verhaltenszustände untersucht.

Transitionsanalysen

Die zur Veranschaulichung erstellten Übergangsmatrizen (Abb. 15) zeigten, dass Mäuse mit hohem Oxytocinspiegel (oxtR-Gruppe) signifikant häufigere Übergänge von der Annäherung hin zum Schnüffeln an der Flanke (Flank Sniffing, kurz ‚flank‘) oder der Nase (Nose-to-Nose-Sniffing) aufwiesen. Im Gegensatz dazu kehrten Kontrollmäuse häufiger nach einer Annäherung in den Ruhezustand (Idle) zurück. Somit bestätigte die Analyse der Übergangswahrscheinlichkeiten folgende Muster: mit Oxytocin behandelte Tiere neigten eher dazu, nach initialer Annäherung längere Explorationssequenzen zu zeigen und diese eher nicht direkt abubrechen. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Oxytocin zu einer verstärkten Kontinuität von sozialen Interaktionen führte, indem es nicht nur die Häufigkeit direkter Kontakte steigerte, sondern auch die Wahrscheinlichkeit bedeutungsvoller Verhaltensübergänge erhöhte.

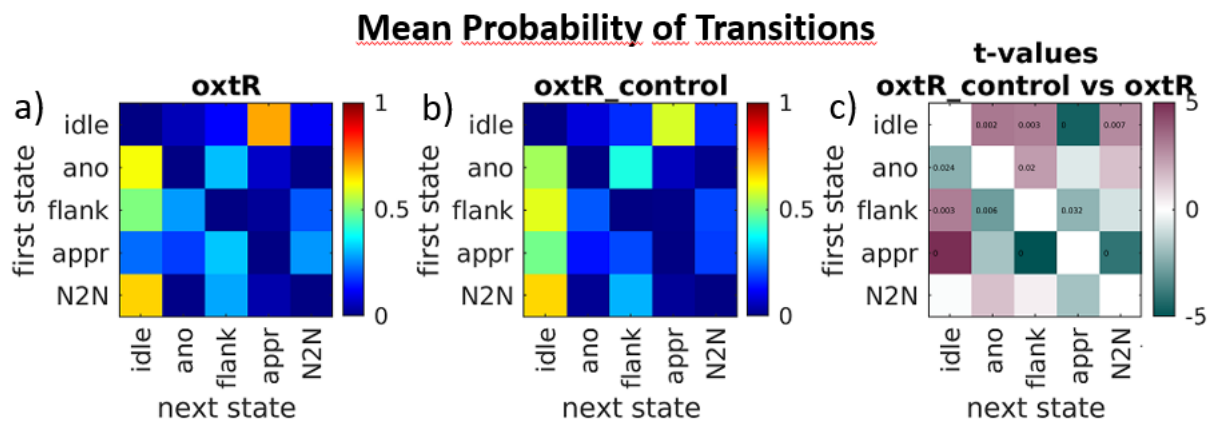


Abbildung 15: Transitionsmatrizen zum Gruppenvergleich der Wahrscheinlichkeit von Verhaltensübergängen

Die Matrizen zeigen Übergänge von einem "Ausgangszustand" (y-Achse) zu "Folgezuständen" (x-Achse). Die Verhaltenszustände umfassen: idle = Abwesenheit definierter Verhaltensweisen, N2N = Nase-zu-Nase-Sampling, ano = Anogenitales Sampling, flank = Flanken-Sampling, appr = Annäherungsverhalten und purs = Verfolgung eines Artgenossen. (c) Statistische Auswertung der Übergangswahrscheinlichkeiten zwischen Mäusen mit (a) verstärkter Oxytocinfreisetzung und (b) Kontrollsituationen.

Motivanalysen

Motivanalysen konzentrierten sich auf die häufigsten Verhaltensketten von 3 bis 5 Elementen. Bei 3-Zustands-Motiven (Abb. 16) zeigten mit Oxytocin behandelte Mäuse häufiger Muster wie Ruhezustand → Annäherung → N2N und Flanke → N2N → Flanke. Kontrollmäuse wiesen öfter Sequenzen wie N2N → Ruhezustand → Annäherung und Anogenital → Ruhezustand → Annäherung auf.

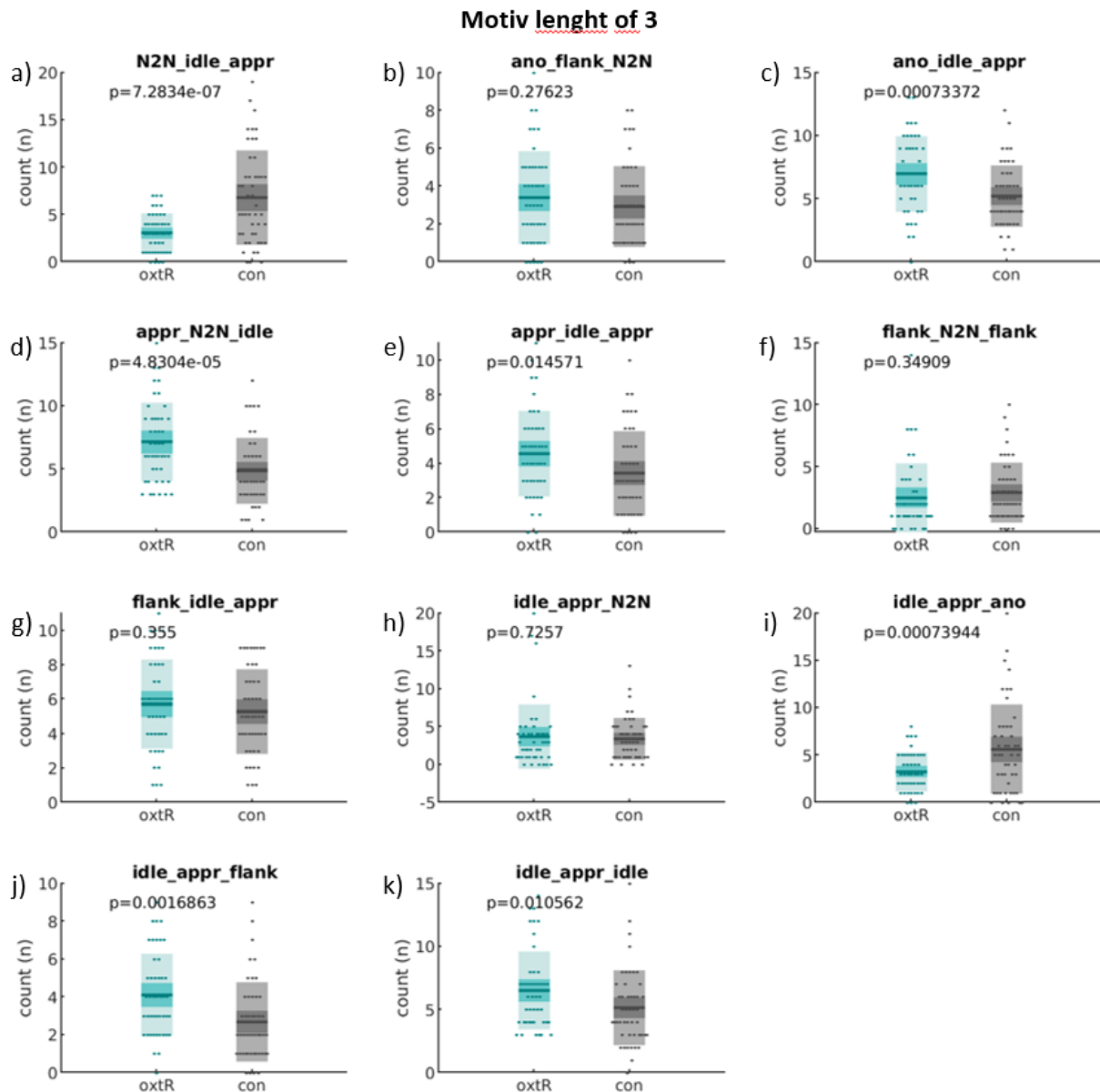


Abbildung 16: Streudiagramme zum Vergleich der Häufigkeiten verschiedener Verhaltenssequenzen aus jeweils 3 Verhaltenszuständen zwischen Mäusen mit verstärkter Oxytocinausschüttung und Kontrollsitungen.

a) Die Sequenz N2N_idle_appr (Nose-to-Nose Sniffing → idle → Approach) tritt in der oxtR-Gruppe signifikant häufiger auf als in der Kontrollgruppe ($p = 2,83e-07$).

b) Die Sequenz ano_flank_N2N (Anogenital Sniffing → Flank Sniffing → Nose-to-Nose Sniffing) zeigt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,27623$).

c) Die Sequenz ano_idle_appr (Anogenital Sniffing → idle → Approach) ist in der Kontrollgruppe signifikant häufiger ($p = 0,0073372$).

d) Die Sequenz appr_N2N_idle (Approach → Nose-to-Nose Sniffing → idle) ist in der oxtR-Gruppe signifikant häufiger ($p = 4,83e-05$).

e) Die Sequenz appr_idle_appr (Approach → idle → Approach) tritt in der Kontrollgruppe häufiger auf ($p = 0,04571$). **(f)** Die Sequenz flank_N2N_flank (Flank Sniffing → Nose-to-Nose Sniffing → Flank

Sniffing) zeigt keinen signifikanten Gruppenunterschied ($p = 0,34909$).

g) Die Sequenz flank_idle_appr (Flank Sniffing → idle → Approach) zeigt ebenfalls keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,335$).

h) Die Sequenz idle_appr_N2N (idle → Approach → Nose-to-Nose Sniffing) unterscheidet sich nicht signifikant zwischen den Gruppen ($p = 0,7257$).

i) Die Sequenz idle_appr_ano (idle → Approach → Anogenital Sniffing) ist in der Kontrollgruppe signifikant häufiger ($p = 0,00073944$).

j) Die Sequenz idle_appr_flank (idle → Approach → Flank Sniffing) ist in der Kontrollgruppe häufiger ($p = 0,0016863$). **k)** Die Sequenz idle_appr_idle (idle → Approach → idle) ist in der oxtR-Gruppe signifikant häufiger ($p = 0,010562$).

Die Analysen zeigten mit zunehmender Motivlänge (4- und 5-Zustands-Motive in Abb. 17 bzw. 18 dargestellt), dass mit Oxytocin behandelte Tiere weiterhin strukturierte Sequenzen aufwiesen, die auf wiederholtes Engagement und erneutes Engagement mit Sozialpartnern hindeuteten, während Kontrollmäuse zwischen den Handlungen häufiger in Ruhezustände zurückkehrten. Beispielsweise wurden Sequenzen wie Ruhezustand → Annäherung → Flanke → N2N → Ruhezustand in der Oxytocingruppe häufiger verzeichnet, während Sequenzen mit mehrfacher Rückkehr zum Ruhezustand (z.B. Ruhezustand → Annäherung → Ruhezustand → Annäherung) häufiger bei Tieren der Kontrollgruppe erfasst wurden.

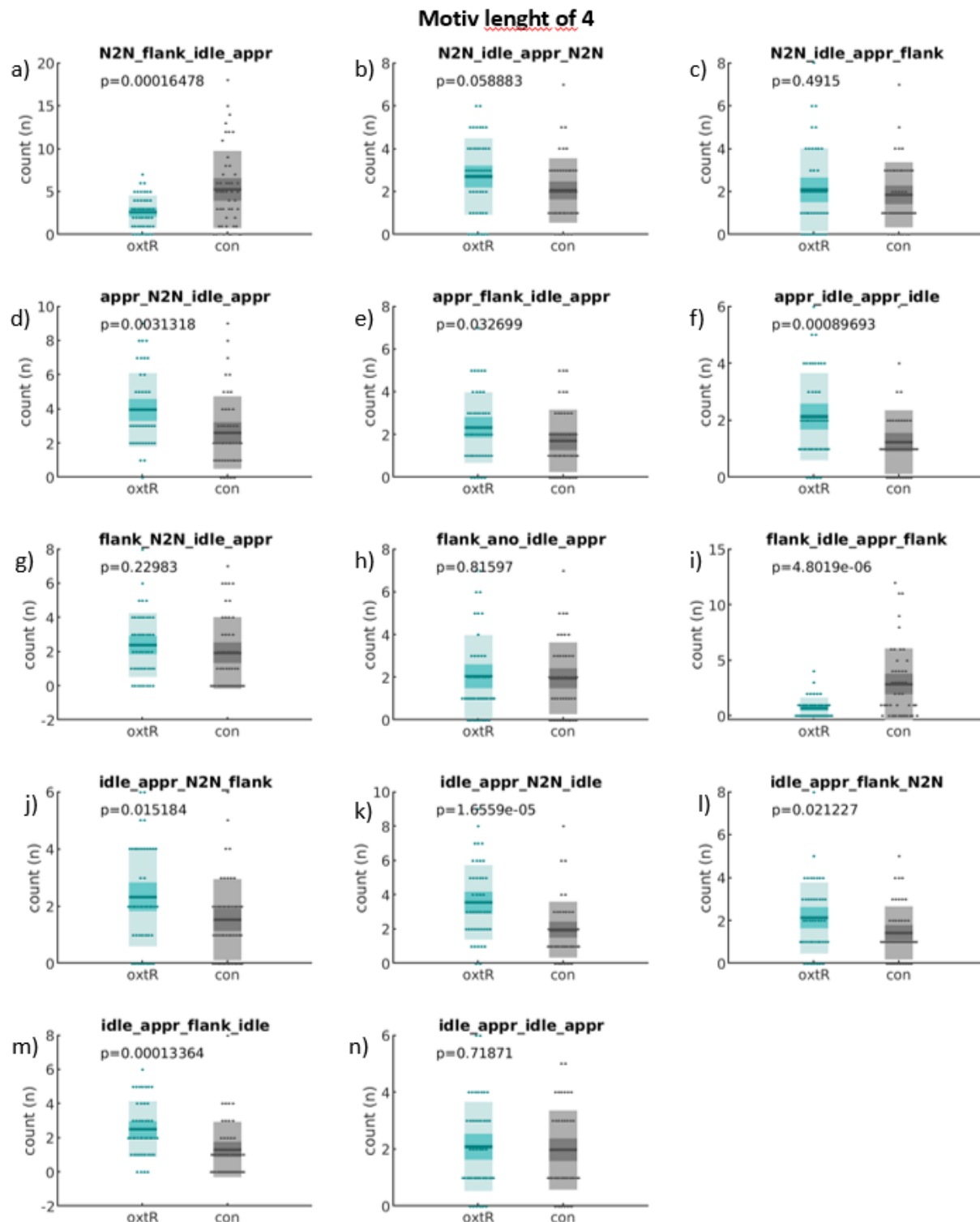


Abbildung 17: Streudiagramme zum Vergleich der Häufigkeiten verschiedener Verhaltenssequenzen aus jeweils 4 Verhaltenszuständen zwischen Mäusen mit verstärkter Oxytocinausschüttung und Kontrollsituationen.

a) Die Sequenz N2N_flank_idle_appr (Nose-to-Nose Sniffing → Flank Sniffing → idle → Approach) tritt in der oxtR-Gruppe signifikant häufiger auf als in der Kontrollgruppe ($p = 0,00016478$).

b) Die Sequenz N2N_idle_appr_N2N (Nose-to-Nose Sniffing → idle → Approach → Nose-to-Nose Sniffing) zeigt keinen signifikanten Gruppenunterschied ($p = 0,058883$).

- c)** Die Sequenz `appr_N2N_idle_appr` (Approach → Nose-to-Nose Sniffing → idle → Approach) zeigt ebenfalls keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,4915$).
- d)** Dieselbe Sequenz (`appr_N2N_idle_appr`) ist in der oxtR-Gruppe signifikant häufiger ($p = 0,0031318$).
- e)** Die Sequenz `appr_flank_idle_appr` (Approach → Flank Sniffing → idle → Approach) tritt in der Kontrollgruppe häufiger auf ($p = 0,032699$).
- f)** Die Sequenz `appr_idle_appr_idle` (Approach → idle → Approach → idle) ist in der oxtR-Gruppe signifikant häufiger ($p = 0,0008693$).
- g)** Die Sequenz `flank_N2N_idle_appr` (Flank Sniffing → Nose-to-Nose Sniffing → idle → Approach) zeigt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,22983$).
- h)** Die Sequenz `flank_ano_idle_appr` (Flank Sniffing → Anogenital Sniffing → idle → Approach) zeigt ebenfalls keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,81597$).
- i)** Die Sequenz `idle_appr_N2N_flank_idle` (idle → Approach → Nose-to-Nose Sniffing → Flank Sniffing → idle) zeigt keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,46194$).
- j)** Die Sequenz `idle_appr_N2N_flank` (idle → Approach → Nose-to-Nose Sniffing → Flank Sniffing) tritt in der Kontrollgruppe signifikant häufiger auf ($p = 0,015184$).
- k)** Die Sequenz `idle_appr_idle_appr_idle` (idle → Approach → idle → Approach → idle) ist in der oxtR-Gruppe signifikant häufiger ($p = 0,00013364$).
- l)** Die Sequenz `idle_appr_flank_idle` (idle → Approach → Flank Sniffing → idle) ist in der oxtR-Gruppe ebenfalls signifikant häufiger ($p = 0,00013364$).

Motiv length of 5

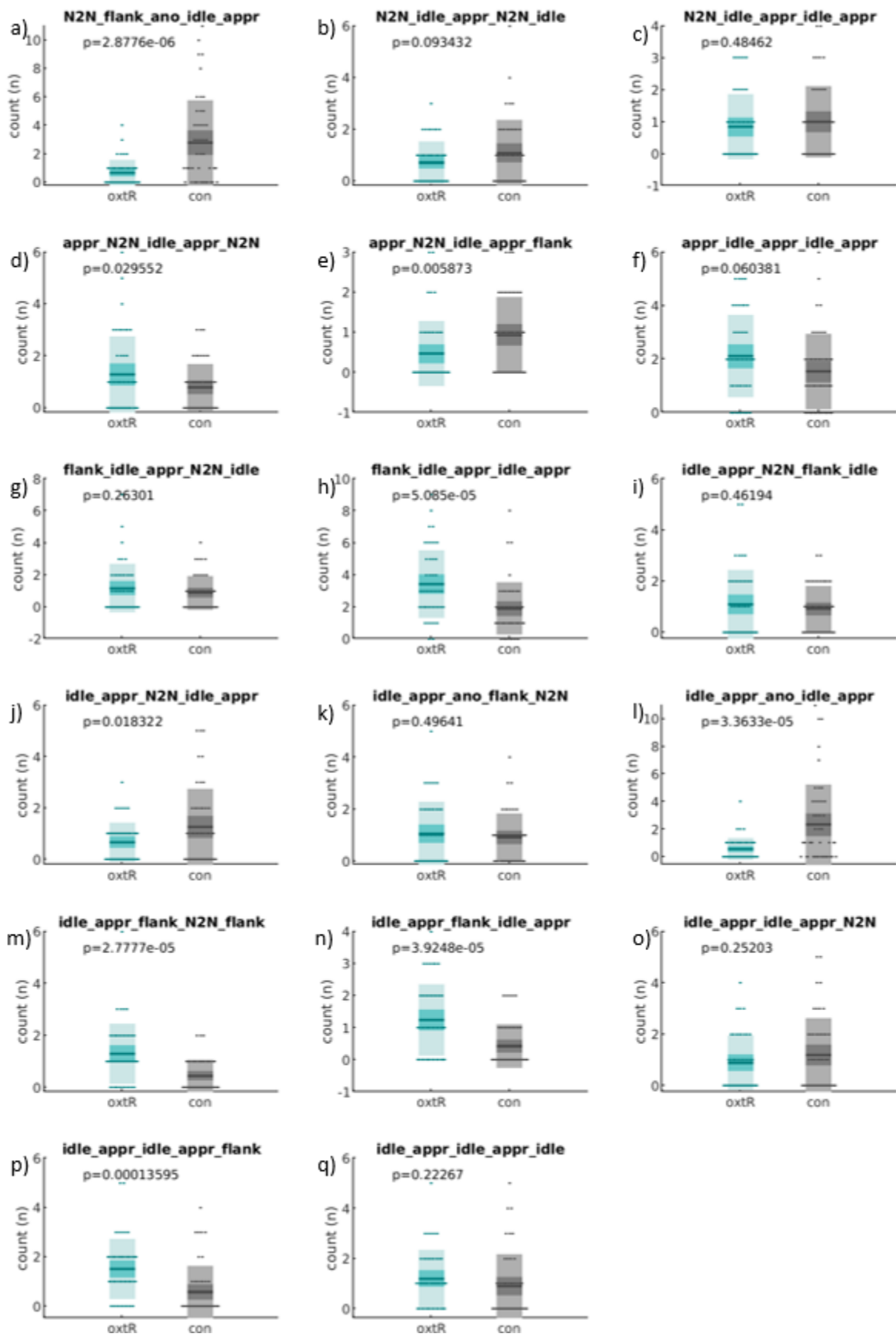


Abbildung 18: Streudiagramme zum Vergleich der Häufigkeiten verschiedener Verhaltenssequenzen aus jeweils 5 Verhaltenszuständen zwischen Mäusen mit verstärkter Oxytocinausschüttung und Kontrollsitzen.

- a) Die Sequenz N2N_flank_ano_idle_appr (Nose-to-Nose Sniffing → Flank Sniffing → Anogenital Sniffing → idle → Approach) ist in der Kontrollgruppe signifikant häufiger ($p = 2,8776e-06$).
- b) Die Sequenz N2N_idle_appr_N2N_idle zeigt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,093432$).
- c) Die Sequenz N2N_idle_appr_idle_appr zeigt ebenfalls keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,44462$).
- d) Die Sequenz appr_N2N_idle_appr_N2N ist in der oxtR-Gruppe signifikant häufiger ($p = 0,029552$).
- e) Die Sequenz appr_N2N_idle_appr_flank tritt in der Kontrollgruppe signifikant häufiger auf ($p = 0,005873$).
- f) Die Sequenz appr_idle_appr_idle_appr zeigt keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,060381$).
- g) Die Sequenz flank_idle_appr_N2N_idle zeigt keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,26301$).
- h) Die Sequenz flank_idle_appr_idle_appr ist in der oxtR-Gruppe signifikant häufiger ($p = 5,086e-05$).
- i) Die Sequenz idle_appr_N2N_flank_idle zeigt keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,46194$).
- j) Die Sequenz idle_appr_N2N_idle_appr ist in der Kontrollgruppe signifikant häufiger ($p = 0,018322$).
- k) Die Sequenz idle_appr_ano_flank_N2N zeigt keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,49641$).
- l) Die Sequenz idle_appr_ano_idle_appr ist in der Kontrollgruppe signifikant häufiger ($p = 3,3633e-05$).
- m) Die Sequenz idle_appr_flank_N2N_flank tritt in der oxtR-Gruppe signifikant häufiger auf ($p = 2,7777e-05$).
- n) Die Sequenz idle_appr_flank_idle_appr ist in der oxtR-Gruppe signifikant häufiger ($p = 3,9348e-05$).
- o) Die Sequenz idle_appr_idle_appr_N2N zeigt keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,25203$).
- p) Die Sequenz idle_appr_idle_appr_flank ist in der Kontrollgruppe signifikant häufiger ($p = 0,0013595$).
- q) Die Sequenz idle_appr_idle_appr_idle zeigt keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,22267$).

4.3 Soziale Exploration und die Ausbildung des sozialen Gedächtnisses

Im nächsten Schritt untersuchten wir (4), ob die Frequenz oder vielmehr die totale Dauer des Kontaktes während der initialen sozialen Interaktion eine verstärkte Ausprägung der sozialen Wiedererkennung bewirkt.

Untersucht wurde die Differenz der euklidischen Distanz zur normalen neuronalen Aktivität des anterioren olfaktorischen Nucleus nach Präsentation von Körpergerüchen bekannter und unbekannter Artgenossen im Rahmen von kopffixierten Aufzeichnungen. Als bekannte Artgenossen galten hierbei die Versuchstiere, welche im Rahmen einer vorangehenden 5 Minuten andauernden sozialen Interaktionsphase aufeinandertrafen. Maschinelle Analysen der dabei aufgezeichneten Videodateien lieferten quantitative Verhaltensinformationen über die Ausprägung sozialer Interaktionen. In anschließenden Korrelationsanalysen erfolgte die Gegenüberstellung der von Häufigkeit und Gesamtdauer zur euklidischen Distanz zur Baseline, um einen Zusammenhang zwischen der Intensität eines sozialen Kontaktes und einer neuronalen Antwort zu untersuchen.

4.3.1 Interaktionshäufigkeit und soziales Gedächtnis

Bei der Korrelationsanalyse zwischen der Anzahl von sozialen Interaktionen und der Differenz der neuronalen Antworten wurde ein signifikanter positiver Zusammenhang verzeichnet (Spearman's $r_s = 0.53$, $p = 0.007$; Abb. 19). Dies bestärkt die Hypothese, dass ein intensiver sozialer Kontakt mit einer verstärkten Differenzierung von Körpergerüchen von bekannten und unbekanntem Artgenossen und damit der verstärkten Ausprägung eines sozialen Gedächtnisses einhergeht.

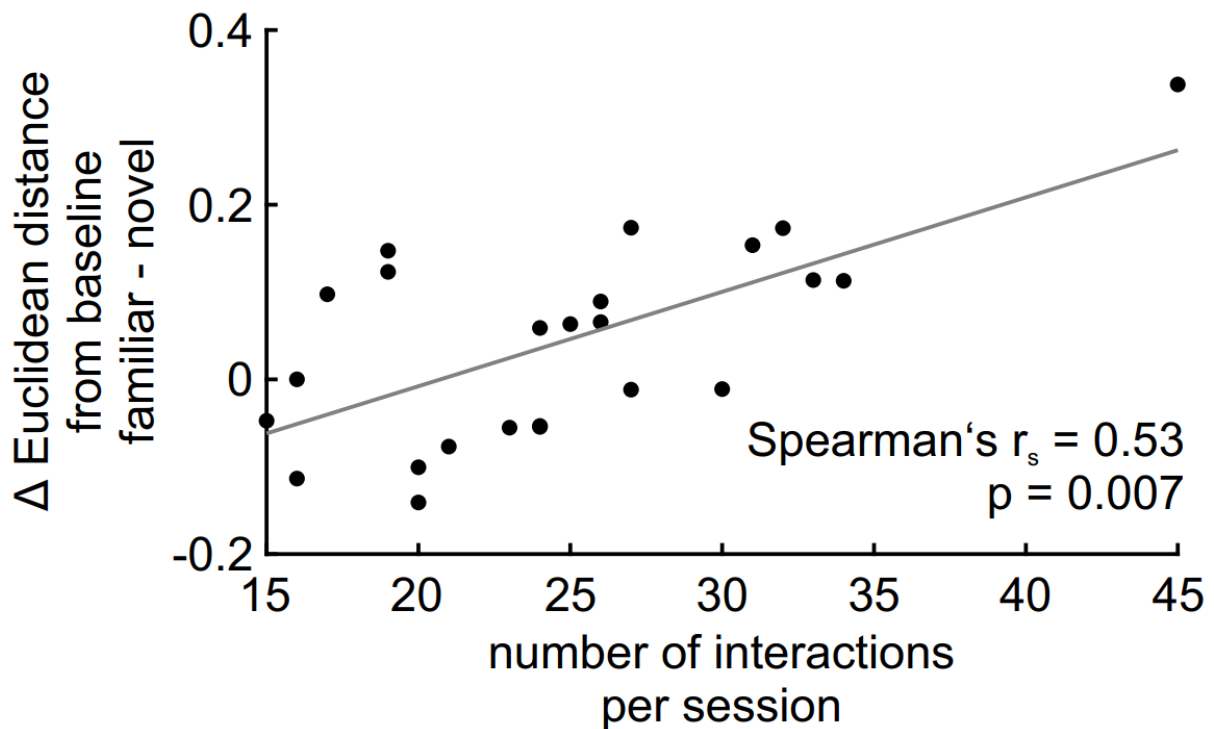


Abbildung 19: Korrelation zwischen der Anzahl sozialer Interaktionen und der Differenz der euklidischen Distanz für die Unterscheidung zwischen vertrauten und unbekanntem Artgenossen

Das Streudiagramm zeigt eine positive Korrelation (Spearman's $r_s = 0.53$, $p = 0.007$) zwischen der Anzahl der Interaktionen pro Sitzung (x-Achse) und der Veränderung der euklidischen Distanz vom Ausgangswert (y-Achse). Je mehr soziale Interaktionen stattfanden, desto größer war die Differenzierungsfähigkeit zwischen bekannten und unbekanntem Individuen.

4.3.2 Interaktionsdauer und soziales Gedächtnis

Die Betrachtung der Gesamtdauer sozialer Interaktionen verzeichnete hingegen keinen signifikanten Zusammenhang mit der neuronalen Differenzierungsfähigkeit (Spearman's $r_s = 0.03$, $p = 0.87$; Abb. 20). Dies wiederum deutet auf eine geringere Relevanz der Dauer einzelner sozialer Kontakte für die Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses hin.

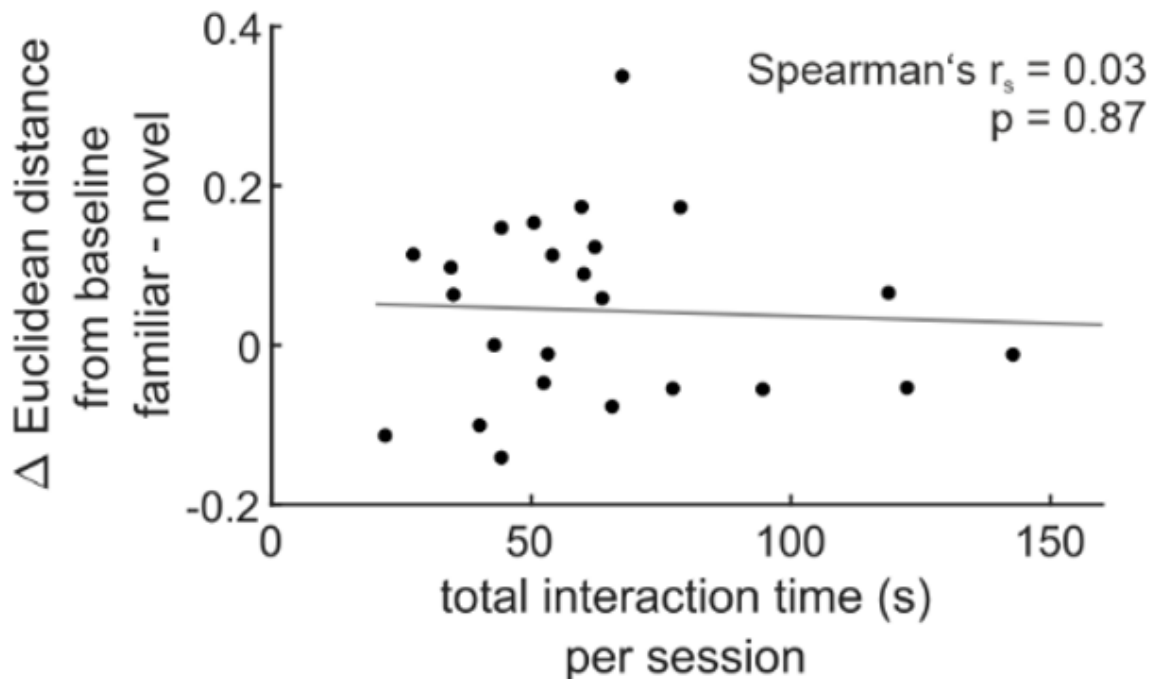


Abbildung 20: Korrelationsanalyse zwischen der Gesamtinteraktionszeit und der Differenz der euklidischen Distanz für die Unterscheidung zwischen vertrauten und unbekanntem Artgenossen

Das Streudiagramm zeigt keine signifikante Korrelation (Spearman's $r_s = 0.03$, $p = 0.87$) zwischen der gesamten Interaktionszeit pro Sitzung in Sekunden (x-Achse) und der Veränderung der euklidischen Distanz vom Ausgangswert (y-Achse).

Die Gesamtdauer der sozialen Interaktionen scheint, im Gegensatz zur Anzahl der Interaktionen, keinen Einfluss auf die Differenzierungsfähigkeit zwischen bekannten und unbekanntem Individuen zu haben.

Diese Befunde legen nahe, dass für die Ausbildung eines robusten sozialen Gedächtnisses die Häufigkeit von Begegnungen entscheidender ist als deren Dauer. Dies könnte auf zugrundeliegende neuronale Mechanismen hindeuten, bei denen wiederholte, distinkte Exposition gegenüber sozialen Stimuli effektiver zur Gedächtnisbildung beiträgt als längere, aber seltenere Expositionen. Die Ergebnisse stehen im Einklang mit der Hypothese, dass soziale Interaktionen spezifische neuronale Verarbeitungsprozesse auslösen, die für die Ausbildung sozialer Erinnerungen essentiell sind.

In Zusammenschau der Ergebnisse zeigen die beiden Untersuchungen, dass ein intensiver sozialer Kontakt die Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses verstärkt, wobei insbesondere die Häufigkeit der sozialen Interaktionen von Bedeutung ist und

die Dauer der Interaktionen interessanterweise keinen signifikanten Einfluss zu haben scheint.

4.4 Verhaltensreaktionen auf singuläre aversive Erlebnisse beeinflussen bestehende soziale Strukturen

Die beobachtete Heterogenität im Explorationsverhalten der Mäuse im vorigen Experiment führte zur Fragestellung, inwiefern soziale Verhaltensweisen prägenden Einflüssen wie dem Erleben intensiver sozialer Situationen unterliegen, und dabei präsentierte Verhaltensweisen mit bestimmten sozialen Verhaltensentwicklungen assoziiert sein können. Dazu untersuchten wir die folgenden Hypothesen: (5) Außergewöhnliche soziale Interaktionen, die affektiv aufgeladen sind, führen infolge zu Änderungen des Sozialverhaltens in der normalen Lebensumgebung. Und weitergehend: (6) Bereits innerhalb singulärer sozialer Erlebnisse fungieren individuelle Variation im Verhalten als prädiktive Faktoren für die Ausbildung langfristiger Interaktionsstrukturen in der normalen Lebensumgebung.

Die Untersuchung der obenstehenden Hypothesen erfolgte durch die Betrachtung sozialer Hierarchien während des Zusammenlebens von je 11-12 Mäusen innerhalb des NoSeMaze für mehrere definierte Zeiträume innerhalb des Zeitraums von 7-8 Wochen. Tube-Tests lieferten hierbei Anhalte zur vorherrschenden Rangordnung innerhalb der sozialen Gruppe, indem sie unterordnende Verhaltensweisen bei entgegenkommenden Tieren in Tunnelsystemen erfassten. Änderungen der Rangordnung durch zwischenzeitliche Intervention im Rahmen des „Social Defeat“ Paradigmas wurden den Ergebnissen von Distanzanalysen in Korrelationsanalysen gegenübergestellt. Im Rahmen des „Social Defeats“ erfolgten in Einzelsitzungen über den Zeitraum von 5 Minuten jeweils 3 Perioden der direkten Konfrontation mit einer körperlich überlegenen aggressiven CD1 Maus. Videoaufzeichnungen zwischenzeitlicher Separationsintervalle wurden durch maschinelle Verhaltensanalysen mittels Deeplabcut und SimBA zu Distanzanalysen der beiden Tiere verwendet.

4.4.1 Räumliche Präferenzen während des „Social Defeats“

Die Analyse der räumlichen Verteilung innerhalb des Testkäfigs erfolgte durch die Analyse ausgewählter „Regions of Interest“ (kurz ROI) in SimBA. Dabei wurde der Käfig in drei Abstandszonen zur Trennwand eingeteilt: Front (Aggressor zugewandte Seite), Center, Back (Aggressor abgewandte Seite).

Der Anteil der im vorderen Bereich verbrachten Zeit (Abb. 21A) zeigte eine erhöhte Variabilität während der zweiten „Social Defeat“-Runde. In Periode 2 wurde eine signifikante negative Korrelation zwischen der im vorderen Bereich verbrachten Zeit und Rangveränderungen beobachtet ($r = 0.65$, $p < 0.001$), wobei Tiere mit geringerer Präsenz im vorderen Bereich tendenziell Rangverluste erlitten.

In Übereinstimmung mit defensivem Verhalten verbrachten die Mäuse den Großteil der Separationsintervalle im hinteren Bereich des Käfigs (Abb. 21B). Die im zentralen Bereich verbrachte Zeit (Abb. 21C) korrelierte negativ mit Rangveränderungen in Periode 1 ($r = -0.44$, $p = 0.02$), jedoch nicht in den späteren Perioden.

Die interindividuelle Variabilität in den räumlichen Präferenzen und die unterschiedlichen Korrelationsmuster zwischen den „Social Defeat“-Runden veranschaulichen ausgeprägte räumliche Dynamiken über die verschiedenen Perioden hinweg.

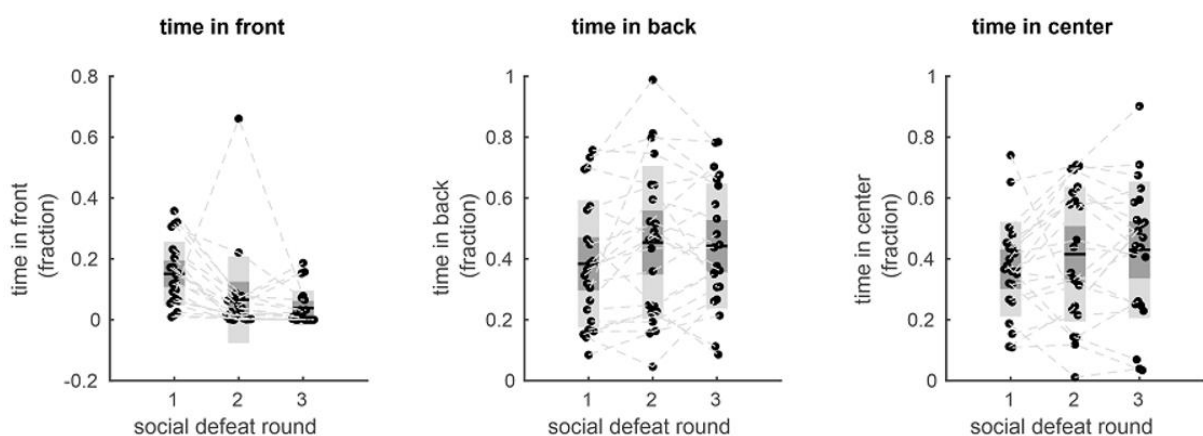


Abbildung 21: Räumliche Verteilung der Mäuse während des „Social Defeat“-Paradigmas.

Die Grafiken zeigen den Anteil der in verschiedenen Bereichen verbrachten Zeit: im vorderen Bereich (links), im hinteren Bereich (Mitte) und im zentralen Bereich (rechts) über drei „Social Defeat“-Runden. Jeder Punkt repräsentiert ein individuelles Tier, graue Linien verbinden Messungen desselben Tieres. Graue Rechtecke zeigen die Gruppenmittelwerte. Die Grafiken verdeutlichen ein vorwiegend defensives

Raumverhalten mit reduzierter Präsenz im vorderen (Aggressor-zugewandten) Bereich und vermehrtem Aufenthalt im hinteren Bereich.

4.4.2 Korrelation zwischen Distanzverhalten und Rangveränderungen

Aufgrund der normalverteilten Varianz der medianen Distanz und deren konzeptionell gut interpretierbarer Einordnung als direktes interaktionelles Maß des Abstandshaltens mit dem Aggressor, untersuchten wir dessen Korrelation mit der sozialen Rangänderung im NoSzeMaze. Der soziale Rang wurde über ein Intervall von 14 Tagen vor und nach dem „Social Defeat“ für jedes Tier in einer Gruppe bestimmt (für Details zur sozialen Rangbestimmung siehe Methodenteil). Ergebnisse der Distanzanalysen während der Separationsintervalle zeigten eine signifikante positive Korrelation mit nachfolgenden Rangveränderungen (Abb. 22). Mäuse, die größere Distanzen zur aggressiven CD1 Maus einhielten, erfuhren mit höherer Wahrscheinlichkeit einen Rangverlust (Spearman's $r_s = 0.54$, $p = 0.01$ in Periode 1; $r_s = 0.51$, $p = 0.02$ in Periode 2).

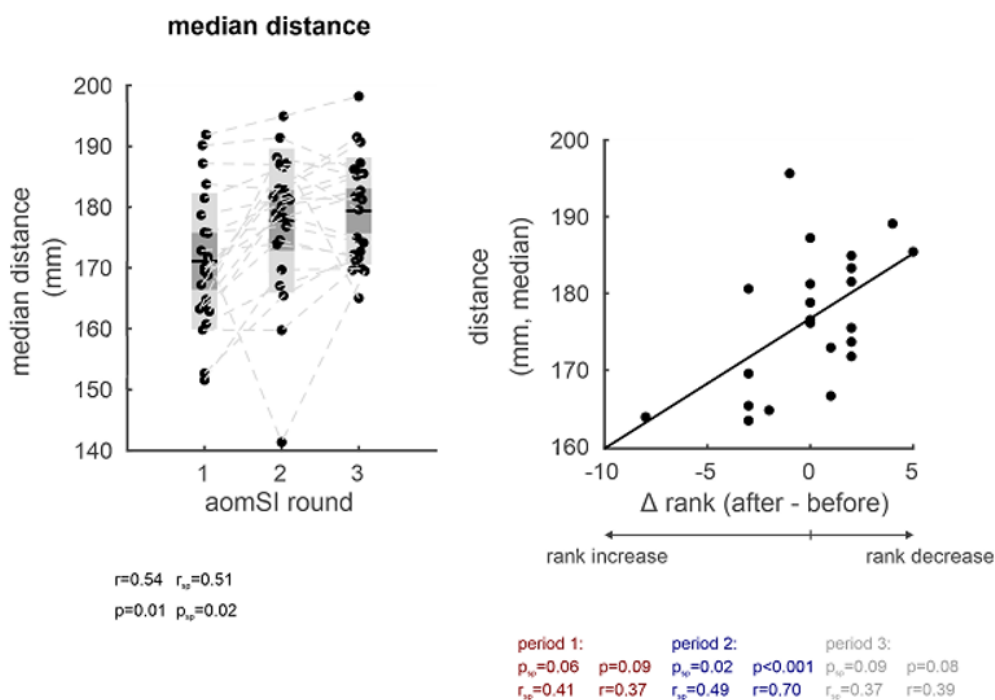


Abbildung 22: Mediane Distanz zwischen Mäusen während des „Social Defeat“-Paradigmas.

Die obere Grafik zeigt die mediane Distanz (in mm) über drei Runden des jeweiligen Durchlaufs. Jeder Punkt repräsentiert ein individuelles Tier, während graue Linien Messungen desselben Tieres verbinden. Die untere Grafik zeigt die Korrelation zwischen Rangveränderung (Δ rank, x-Achse) und medianer Distanz (y-Achse). Die positive Korrelation ($r=0.54$, $r_s=0.51$) zeigt, dass Tiere mit größerem Abstand zum Aggressor tendenziell einen Rangverlust erfahren. Statistische Signifikanzwerte für

verschiedene Perioden sind am unteren Rand dargestellt, wobei Periode 2 eine hochsignifikante Korrelation ($p < 0.001$) aufweist.

Die robuste Korrelation zwischen Distanzverhalten und nachfolgenden Rangveränderungen legt nahe, dass die behaviorale Reaktion während des „Social Defeats“ prädiktive Aussagen über langfristige soziale Anpassungen ermöglicht. Insbesondere scheint eine größere räumliche Distanz zum Aggressor während der Separationsphase ein zuverlässiger Indikator für eine nachfolgende Verschlechterung der sozialen Position zu sein. So ist eine erhöhte Distanz zum Aggressor entsprechend einer defensiven Verhaltensweise mit einem Rangverlust innerhalb des anschließenden Zusammenlebens im NoSeMaze assoziiert was sich in gehäuften unterwürfigen Verhaltensweisen gegenüber den Artgenossen im Rahmen der Tube Tests verzeichnen lässt.

Die durchgeführten Auswertungen unterstützen die Hypothese, dass gezeigte Verhaltensweisen in prägenden sozialen Interaktionen zu signifikanten Änderungen des Sozialverhaltens führen und damit messbare und vorhersagbare Auswirkungen auf etablierte soziale Strukturen haben können. Sie verdeutlichen die Dynamik sozialer Hierarchien und zeigen, wie individuelle Verhaltensreaktionen auf Stress mit kollektiven sozialen Anpassungen zusammenhängen. Die beobachteten Korrelationen könnten wichtige mechanistische Einblicke in die Prozesse liefern, durch die individuelle Erfahrungen soziale Strukturen beeinflussen

5 Diskussion

Die vorliegende Doktorarbeit präsentiert einen methodischen Ansatz zur Durchführung hochauflösender Analysen und dessen Anwendung am Mausmodell zur Untersuchung sozialer Verhaltensweisen und deren Modulation durch spezifische Einflussgrößen. Im Focus standen dabei die Ausschüttung von Oxytocin und damit verbundene Änderungen des Annäherungs- und Explorationsverhaltens, sowie die Ausbildung eines sozialen Erinnerungsvermögens in Zusammenhang mit der Intensität vorangehender sozialer Interaktionen. Auch das Erleben und Bewältigen aversiver sozialer Erfahrungen und dessen Einfluss auf bestehende soziale Hierarchien wurde in dem Zuge umfassend untersucht.

Im Rahmen dieses Abschnitts erfolgt die Einordnung von dabei erhobenen Befunden und Erkenntnissen in den aktuellen Stand der Forschung. Dazu folgt eine chronologische Abhandlung der jeweiligen Themenschwerpunkte und der zugehörigen Hypothesen in jeweiligen Textabschnitten. Im weiteren Verlauf werden potenzielle Implikationen für klinisch- psychiatrische Anwendungen etwa für das Verständnis von Krankheitsbildern mit sozialen Defiziten diskutiert. Abschließend erfolgt ein Blick auf künftige Forschungsprojekte und die Diskussion bestehender Limitationen.

5.1 Methodische Implikationen

5.1.1 Innovation in der Verhaltensanalyse

Erhebliche Einschränkungen traditioneller Ansätze von Verhaltensanalysen folgten aus der Nutzung manueller Annotationen und gingen insbesondere mit hohem Zeitaufwand und einem unvermeidbaren Maß Subjektivität einher. Die Entwicklung computergestützter Verfahren lieferte erste Fortschritte, beschränkte sich jedoch häufig auf eine grobe Erfassung von Distanzen oder unspezifischer Verhaltensweisen einzelner Versuchstiere. Neuartige Ansätze ermöglichten die Integration neuester technischer Möglichkeiten wie die Deep-Learning-Methoden und maschinelle Lernverfahren.

Dabei eröffnen Anwendungen wie Deeplabcut und SimBA vielversprechende Möglichkeiten zur Entwicklung hochauflösender Analysen komplexer

Verhaltensweisen. Dadurch ergeben sich zwei unmittelbare Vorteile:

Durch die präzise Analyse können selbst subtile Verhaltensänderung quantifiziert und somit Einflüsse spezifischer Modulatoren auf soziale Verhaltensweisen untersucht werden. Des Weiteren ermöglicht die Kombination von Anwendungen wie Deeplabcut und SimBA eine Erhebung reproduzierbarer Ergebnisse durch Anwendung systematischer Verhaltensklassifikationen in maschinellen Analysen.

Um derartige Verfahren zuverlässig anwenden zu können ist eine robuste und differenzierte Auswahl geeigneter Merkmale zur Klassifikation von Verhaltensweisen von elementarer Bedeutung. Vorangehende Studien konnten jedoch unterschiedliche Ausprägungen von Merkmalen in Abhängigkeit von verwendeten Spezies und experimentellem Aufbauten verzeichnen. (Nilsson et al., 2020; von Ziegler et. al., 2021) Um systematischen Fehlerquellen vorzubeugen wurden im Rahmen dieser Doktorarbeit für die beiden untersuchten experimentellen Paradigmen eigenständige Netzwerke entwickelt. Systematische Verhaltensanalysen könnten einen entscheidenden Beitrag zur speziesabhängigen Standardisierung sozialer Verhaltensweisen verhelfen. Auf dieser Grundlage könnte eine flexible Anwendung von auf verschiedene experimentelle Bedingungen ermöglicht werden. Dazu bedarf es jedoch weiterer umfangreiche Verhaltensanalysen diverser Paradigmen und Spezies in unterschiedlichen sozialen Umgebungen.

Ein weiteres Risiko bei Verwendung maschineller Lernverfahren ist die Gefahr des Overfittings: Einer zu einseitigen Ausrichtung trainierter Modelle. Insbesondere bei Anwendungen von Klassifikationen, kann dies zu Verfälschungen der Verhaltensinformationen führen, wenn keine präventiven Maßnahmen ergriffen werden. Eine möglichst weit gestreute Präsentation von Verhaltensmerkmalen als Trainingsgrundlage gepaart mit regelmäßigen Validierungen an unabhängigen Datensätzen ist hierbei entscheidend. Diese erfolgte im Rahmen der vorliegenden Arbeit durch BORIS als Anwendung zur manuellen Annotation von Verhaltensweisen. Auf der Grundlage regelmäßiger Abgleiche von maschinellen und manuellen Annotationen wurden mit Recall und Precision zuverlässige Parameter zur Leistungskontrolle ermittelt. Der F1-Score als harmonisches Mittel aus Precision und Recall konnte als objektive Messgröße in Verlaufskontrollen beobachtet werden. Der zusätzliche Abgleich entsprechender Visualisierungen maschinell und manuell

erhobener Verhaltensdaten gewährleistete eine hohe Genauigkeit der einzelnen Verhaltensmodelle.

Zusammenfassend zeigte die Kombination von Deeplabcut und SimBA einen zuverlässigen methodischen Ansatz zur Durchführung präziser maschineller Verhaltensanalysen. Die hier etablierte Untersuchung verhaltensmodulierender Einflussgrößen und deren subtile Auswirkung auf soziale Verhaltensweisen verdeutlicht das Potenzial im Rahmen der Verhaltensforschung. Die methodische Hypothese dieser Arbeit ist somit bestätigt. Eine zuverlässige Anwendung erfordert jedoch die Einhaltung präventiver Maßnahmen:

Eine selektive Merkmalsauswahl zur robusten Verhaltensklassifikation und die Durchführung regelmäßiger Validierungsmaßnahmen zur Vermeidung eines potenziellen Overfittings bei der Nutzung von maschinellen Lernverfahren.

5.2 Biologische Implikationen

5.2.1 Oxytocin als Modulator sozialer Verhaltensweisen

Die hochauflösende Verhaltensanalyse ermöglicht die umfassende Untersuchung modulierender Einflüsse von Oxytocin auf die Ausprägung komplexer sozialer Verhaltensweisen. So konnte die Hypothese, dass eine optogenetisch induzierte ‚globale‘ Freisetzung von Oxytocin zu häufigeren sozialen Annäherungen führe, nicht bestätigt werden. Neben spezifischen experimentellen Bedingungen könnte dies auch einer kontextabhängigen Wirkung von Oxytocin zuzuschreiben sein. So könnten Faktoren wie soziale Erfahrungen oder vorherrschender Stress zusätzlichen Einfluss ausüben (Harrison et al., 2016; Yamagishi et al., 2020).

Zugleich konnte dennoch die Hypothese bestätigt werden, dass Mäuse mit verstärkter Freisetzung von Oxytocin eine signifikant höhere Wahrscheinlichkeit des Übergangs vom Annäherungsverhalten hin zu direktem sozialem Explorationsverhalten haben würden. Somit wäre die Hypothese bestätigt, dass Oxytocin nicht nur die Initiierung einer sozialen Exploration verstärkt, sondern insbesondere deren Qualität und Bedeutsamkeit moduliert. Dies entspricht der von Oettl et. al. (2016) beschriebenen Funktion von Oxytocin als Modulator für eine effizientere Verarbeitung von sozialen Geruchsreizen in olfaktorischen Strukturen wie dem anterioren olfaktorischen Nucleus.

Diese Effizienzhypothese wird zusätzlich dadurch bestätigt, dass Tiere mit verstärkter Freisetzung von Oxytocin signifikant kürzere Sequenzlängen von Nase-zu-Nase-Schnüffeln und Flankenschnüffeln aufzeigten. Dies entspricht der Aussage von Tillman et al. (2019), der von kürzeren aber effizienteren sozialen Explorationen in der Folge der Freisetzung von Oxytocin berichtet. Dies könnte am ehesten der Beschreibung von Oettl. et. al. (2016) entsprechen, der die neurophysiologische Grundlage der Oxytocin-vermittelten Effizienzverbesserung im anterioren olfaktorischen Nucleus verortet. Ergebnisse der Transitions- und Motivanalysen lassen nicht nur die Oxytocin-vermittelte Modulation einzelner Verhaltensweisen, sondern auch begünstigende Einflüsse auf die Verkettung mehrerer Verhaltensweisen hin zu komplexen Verhaltensmustern vermuten. Während untersuchte Kontrolltiere oftmals zum Ruhezustand zurückkehrten zeigten Tiere unter optogenetisch verstärkter Ausschüttung von Oxytocin strukturiertere Sequenzen mit direkter Übergängen zwischen Verhaltensweisen der sozialen Exploration. Bisherige Studien konnten hierbei zumeist nur isolierte Verhaltensparameter untersuchen (Yamagishi et al., 2020). Der in dieser Arbeit genutzte methodische Ansatz ermöglicht somit erstmalige Einblicke in komplexe sequentielle Muster sozialer Interaktionen. Dadurch erhobene Befunde bedeuten daher eine relevante Erweiterung des bisherigen Verständnisses der verhaltensmodulierenden Funktionen von Oxytocin.

Aus der Zusammenschau dieser Erkenntnisse geht hervor, dass die verstärkte Ausschüttung von Oxytocin zur effizienteren und strukturierteren Organisation sozialer Verhaltensweisen führt. Ursache dafür könnte eine Begünstigung der Verarbeitung sozialer Geruchsinformationen sein. Diese Funktion könnte auch nicht zuletzt vor dem Hintergrund der Evolution entscheidend zur Bildung stabiler sozialer Bindungen beigetragen haben.

5.2.2 Soziales Gedächtnis und explorative Verhaltensweisen

Untersuchungen des Zusammenhangs von Explorationsverhalten und der Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses lieferten neue Erkenntnisse. Dabei erfolgte die elektrophysiologische Erfassung neuronaler Aktivitäten als Korrelate des sozialen Erinnerungsvermögens im Rahmen des Social Interaction-Paradigmas. Innerhalb der durchgeführten Korrelationsanalysen konnte ein signifikanter

Zusammenhang zwischen der Anzahl sozialer Interaktionen und der Ausprägung neuronaler Antworten verzeichnet werden (siehe Abb. 19). Eine signifikante Korrelation zwischen der Gesamtdauer sozialer Interaktionen und der neuronalen Antwortstärke wurde jedoch nicht verzeichnet (siehe Abb. 20). Dennoch konnte somit die Hypothese bestätigt werden, dass häufige diskrete soziale Kontakte die Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses begünstigen. Die zeitliche Dauer des sozialen Kontaktes wiederum scheint dabei nicht maßgeblich entscheidend zu sein.

Bisherige Studien fokussierten insbesondere die Betrachtung allgemeiner sozialer Interaktionen im Zusammenhang mit der Ausbildung eines sozialen Erinnerungsvermögens. Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit boten jedoch tiefere Einblicke in die Qualität sozialer Interaktionen durch die Differenzierung zwischen der Bedeutung von Gesamtdauer und der Frequenz sozialer Interaktionen.

Eine effektive Ausbildung des Gedächtnisses durch wiederholte neuronale Aktivierungsmuster entspricht dem wissenschaftlichen Konsens der neuronalen Plastizität und Gedächtnisbildung. Demzufolge tragen häufige zeitlich getrennte Stimulationen deutlich effektiver zur Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses bei, als kontinuierliche Reize.

Die gewonnenen Erkenntnisse liefern praktische Implikationen durch Anreize zur Berücksichtigung spezifischer Interaktionsmuster im Rahmen therapeutischer Ansätze. Des Weiteren bieten sie eine vielversprechende Grundlage für weitere Forschungen zu Sozialen Defiziten etwa im Rahmen von Autismus-Spektrum-Störungen.

5.2.3 Verhaltensreaktionen bei aversiven sozialen Erfahrungen

Korrelationsanalysen zwischen erfassten Verhaltensreaktionen im Rahmen des „Social Defeat“-Paradigmas und anschließenden Veränderungen der sozialen Rangordnung bieten prädiktive Anwendungsmöglichkeiten. Dabei gilt zu beachten, dass wie bereits im Kapitel der Materialien und Methodik erläutert eine vergleichsweise komplexe Abwandlung des etablierten Social Defeat-Paradigmas verwendet wurde. So lag hierbei der Fokus nicht auf der sozialen Niederlage, sondern auf einer kontrollierten Induktion von aggressiven sozialen Interaktionen zur Erfassung entsprechender Verhaltensreaktionen der Versuchstiere.

So konnte zwischen der medianen Distanz des Versuchstieres zum Aggressor während der Separationsintervalle und Rangverlusten innerhalb der sozialen Gruppe ein signifikanter Zusammenhang verzeichnet werden (siehe Abb. 22).

Tiere, die als Reaktion auf aggressive Konfrontationen vergrößerte Distanzen zu Aggressor einnahmen, hatten demnach ein signifikant höheres Risiko soziale Rangverluste innerhalb ihrer sozialen Gruppe zu erleiden. Ein robuster Nachweis dieser Korrelation über mehrere Zeitpunkte hinweg unterstreicht den Zusammenhang und bestätigt damit die beiden formulierten Hypothesen: Singuläre aversive soziale Erfahrungen führen zu Änderungen des Sozialverhaltens und individuelle Verhaltensreaktionen scheinen in diesem Zusammenhang von prädiktiver Bedeutung zu sein.

Während bisherige Arbeiten das Social Defeat-Paradigma zur Untersuchung physiologischer oder depressionsähnlicher Kontexte nutzten (Macedo et al., 2018), eröffnet die Untersuchung prädiktiver Indikatoren für soziale Verhaltensänderungen einen neuen Anwendungsbereich. Dabei gewonnene Erkenntnisse könnten Anreize und Orientierungshilfen für künftige Studien schaffen.

Die Untersuchung räumlicher Präferenzen von Versuchstieren während des „Social Defeats“ ergab eine signifikante negative Korrelation zwischen der verbrachten Zeit in vorderen Bereichen des Käfigs (nah am Aggressor) und sozialen Rangveränderungen (siehe Abb. 21). Demnach hatten Tiere, welche sich näher zum Aggressor aufhielten, ein signifikant geringeres Risiko Rangverluste zu erleiden, was einen Zusammenhang von reaktiven Anpassungen der Distanz und der sozialen Rangordnung vermuten lässt.

Insgesamt zeigen die vorliegenden Befunde, dass reaktive Verhaltensweisen im Rahmen des „Social Defeats“ von prädiktiver Bedeutung für soziale Entwicklungen sein können. Möglicherweise können sie als Indikatoren individueller Resilienzfaktoren herangezogen werden und Anreize für künftige Studien setzen. Im Allgemeinen erweitern sie das Verständnis für das Zusammenspiel von unmittelbarer Stressbewältigung und der Stabilität sozialer Hierarchien.

5.3 Limitationen

Trotz der erfolgreichen Entwicklung eines methodischen Ansatzes und der umfassenden Untersuchung verhaltensmodulierender Einflussgrößen bestehen noch einige relevante Einschränkungen. Diese sind bei Interpretation der Ergebnisse und künftigen methodischen Anwendungen zu beachten.

5.3.1 Herausforderungen bei der Nutzung neuronaler Netzwerke:

Die Entwicklung von neuronalen Netzwerken bildet eine Grundlage zur systematischen Durchführung von Verhaltensanalysen, ist jedoch mit erheblichem Trainingsaufwand verbunden sein. So steigt bei zunehmender Komplexität oder Subtilität von Verhaltensweisen die Anzahl der benötigten manuellen Annotationen deutlich. Dies führt zu verzögerten Trainingsfortschritten und zeitintensiven manuellen Annotationsphasen. Eine gezielte Vorselektion von Bildausschnitten vor Beginn der manuellen Annotation kann zur besseren Repräsentation von Verhaltensweisen führen und damit zu einer effizienteren Lernkurve im Rahmen des Netzwerktrainings beitragen.

5.3.2 Einschränkungen der Verhaltensklassifikation:

Trotz systematischer Verhaltensklassifikationen bleiben vereinzelte Verhaltensweisen herausfordernd, da bestimmte Posen nach der Extraktion ähnliche metrische Datenpunkte aufzeigen. Eine korrekte Differenzierung kann maschinell nicht gewährleistet werden, da sie ein kontextuelles Verständnis erfordert, was zu einer Verzerrung durch subjektive Entscheidungen des Experimentators führen kann.

Ein Beispiel hierfür ist die gekrümmte Haltung des Versuchstiers beim Putzen im Vergleich zur Körperposition während des Kletterns entlang der Käfigwände. In beiden Fällen liegen die metrischen Datenpunkte der einzelnen Körperteile in einer ähnlichen Anordnung eng beieinander, sodass es zu maschinellen Verwechslungen kam. Auch umfangreiche Trainings konnten hierbei keine zuverlässige Netzwerkleistung erzielen.

5.3.3 Videoqualität und technische Begrenzungen:

Auch die Qualität der zugrundeliegenden Videoaufzeichnungen ist ein kritischer Punkt. Eine mangelhafte Bildqualität führt zu Ungenauigkeiten bei der Erfassung ähnlicher Verhaltensweisen. Hilfreich wäre die Verwendung eines möglichst kontrastreichen Untergrunds, um einzelne Körperteile auch in dynamischen Situationen deutlich von der Umgebung abgrenzen zu können sowie die Nutzung multipler Kameras, um eine echte 3D-Posenerfassung zu erhalten.

5.3.4 Variabilität des „Social Defeat“ Paradigmas:

Die Verwendung verschiedener CD1 Mäuse im Rahmen des „Social Defeat“ Paradigmas bildet einen Störfaktor, der trotz vorangehender Testung der Aggressivität (Angriffslatenzen $<10s$) zu individuellen Abweichungen führen kann. Jedoch wären selbst bei konstanter Verwendung desselben Tiers situative Abweichungen, oder Ermüdungserscheinungen zu erwarten. Es bleibt somit ein Bias, der jedoch durch geeignete statistische Methoden kontrolliert werden kann.

5.3.5 Interpretierbarkeit und Anwendung:

Eine vollständig zuverlässige Beurteilung möglicher Kausalitäten auf Grundlage der erfolgten Korrelationsanalysen ist letztlich nicht möglich. Ebenso sind komplexe Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Modulatoren nicht endgültig auszuschließen. Des Weiteren erfolgten die Untersuchungen anhand genetisch homogener CD57BL/6-Mäuse, was die Generalisierbarkeit auf andere Mauslinien oder Spezies einschränkt.

5.4 Relevanz der Doktorarbeit und weiterer Ausblick

Mit der methodischen Etablierung und Anwendung hochauflösender Verhaltensanalysen trägt diese Doktorarbeit zu Fortschritten in der verhaltensbiologischen und neuropsychiatrischen Forschung bei. Die präzise Erfassung sozialer Verhaltensweisen in Verbindung mit neuronalen Korrelaten eröffnet vielseitige Möglichkeiten zur Anwendung für künftige wissenschaftliche Arbeiten.

Innerhalb der vorliegenden Arbeit erfolgte die Betrachtung von drei konkreten Themenschwerpunkten: Oxytocin, soziales Gedächtnis und die Bewältigung aversiver sozialer Erfahrungen als Modulatoren sozialer Verhaltensweisen. Der entwickelte methodische Ansatz ermöglichte eine flexible Anwendung auf diverse Paradigmen und Merkmale. Die Durchführung am Mausmodell bietet eine zuverlässige Grundlage für neurophysiologische Manipulationen wie die optogenetische Induktion der Oxytocinfreisetzung. Die erhobenen Befunde verdeutlichen Wirkmechanismen von Oxytocin, die Bedeutung sozialer Interaktionen für die Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses, sowie die prädiktive Bedeutung unmittelbarer Verhaltensreaktionen auf aversive soziale Erfahrungen. Diese Erkenntnisse bieten relevante Implikationen für das Verständnis und die Therapie psychiatrischer Krankheitsbilder mit sozialen Defiziten wie Störungen des Autismus-Spektrums oder soziale Angststörungen.

Die vorliegende Arbeit schafft eine vielversprechende Grundlage für zukünftige Studien, sowohl durch die Bereitstellung eines effizienten methodischen Ansatzes, als auch durch die umfassende Untersuchung komplexer sozialer Verhaltensmuster und deren multifaktorielle Modulation.

6 Zusammenfassung

Soziale Verhaltensweisen als zentrales Element des gesellschaftlichen Zusammenlebens sind von zunehmender Bedeutung im verhaltensbiologischen, sowie neuropsychiatrischen Kontext. Hochauflösende Analysen stellten die Forschung bislang vor methodische Herausforderungen, konnten jedoch durch jüngste technische Entwicklungen zunehmend verbessert werden. Die somit verfügbaren Untersuchungen subtiler Veränderungen komplexer Verhaltensweisen eröffnen neue Möglichkeiten und Erkenntnisgewinne insbesondere in Bezug auf modulierende Einflussgrößen sozialer Verhaltensweisen.

Diese Arbeit widmet sich der hochauflösenden Untersuchung dreier relevanter Modulatoren sozialer Verhaltensweisen: die Freisetzung von Oxytocin, die Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses und die Bewältigung sozialer Niederlagen.

Dabei wurden Videoaufzeichnungen der beiden experimentellen Paradigmen Social Interaction und „Social Defeat“ betrachtet. Die Kombination der leistungsfähigen Anwendungen Deeplabcut und SimBA ermöglichte die Entwicklung eines innovativen methodischen Ansatzes zur Durchführung hochauflösender maschineller Verhaltensanalysen.

Auswertungen des ersten Abschnitts zeigten einen signifikanten Einfluss von Oxytocin durch die Verringerung des Annäherungsverhalten von Mäusen und wahrscheinlichere Verhaltensübergänge von Annäherungen hin zur Exploration von Artgenossen. Eine derartige Verschiebung von Quantität hin zur Qualität sozialer Explorationen könnte die Folge einer gezielten Modulation der olfaktorischen Reizverarbeitung über den anterioren olfaktorischen Nucleus (AON) sein. Dies unterstützt die Erkenntnisse bisheriger Forschungsprojekte und ergänzt sie durch die differenziertere Betrachtung spezifischer Parameter wie Annäherungshäufigkeit, Übergangswahrscheinlichkeiten und komplexer Verhaltenssequenzen.

Im zweiten Abschnitt wurde die Ausbildung eines sozialen Gedächtnisses in Zusammenhang mit der Ausprägung explorativer Verhaltensweisen untersucht. Dazu erfolgte die zusätzliche Betrachtung neuronaler Korrelate durch elektrophysiologische Messungen innerhalb des AON. Hochauflösende Verhaltensanalysen ermöglichten hierbei die Differenzierung zwischen der Häufigkeit und Gesamtdauer sozialer

Interaktionen. Hierbei zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen der Häufigkeit sozialer Interaktionen und der Wiedererkennung bekannter Artgenossen.

Der dritte Abschnitt der Arbeit untersuchte, ob Verhaltensreaktionen bei sozialen Aggressionsereignissen („Social Defeat“) im Zusammenhang mit langfristigen Veränderungen der sozialen Rangordnung stehen. Dabei zeigte sich die prädiktive Bedeutung von Distanzanalysen, Fluchtverhalten und Ortspräferenzen. Reaktive Verhaltensanpassungen im Rahmen sozial aversiver Situationen könnten als Indikatoren der individuellen Resilienz fungieren.

Zusammenfassend bietet diese Arbeit durch die Anwendung verfeinerter Analysemethoden tiefere Einblicke in die Ausprägung und Entwicklung sozialer Verhaltensweisen, sowie die Beurteilung ausgewählter neurobiologischer Modulatoren. Die dabei gewonnenen Ergebnisse ergänzen bisherige Forschungsprojekte der Verhaltensbiologie und Neurowissenschaften und bieten vielversprechende Ansätze zur künftigen Erforschung psychiatrischer Erkrankungen. Eine Weiterentwicklung zugrundeliegender Methoden könnte künftig weitere Erkenntnisse über die Mechanismen sozialer Defizite liefern und entscheidenden Einfluss auf die Entwicklung innovativer therapeutischer Ansätze nehmen.

7 Literaturverzeichnis

1. Dakin, Roslyn, und T. Brandt Ryder. „Reciprocity and Behavioral Heterogeneity Govern the Stability of Social Networks“. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117, Nr. 6 (11. Februar 2020): 2993–99. <https://doi.org/10.1073/pnas.1913284117>.
2. Kondrakiewicz, Kacper, Mateusz Kostecki, Weronika Szadzińska, und Ewelina Knapska. „Ecological Validity of Social Interaction Tests in Rats and Mice“. *Genes, Brain and Behavior* 18, Nr. 1 (Januar 2019): e12525. <https://doi.org/10.1111/gbb.12525>.
3. Gandhi, Tanya, und Charles C. Lee. „Neural Mechanisms Underlying Repetitive Behaviors in Rodent Models of Autism Spectrum Disorders“. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 14 (14. Januar 2021): 592710. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.592710>.
4. Kappeler, Peter M., Tim Clutton-Brock, Susanne Shultz, und Dieter Lukas. „Social Complexity: Patterns, Processes, and Evolution“. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 73, Nr. 1 (Januar 2019): 5, s00265-018-2613–14. <https://doi.org/10.1007/s00265-018-2613-4>.
5. Goodwin, Nastacia L., Simon R.O. Nilsson, und Sam A. Golden. „Rage Against the Machine: Advancing the Study of Aggression Ethology via Machine Learning.“ *Psychopharmacology* 237, Nr. 9 (September 2020): 2569–88. <https://doi.org/10.1007/s00213-020-05577-x>.
6. Nagy, Máté, Jacob D. Davidson, Gábor Vásárhelyi, Dániel Ábel, Enikő Kubinyi, Ahmed El Hady, und Tamás Vicsek. „Long-Term Tracking of Social Structure in Groups of Rats“. *Scientific Reports* 14, Nr. 1 (1. Oktober 2024): 22857. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-72437-5>.
7. Lee, Won, Jiayi Fu, Neal Bouwman, Pam Farago, und James P. Curley. „Temporal Microstructure of Dyadic Social Behavior during Relationship Formation in Mice“. *Animal Behavior and Cognition*, 22. Juli 2019. <https://doi.org/10.1101/711036>.
8. Kwok, Roberta. „Deep Learning Powers a Motion-Tracking Revolution“. *Nature* 574, Nr. 7776 (3. Oktober 2019): 137–38. <https://doi.org/10.1038/d41586-019-02942-5>.
9. Nath, Tanmay, Alexander Mathis, An Chi Chen, Amir Patel, Matthias Bethge, und Mackenzie Weygandt Mathis. „Using DeepLabCut for 3D Markerless Pose Estimation across Species and Behaviors“. *Nature Protocols* 14, Nr. 7 (Juli 2019): 2152–76. <https://doi.org/10.1038/s41596-019-0176-0>.
10. Marks, Markus, Qiuhan Jin, Oliver Sturman, Lukas Von Ziegler, Sepp Kollmorgen, Wolfger Von Der Behrens, Valerio Mante, Johannes Bohacek, und Mehmet Fatih Yanik. „Deep-Learning-Based Identification, Tracking, Pose Estimation and Behaviour Classification of Interacting Primates and Mice in Complex Environments“. *Nature Machine Intelligence* 4, Nr. 4 (21. April 2022): 331–40. <https://doi.org/10.1038/s42256-022-00477-5>.
11. De Jong, Trynke R., und Inga D. Neumann. „Oxytocin and Aggression“. In *Behavioral Pharmacology of Neuropeptides: Oxytocin*, herausgegeben von Rene Hurlmann und Valery Grinevich, 35:175–92.

- Current Topics in Behavioral Neurosciences. Cham: Springer International Publishing, 2017. https://doi.org/10.1007/7854_2017_13.
12. Kingsbury, Lyle, Shan Huang, Jun Wang, Ken Gu, Peyman Golshani, Ye Emily Wu, und Weizhe Hong. „Correlated Neural Activity and Encoding of Behavior across Brains of Socially Interacting Animals“. *Cell* 178, Nr. 2 (Juli 2019): 429-446.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.05.022>.
13. Crestani, Ariela M., Ana C. Cipriano, und Ricardo L. Nunes-de-Souza. „Single Aggressive and Non-Aggressive Social Interactions Elicit Distinct Behavioral Patterns to the Context in Mice“. *Behavioural Processes* 157 (Dezember 2018): 601–9. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2018.04.010>.
14. Isik, Sena, und Gunes Unal. „Open-source software for automated rodent behavioral analysis“. *Frontiers in Neuroscience* 17 (17. April 2023): 1149027. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1149027>.
15. Song, Hyunjin, Petro Tolochko, Jakob-Moritz Eberl, Olga Eisele, Esther Greussing, Tobias Heidenreich, Fabienne Lind, Sebastian Galyga, und Hajo G. Boomgaarden. „In Validations We Trust? The Impact of Imperfect Human Annotations as a Gold Standard on the Quality of Validation of Automated Content Analysis“. *Political Communication* 37, Nr. 4 (3. Juli 2020): 550–72. <https://doi.org/10.1080/10584609.2020.1723752>.
16. Gerós, Ana, Ana Magalhães, und Paulo Aguiar. „Improved 3D Tracking and Automated Classification of Rodents’ Behavioral Activity Using Depth-Sensing Cameras“. *Behavior Research Methods* 52, Nr. 5 (Oktober 2020): 2156–67. <https://doi.org/10.3758/s13428-020-01381-9>.
17. Lorbach, Malte, Ronald Poppe, und Remco C. Veltkamp. „Interactive Rodent Behavior Annotation in Video Using Active Learning“. *Multimedia Tools and Applications* 78, Nr. 14 (Juli 2019): 19787–806. <https://doi.org/10.1007/s11042-019-7169-4>.
18. Jabarin, Renad, Shai Netser, und Shlomo Wagner. „Beyond the Three-Chamber Test: Toward a Multimodal and Objective Assessment of Social Behavior in Rodents“. *Molecular Autism* 13, Nr. 1 (25. Oktober 2022): 41. <https://doi.org/10.1186/s13229-022-00521-6>.
19. Klein, Christian J. M. I., Thomas Budiman, Judith R. Homberg, Dilip Verma, Jaap Keijer, und Evert M. Van Schothorst. „Measuring Locomotor Activity and Behavioral Aspects of Rodents Living in the Home-Cage“. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 16 (7. April 2022): 877323. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2022.877323>.
20. Gaspar, Nora, Ronny Eichler, und Eran Stark. „A Novel Low-Noise Movement Tracking System with Real-Time Analog Output for Closed-Loop Experiments“. *Journal of Neuroscience Methods* 318 (April 2019): 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2018.12.016>.

21. Chen, Zexin, Ruihan Zhang, Hao-Shu Fang, Yu E. Zhang, Aneesh Bal, Haowen Zhou, Rachel R. Rock, u. a. „AlphaTracker: a multi-animal tracking and behavioral analysis tool“. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 17 (30. Mai 2023): 1111908. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2023.1111908>.
22. Goodwin, Nastacia L., Simon R.O. Nilsson, Jia Jie Choong, und Sam A. Golden. „Toward the Explainability, Transparency, and Universality of Machine Learning for Behavioral Classification in Neuroscience“. *Current Opinion in Neurobiology* 73 (April 2022): 102544. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2022.102544>.
23. Von Ziegler, Lukas, Oliver Sturman, und Johannes Bohacek. „Big Behavior: Challenges and Opportunities in a New Era of Deep Behavior Profiling“. *Neuropsychopharmacology* 46, Nr. 1 (Januar 2021): 33–44. <https://doi.org/10.1038/s41386-020-0751-7>.
24. Pereira, Talmo D., Nathaniel Tabris, Junyu Li, Shruthi Ravindranath, Eleni S. Papadoyannis, Z. Yan Wang, David M. Turner, u. a. „SLEAP: Multi-Animal Pose Tracking“. *Animal Behavior and Cognition*, 2. September 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.08.31.276246>.
25. Mathis, Alexander, Pranav Mamidanna, Kevin M. Cury, Taiga Abe, Venkatesh N. Murthy, Mackenzie Weygandt Mathis, und Matthias Bethge. „DeepLabCut: Markerless Pose Estimation of User-Defined Body Parts with Deep Learning“. *Nature Neuroscience* 21, Nr. 9 (September 2018): 1281–89. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0209-y>.
26. Nilsson, Simon Ro, Nastacia L. Goodwin, Jia Jie Choong, Sophia Hwang, Hayden R Wright, Zane C Norville, Xiaoyu Tong, u. a. „Simple Behavioral Analysis (SimBA) – an Open Source Toolkit for Computer Classification of Complex Social Behaviors in Experimental Animals“. *Animal Behavior and Cognition*, 20. April 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.04.19.049452>.
27. Zhang, Libby, Timothy Dunn, Jesse Marshall, Bence Olveczky, und Scott Linderman. „Animal Pose Estimation from Video Data with a Hierarchical von Mises-Fisher-Gaussian Model“, o. J.
28. Bordes, Joeri, Lucas Miranda, Maya Reinhardt, Sowmya Narayan, Jakob Hartmann, Emily L. Newman, Lea Maria Brix, u. a. „Automatically Annotated Motion Tracking Identifies a Distinct Social Behavioral Profile Following Chronic Social Defeat Stress“. *Nature Communications* 14, Nr. 1 (18. Juli 2023): 4319. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-40040-3>.
29. Sturman, Oliver, Lukas Von Ziegler, Christa Schläppi, Furkan Akyol, Benjamin Grewe, und Johannes Bohacek. „Deep Learning Based Behavioral Analysis Enables High Precision Rodent Tracking and Is Capable of Outperforming Commercial Solutions“. *Animal Behavior and Cognition*, 21. Januar 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.01.21.913624>.
30. Froemke, Robert C., und Larry J. Young. „Oxytocin, Neural Plasticity, and Social Behavior“. *Annual Review of Neuroscience* 44, Nr. 1 (8. Juli 2021): 359–81. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-102320-102847>.

31. Grinevich, Valery, und Mike Ludwig. „The Multiple Faces of the Oxytocin and Vasopressin Systems in the Brain“. *Journal of Neuroendocrinology* 33, Nr. 11 (November 2021): e13004. <https://doi.org/10.1111/jne.13004>.
32. Liao, Po-Yu, Yan-Min Chiu, Jo-Hsien Yu, und Shih-Kuo Chen. „Mapping Central Projection of Oxytocin Neurons in Unmated Mice Using Cre and Alkaline Phosphatase Reporter“. *Frontiers in Neuroanatomy* 14 (19. Oktober 2020): 559402. <https://doi.org/10.3389/fnana.2020.559402>.
33. Liu, Xiao-Yu, Shuo Ling, Yang Liu, Shuwei Jia, Xiaoran Wang, Tong Li, Dongyang Li, u. a. „Dual Oxytocin Receptor-G Protein Signaling in the Autoregulation of Activities of Oxytocin Neurons“. *Neuroendocrinology* 114, Nr. 2 (2024): 134–57. <https://doi.org/10.1159/000534490>.
34. Powell, Jeanne M., Kiyoshi Inoue, Kelly J. Wallace, Ashley W. Seifert, Larry J. Young, und Aubrey M. Kelly. „Distribution of Vasopressin 1a and Oxytocin Receptor Protein and mRNA in the Basal Forebrain and Midbrain of the Spiny Mouse (*Acomys Cahirinus*)“. *Brain Structure and Function* 228, Nr. 2 (21. Oktober 2022): 413–31. <https://doi.org/10.1007/s00429-022-02581-z>.
35. Horie, Kengo, Kiyoshi Inoue, Katsuhiko Nishimori, und Larry J. Young. „Investigation of Oxt-Expressing Neurons Projecting to Nucleus Accumbens Using Oxt-Ires-Cre Knock-in Prairie Voles (*Microtus Ochrogaster*)“. *Neuroscience* 448 (November 2020): 312–24. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.08.023>.
36. Yamagishi, Atsuhito, Maya Okada, Masatoshi Masuda, und Nobuya Sato. „Oxytocin Administration Modulates Rats’ Helping Behavior Depending on Social Context“. *Neuroscience Research* 153 (April 2020): 56–61. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2019.04.001>.
37. Zhang, Xiaofan, Qi Li, Min Zhang, Sylvia Lam, Pak Chung Sham, Bitao Bu, Siew Eng Chua, Wei Wang, und Grainne Mary McAlonan. „The Effect of Oxytocin on Social and Non-Social Behaviour and Striatal Protein Expression in C57BL/6N Mice“. Herausgegeben von Barbara Bardoni. *PLOS ONE* 10, Nr. 12 (30. Dezember 2015): e0145638. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145638>.
38. Lindenmaier, Zsuzsa, Jacob Ellegood, Monique Stuive, Kaitlyn Easson, Yohan Yee, Darren Fernandes, Jane Foster, Evdokia Anagnostou, und Jason P. Lerch. „Examining the Effect of Chronic Intranasal Oxytocin Administration on the Neuroanatomy and Behavior of Three Autism-Related Mouse Models“. *NeuroImage* 257 (August 2022): 119243. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2022.119243>.
39. Harrison, Nicola, Patricia C. Lopes, und Barbara König. „Oxytocin and Social Preference in Female House Mice (*Mus Musculus Domesticus*)“. Herausgegeben von L. Fusani. *Ethology* 122, Nr. 7 (Juli 2016): 571–81. <https://doi.org/10.1111/eth.12505>.
40. Pobbe, Roger L.H., Brandon L. Pearson, Erwin B. Defensor, Valerie J. Bolivar, W. Scott Young, Heon-Jin Lee, D. Caroline Blanchard, und Robert J. Blanchard. „Oxytocin Receptor Knockout Mice Display

- Deficits in the Expression of Autism-Related Behaviors“. *Hormones and Behavior* 61, Nr. 3 (März 2012): 436–44. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2011.10.010>.
41. Crawley, Jacqueline N., Thomas Chen, Amit Puri, Richard Washburn, Timothy L. Sullivan, Joanna M. Hill, Nancy B. Young, u. a. „Social Approach Behaviors in Oxytocin Knockout Mice: Comparison of Two Independent Lines Tested in Different Laboratory Environments“. *Neuropeptides* 41, Nr. 3 (Juni 2007): 145–63. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2007.02.002>.
42. Oettl, Lars-Lennart, Namasivayam Ravi, Miriam Schneider, Max F. Scheller, Peggy Schneider, Mariela Mitre, Miriam da Silva Gouveia, u. a. „Oxytocin Enhances Social Recognition by Modulating Cortical Control of Early Olfactory Processing“. *Neuron* 90, Nr. 3 (Mai 2016): 609–21. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.03.033>.
43. Jacobs, Stephanie, Fengying Huang, Joe Tsien, und Wei Wei. „Social Recognition Memory Test in Rodents“. *BIO-PROTOCOL* 6, Nr. 9 (2016). <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.1804>.
44. Linster, Christiane, und Wolfgang Kelsch. „A Computational Model of Oxytocin Modulation of Olfactory Recognition Memory“. *Eneuro* 6, Nr. 4 (Juli 2019): ENEURO.0201-19.2019. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0201-19.2019>.
45. Arakawa, Hiroyuki. „Dynamic Regulation of Oxytocin Neuronal Circuits in the Sequential Processes of Prosocial Behavior in Rodent Models“. *Current Research in Neurobiology* 2 (2021): 100011. <https://doi.org/10.1016/j.crneur.2021.100011>.
46. Oettl, Lars-Lennart, und Wolfgang Kelsch. „Oxytocin and Olfaction“. In *Behavioral Pharmacology of Neuropeptides: Oxytocin*, herausgegeben von Rene Hurlmann und Valery Grinevich, 35:55–75. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*. Cham: Springer International Publishing, 2017. https://doi.org/10.1007/7854_2017_8.
47. Shansky, Rebecca M. „Behavioral Neuroscience’s Inevitable SABV Growing Pains“. *Trends in Neurosciences* 47, Nr. 9 (September 2024): 669–76. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2024.06.007>.
48. Kohli, Shivali, Madeleine V. King, Stuart Williams, Adele Edwards, Theresa M. Ballard, Lucinda J. Steward, Daniella Alberati, und Kevin C. F. Fone. „Oxytocin Attenuates Phencyclidine Hyperactivity and Increases Social Interaction and Nucleus Accumbens Dopamine Release in Rats“. *Neuropsychopharmacology* 44, Nr. 2 (Januar 2019): 295–305. <https://doi.org/10.1038/s41386-018-0171-0>.
49. Piva, Matthew, und Steve W.C. Chang. „An Integrated Framework for the Role of Oxytocin in Multistage Social Decision-making“. *American Journal of Primatology* 80, Nr. 10 (Oktober 2018): e22735. <https://doi.org/10.1002/ajp.22735>.

50. Tillman, Rachael, Ilanit Gordon, Adam Naples, Max Rolison, James F. Leckman, Ruth Feldman, Kevin A. Pelphey, und James C. McPartland. „Oxytocin Enhances the Neural Efficiency of Social Perception“. *Frontiers in Human Neuroscience* 13 (11. März 2019): 71. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2019.00071>.
51. Paletta, Pietro, Noah Bass, Martin Kavaliers, und Elena Choleris. „The Role of Oxytocin in Shaping Complex Social Behaviours: Possible Interactions with Other Neuromodulators“. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 377, Nr. 1858 (29. August 2022): 20210058. <https://doi.org/10.1098/rstb.2021.0058>.
52. Henry, Jason, und Donald Wlodkovic. „High-Throughput Animal Tracking in Chemobehavioral Phenotyping: Current Limitations and Future Perspectives“. *Behavioural Processes* 180 (November 2020): 104226. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2020.104226>.
53. Brennan, Peter A, und Keith M Kendrick. „Mammalian Social Odours: Attraction and Individual Recognition“. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 361, Nr. 1476 (29. Dezember 2006): 2061–78. <https://doi.org/10.1098/rstb.2006.1931>.
54. Camats Perna, Judith, und Mario Engelmann. „Recognizing Others: Rodent’s Social Memories“. In *Social Behavior from Rodents to Humans*, herausgegeben von Markus Wöhr und Sören Krach, 30:25–45. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*. Cham: Springer International Publishing, 2015. https://doi.org/10.1007/7854_2015_413.
55. Macbeth, Abbe H, Jennifer Stepp Edds, und W Scott Young. „Housing Conditions and Stimulus Females: A Robust Social Discrimination Task for Studying Male Rodent Social Recognition“. *Nature Protocols* 4, Nr. 11 (November 2009): 1574–81. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.141>.
56. Tanimizu, Toshiyuki, Justin W. Kenney, Emiko Okano, Kazune Kadoma, Paul W. Frankland, und Satoshi Kida. „Functional Connectivity of Multiple Brain Regions Required for the Consolidation of Social Recognition Memory“. *The Journal of Neuroscience* 37, Nr. 15 (12. April 2017): 4103–16. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3451-16.2017>.
57. Okuyama, Teruhiro. „Social Memory Engram in the Hippocampus“. *Neuroscience Research* 129 (April 2018): 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2017.05.007>.
58. Lukas, Michael, Iulia Toth, Alexa H. Veenema, und Inga D. Neumann. „Oxytocin Mediates Rodent Social Memory within the Lateral Septum and the Medial Amygdala Depending on the Relevance of the Social Stimulus: Male Juvenile versus Female Adult Conspecifics“. *Psychoneuroendocrinology* 38, Nr. 6 (Juni 2013): 916–26. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2012.09.018>.
59. Aqrabawi, Afif J., und Jun Chul Kim. „Olfactory Memory Representations Are Stored in the Anterior Olfactory Nucleus“. *Nature Communications* 11, Nr. 1 (6. März 2020): 1246. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15032-2>.

60. Wacker, Douglas W., Mario Engelmann, Vicky A. Tobin, Simone L. Meddle, und Mike Ludwig. „Vasopressin and Social Odor Processing in the Olfactory Bulb and Anterior Olfactory Nucleus“. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1220, Nr. 1 (März 2011): 106–16. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05885.x>.
61. Sullivan, Regina M., Donald A. Wilson, Nadine Ravel, und Anne-Marie Mouly. „Olfactory memory networks: from emotional learning to social behaviors“. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 9 (17. Februar 2015). <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00036>.
62. Chiang, Ming-Ching, Arthur J.Y. Huang, Marie E. Wintzer, Toshio Ohshima, und Thomas J. McHugh. „A Role for CA3 in Social Recognition Memory“. *Behavioural Brain Research* 354 (November 2018): 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.01.019>.
63. Manduca, Antonia, Michela Servadio, Ruth Damsteegt, Patrizia Campolongo, Louk Jmj Vanderschuren, und Viviana Trezza. „Dopaminergic Neurotransmission in the Nucleus Accumbens Modulates Social Play Behavior in Rats“. *Neuropsychopharmacology* 41, Nr. 9 (August 2016): 2215–23. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.22>.
64. Lukas, Michael, und Inga D. Neumann. „Oxytocin and Vasopressin in Rodent Behaviors Related to Social Dysfunctions in Autism Spectrum Disorders“. *Behavioural Brain Research* 251 (August 2013): 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.08.011>.
65. Cum, Meghan, Jocelyn A. Santiago Pérez, Erika Wangia, Naeliz Lopez, Elizabeth S. Wright, Ryo L. Iwata, Albert Li, Amelia R. Chambers, und Nancy Padilla-Coreano. „A Systematic Review and Meta-Analysis of How Social Memory Is Studied“. *Scientific Reports* 14, Nr. 1 (26. Januar 2024): 2221. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-52277-z>.
66. Kogan, Jeffrey H., Paul W. Frankland, und Alcino J. Silva. „Long-Term Memory Underlying Hippocampus-Dependent Social Recognition in Mice“. *Hippocampus* 10, Nr. 1 (2000): 47–56. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(2000\)10:1<47::AID-HIPO5>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(2000)10:1<47::AID-HIPO5>3.0.CO;2-6).
67. Kim, Christina K, Samuel J Yang, Nandini Pichamoorthy, Noah P Young, Isaac Kauvar, Joshua H Jennings, Talia N Lerner, u. a. „Simultaneous Fast Measurement of Circuit Dynamics at Multiple Sites across the Mammalian Brain“. *Nature Methods* 13, Nr. 4 (April 2016): 325–28. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3770>.
68. Eichenbaum, Howard, und Norbert J. Fortin. „BRIDGING THE GAP BETWEEN BRAIN AND BEHAVIOR: COGNITIVE AND NEURAL MECHANISMS OF EPISODIC MEMORY“. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 84, Nr. 3 (November 2005): 619–29. <https://doi.org/10.1901/jeab.2005.80-04>.

69. Arakawa, Hiroyuki, und Yoshio Iguchi. „Ethological and Multi-Behavioral Analysis of Learning and Memory Performance in Laboratory Rodent Models“. *Neuroscience Research* 135 (Oktober 2018): 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2018.02.001>.
70. Lazic, Stanley E. „Relating Hippocampal Neurogenesis to Behavior: The Dangers of Ignoring Confounding Variables“. *Neurobiology of Aging* 31, Nr. 12 (Dezember 2010): 2169–71. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.04.037>.
71. Harris, Alexander Z, Piray Atsak, Zachary H Bretton, Emma S Holt, Raisa Alam, Mitchell P Morton, Atheir I Abbas, u. a. „A Novel Method for Chronic Social Defeat Stress in Female Mice“. *Neuropsychopharmacology* 43, Nr. 6 (Mai 2018): 1276–83. <https://doi.org/10.1038/npp.2017.259>.
72. Henriques-Alves, Aron M., und Claudio M. Queiroz. „Ethological Evaluation of the Effects of Social Defeat Stress in Mice: Beyond the Social Interaction Ratio“. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 9 (3. Februar 2016). <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00364>.
73. Golden, Sam A, Herbert E Covington, Olivier Berton, und Scott J Russo. „A Standardized Protocol for Repeated Social Defeat Stress in Mice“. *Nature Protocols* 6, Nr. 8 (August 2011): 1183–91. <https://doi.org/10.1038/nprot.2011.361>.
74. Lu, Jian, Xue Gong, Xiao Yao, Yu Guang, Hongjiang Yang, Runan Ji, Yong He, u. a. „Prolonged Chronic Social Defeat Stress Promotes Less Resilience and Higher Uniformity in Depression-like Behaviors in Adult Male Mice“. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 553 (Mai 2021): 107–13. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.03.058>.
75. Solomon, Matia B. „Evaluating Social Defeat as a Model for Psychopathology in Adult Female Rodents“. *Journal of Neuroscience Research* 95, Nr. 1–2 (2. Januar 2017): 763–76. <https://doi.org/10.1002/jnr.23971>.
76. Macedo, Giovana Camila, Gleice Midori Morita, Liz Paola Domingues, Cristiane Aparecida Favoretto, Deborah Suchecki, und Isabel Marian Hartmann Quadros. „Consequences of Continuous Social Defeat Stress on Anxiety- and Depressive-like Behaviors and Ethanol Reward in Mice“. *Hormones and Behavior* 97 (Januar 2018): 154–61. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2017.10.007>.
77. Watt, Michael J., Andrew R. Burke, Kenneth J. Renner, und Gina L. Forster. „Adolescent Male Rats Exposed to Social Defeat Exhibit Altered Anxiety Behavior and Limbic Monoamines as Adults.“ *Behavioral Neuroscience* 123, Nr. 3 (2009): 564–76. <https://doi.org/10.1037/a0015752>.
78. Razzoli, Maria, Lucia Carboni, und Roberto Arban. „Alterations of Behavioral and Endocrinological Reactivity Induced by 3 Brief Social Defeats in Rats: Relevance to Human Psychopathology“. *Psychoneuroendocrinology* 34, Nr. 9 (Oktober 2009): 1405–16. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2009.04.018>.

79. Basil, A.H., M. Gross, R. Rajkumar, M. Kirby, A. Pinhasov, und G.S. Dawe. „Social Defeat-Induced Cingulate Gyrus Immediate-Early Gene Expression and Anxiolytic-like Effect Depend upon Social Rank“. *Brain Research Bulletin* 143 (Oktober 2018): 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.10.005>.
80. Šabanović, Merima, He Liu, Vongai Mlambo, Hala Aqel, und Dipesh Chaudhury. „What It Takes to Be at the Top: The Interrelationship between Chronic Social Stress and Social Dominance“. *Brain and Behavior* 10, Nr. 12 (Dezember 2020): e01896. <https://doi.org/10.1002/brb3.1896>.
81. Keeney, A., D. S. Jessop, M. S. Harbuz, C. A. Marsden, S. Hogg, und R. E. Blackburn-Munro. „Differential Effects of Acute and Chronic Social Defeat Stress on Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Function and Hippocampal Serotonin Release in Mice“. *Journal of Neuroendocrinology* 18, Nr. 5 (Mai 2006): 330–38. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2006.01422.x>.
82. Burke, A.R., M.J. Watt, und G.L. Forster. „Adolescent Social Defeat Increases Adult Amphetamine Conditioned Place Preference and Alters D2 Dopamine Receptor Expression“. *Neuroscience* 197 (Dezember 2011): 269–79. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.09.008>.
83. Nasanbuyan, Naranbat, Masahide Yoshida, Yuki Takayanagi, Ayumu Inutsuka, Katsuhiko Nishimori, Akihiro Yamanaka, und Tatsushi Onaka. „Oxytocin–Oxytocin Receptor Systems Facilitate Social Defeat Posture in Male Mice“. *Endocrinology* 159, Nr. 2 (1. Februar 2018): 763–75. <https://doi.org/10.1210/en.2017-00606>.
84. Lehmann, Michael L., Thaddeus K. Weigel, Abdel G. Elkahloun, und Miles Herkenham. „Chronic Social Defeat Reduces Myelination in the Mouse Medial Prefrontal Cortex“. *Scientific Reports* 7, Nr. 1 (18. April 2017): 46548. <https://doi.org/10.1038/srep46548>.
85. Jin, H.-M., S. Shrestha Muna, T.R. Bagalkot, Y. Cui, B.K. Yadav, und Y.-C. Chung. „The Effects of Social Defeat on Behavior and Dopaminergic Markers in Mice“. *Neuroscience* 288 (März 2015): 167–77. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.12.043>.
86. Fox, Megan E., Antonio Figueiredo, Miriam S. Menken, und Mary Kay Lobo. „Dendritic Spine Density Is Increased on Nucleus Accumbens D2 Neurons after Chronic Social Defeat“. *Scientific Reports* 10, Nr. 1 (24. Juli 2020): 12393. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69339-7>.
87. Murra, Dalia, Kathryn L. Hilde, Anne Fitzpatrick, Pamela M. Maras, Stanley J. Watson, und Huda Akil. „Characterizing the Behavioral and Neuroendocrine Features of Susceptibility and Resilience to Social Stress“. *Neurobiology of Stress* 17 (März 2022): 100437. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2022.100437>.
88. Wood, Susan K., Hayley E. Walker, Rita J. Valentino, und Seema Bhatnagar. „Individual Differences in Reactivity to Social Stress Predict Susceptibility and Resilience to a Depressive Phenotype: Role of Corticotropin-Releasing Factor“. *Endocrinology* 151, Nr. 4 (April 2010): 1795–1805. <https://doi.org/10.1210/en.2009-1026>.

89. Walker, F.R., L.M. Masters, R.A. Dielenberg, und T.A. Day. „Coping with Defeat: Acute Glucocorticoid and Forebrain Responses to Social Defeat Vary with Defeat Episode Behaviour“. *Neuroscience* 162, Nr. 2 (August 2009): 244–53. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.04.041>.
90. Calpe-López, Claudia, María Pilar García-Pardo, María Angeles Martínez-Caballero, Alejandra Santos-Ortíz, und María Asunción Aguilar. „Behavioral Traits Associated With Resilience to the Effects of Repeated Social Defeat on Cocaine-Induced Conditioned Place Preference in Mice“. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 13 (9. Januar 2020): 278. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00278>.
91. Wendelmuth, M., M. Willam, H. Todorov, K. Radyushkin, S. Gerber, und S. Schweiger. „Dynamic Longitudinal Behavior in Animals Exposed to Chronic Social Defeat Stress“. Herausgegeben von Alexandra Kavushansky. *PLOS ONE* 15, Nr. 7 (23. Juli 2020): e0235268. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235268>.
92. Alves-dos-Santos, Leonardo, Leticia De Souza Resende, und Silvana Chiavegatto. „Susceptibility and Resilience to Chronic Social Defeat Stress in Adolescent Male Mice: No Correlation between Social Avoidance and Sucrose Preference“. *Neurobiology of Stress* 12 (Mai 2020): 100221. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2020.100221>.
93. Wolf, David, Renée Hartig, Yi Zhuo, Max F. Scheller, Mirko Articus, Marcel Moor, Valery Grinevich, u. a. „Oxytocin Induces the Formation of Distinctive Cortical Representations and Cognitions Biased toward Familiar Mice“. *Nature Communications* 15, Nr. 1 (25. Juli 2024): 6274. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-50113-6>.
94. Oetl, Lars-Lennart, Max Scheller, Carla Filosa, Sebastian Wieland, Franziska Haag, Cathrin Loeb, Daniel Durstewitz, Roman Shusterman, Eleonora Russo, und Wolfgang Kelsch. „Phasic Dopamine Reinforces Distinct Striatal Stimulus Encoding in the Olfactory Tubercle Driving Dopaminergic Reward Prediction“. *Nature Communications* 11, Nr. 1 (10. Juli 2020): 3460. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17257-7>.
95. Wu, Zhaofei, Yuanzhong Xu, Yaming Zhu, Amy K. Sutton, Rongjie Zhao, Bradford B. Lowell, David P. Olson, und Qingchun Tong. „An Obligate Role of Oxytocin Neurons in Diet Induced Energy Expenditure“. *PLOS ONE* 7, Nr. 9 (18. September 2012): e45167. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045167>.
96. Lee, Heon-Jin, Heather K. Caldwell, Abbe H. Macbeth, Selen G. Tolu, und W. Scott Young 3rd. „A Conditional Knockout Mouse Line of the Oxytocin Receptor“. *Endocrinology* 149, Nr. 7 (1. Juli 2008): 3256–63. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1710>.
97. Monory, Krisztina, Federico Massa, Michaela Egertová, Matthias Eder, Heike Blaudzun, Ruth Westenbroek, Wolfgang Kelsch, u. a. „The Endocannabinoid System Controls Key Epileptogenic

- Circuits in the Hippocampus“. *Neuron* 51, Nr. 4 (17. August 2006): 455–66. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.07.006>.
98. Ben-Barak, Y., J. T. Russell, M. H. Whitnall, K. Ozato, und H. Gainer. „Neurophysin in the Hypothalamo-Neurohypophysial System. I. Production and Characterization of Monoclonal Antibodies“. *Journal of Neuroscience* 5, Nr. 1 (1. Januar 1985): 81–97. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.05-01-00081.1985>.
99. Shusterman, Roman, Matthew C. Smear, Alexei A. Koulakov, und Dmitry Rinberg. „Precise Olfactory Responses Tile the Sniff Cycle“. *Nature Neuroscience* 14, Nr. 8 (August 2011): 1039–44. <https://doi.org/10.1038/nn.2877>.
100. Friard, Olivier, und Marco Gamba. „BORIS: A Free, Versatile Open-Source Event-Logging Software for Video/Audio Coding and Live Observations“. *Methods in Ecology and Evolution* 7, Nr. 11 (2016): 1325–30. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12584>.
101. Steinmetz, Nicholas A., Cagatay Aydin, Anna Lebedeva, Michael Okun, Marius Pachitariu, Marius Bauza, Maxime Beau, u. a. „Neuropixels 2.0: A Miniaturized High-Density Probe for Stable, Long-Term Brain Recordings“. *Science* 372, Nr. 6539 (16. April 2021): eabf4588. <https://doi.org/10.1126/science.abf4588>.

8 Anhang

8.1 Vorveröffentlichungen

8.1.1 Teilpublikationen

Wolf, David, Renée Hartig, Yi Zhuo, Max F. Scheller, Mirko Articus, Marcel Moor, Valery Grinevich, u. a. „Oxytocin Induces the Formation of Distinctive Cortical Representations and Cognitions Biased toward Familiar Mice“. *Nature Communications* 15, Nr. 1 (25. Juli 2024): 6274. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-50113-6>.

8.1.2 Publikationen in Vorbereitung

Corentin Nelias^{1,2,#}, Sarah Ghanayem^{1,2,#}, David Wolf^{1,2}, Marcel Moor¹, Max F. Scheller¹, Carla Filosa¹, Valery Grinevich², Jonathan R. Reinwald^{1,2,§}, Wolfgang Kelsch^{1,2,§,*} *De novo formations of stable cliques in mouse societies requires cortical cognitions enabled by oxytocin.*

Jonathan R. Reinwald^{1,2,3}, David Wolf^{1,2}, Danai Nikolantonaki^{1,2}, Sarah Ghanayem^{1,2}, Jens Langejürgen⁴, Andreas Meyer-Lindenberg², Wolfgang Weber-Fahr³, Wolfgang Kelsch^{1,2,*} *Social status individualizes brain connectome dynamics to buffer negative hippocampal recalls.*

9 Danksagung

In der elektronischen Form entfernt.

10 Tabellarischer Lebenslauf

In der elektronischen Form entfernt.