

Aus dem Institut für Physiologie der Universität Tübingen

Abteilung Physiologie I

Der Einfluss von Akt2 und Akt3 auf das
Verhalten von Mäusen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Hierlmeier, Michael Heinrich Alfons

2017

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. F. Lang

2. Berichterstatter: Professor Dr. B. Kotchoubey

Tag der Disputation: 05.10.2017

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	VII
Abbildungsverzeichnis	X
Tabellenverzeichnis	XIII
1. Einleitung	1
2. Grundlagen	3
2.1 Akt	3
2.1.1 Entdeckung der Kinase.....	3
2.1.2 Isoformen und chemische Struktur	3
2.1.3 Lokalisation im Körper	4
2.1.4 Signalweg	5
2.1.5 Molekularbiologie.....	7
2.1.5.1 Angiogenese	7
2.1.5.2 Apoptose	7
2.1.5.3 Zellwachstum, -teilung und -erhaltung	7
2.1.5.4 Glukoseaufnahme und -speicherung	11
2.1.5.5 Zahnentwicklung	12
2.1.5.6 Zusammenfassung der zellulären Funktionen von Akt Effektoren	12
2.1.6 Pathologie.....	13
2.1.6.1 Tumorerkrankungen.....	13
2.1.6.2 Diabetes	13
2.1.6.3 Kardiovaskuläre Prozesse	14
2.1.6.4 Neurologische Erkrankungen.....	14
2.2 Psychiatrische Störungen und deren Beeinflussung durch Akt.....	15
2.3 Methoden zur Erforschung von Depression	20
2.3.1 Saccharosekonsumtest	20
2.3.2 Forcierter Schwimmtest	21
2.3.3 Tail suspension test TST	21
2.3.4 Chronic mild stress CSM	23

3. Ziel der Studie.....	24
4. Material und Methoden	25
4.1 Tiere	25
4.2 Haltung der Tiere und Art der Behandlungen.....	26
4.3 Videoaufnahmen und Belichtung	27
4.4 Versuche	27
4.4.1 Test des Offenen Feldes	27
4.4.2 Hell-Dunkel-Kammer	28
4.4.3 Angehobenes Null-Labyrinth	29
4.4.4 Porsolt forcierter Schwimmtest.....	30
4.4.5 Notstandtest.....	31
4.4.6 Test mit neuem Objekt.....	32
4.4.7 Wasserlabyrinth nach Morris	33
4.4.8 Achtarmiger strahlenförmiger Irrgarten.....	35
4.5 Statistische Analyse	36
5. Ergebnisse	37
5.1 Offenes Feld.....	37
5.1.1 Akt2.....	37
5.1.2 Akt3.....	39
5.2 Hell-Dunkel-Kammer	42
5.2.1 Akt2.....	42
5.2.2 Akt3.....	45
5.3 Angehobenes Null-Labyrinth	47
5.3.1 Akt2.....	47
5.3.2 Akt3.....	49
5.4 Forcierter Schwimmtest nach Porsolt.....	51
5.4.1 Akt2.....	51
5.4.2 Akt3.....	52
5.5 Notstandtest	52
5.5.1 Akt2.....	52
5.6 Test mit neuem Objekt	53
5.6.1 Akt2.....	53

5.7	Wasserlabyrinth nach Morris.....	54
5.7.1	Akt2.....	54
5.7.2	Akt3.....	56
5.8	Achtarmiger strahlenförmiger Irrgarten	58
5.8.1	Akt2.....	58
5.8.2	Akt3.....	60
6.	Diskussion	64
6.1	Ergebnisdiskussion	64
6.2	Methodendiskussion.....	69
7.	Zusammenfassung.....	70
	Literaturverzeichnis	71
	Veröffentlichung	83

Abkürzungsverzeichnis

4EBP1	Eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E)-binding protein 1
AS160	Akt substrate of 160 kDA
bcl-2	B-cell lymphoma 2
Bad	Bcl2-antagonist of cell death
BIRC1/2	Baculoviral IAP repeat-containing protein 1/2
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
BMP2	Bone morphogenic protein 2
CDK	Cyclin-dependent kinase
CMS	Chronic mild stress
CREB	cAMP response element-binding protein
CSM	Chronic mild stress
Deptor	Domain-containing mTOR-interacting protein
DFCs	Dental follicle cells
DM	Diabetes mellitus
EGF	Epidermal growth factor
EGFR	Epidermal growth factor receptor
EGR1	Early growth response protein 1
eNOS	Endothelial nitric oxide synthase
EU	European Union
FFA	Free fatty acids
FOXO	Forkhead box protein O
GAP	GTPase-activating protein
GDP/GTP	Guanosindiphosphat/Guanosintriphosphat
GFs	Growth factors
GLUT4	Glucose transport type 4
GSK3	Glykogen synthase kinase 3
IGF1	Insulin like growth factor 1
IKK α	Inhibitor of kappa B kinase- α
IRS-1	Insulin receptor substrate 1
LTP	Long-term potentiation

MAO	Monoamine oxidase
mcl-1	Myeloid cell leukemia 1
mLST8	Mammalian lethal with SEC13 protein 8
mSin1	Stress-activated protein kinase-interacting protein 1
mTOR	Mechanistic target of rapamycin
mTORC2	Mammalian target of rapamycin complex 2
NFAT	Nuclear factor of activated T-cells
NF- κ B	Nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
NO	Nitric oxide
NSPCs	Neural stem/progenitor cells
p27kip1	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1B
PDK1	3-Phosphoinositide-dependent protein kinase 1
PDK2	3-Phosphoinositide-dependent protein kinase 2
PH	Pleckstrin homology
PHLPP	PH domain leucine-rich repeat phosphatase
PIP ₂	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate
PIP ₃	Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate
PI3K	Phosphoinositide-3-kinase
PKB	Protein kinase B
PKC	Protein kinase C
PP2A	Protein phosphatase 2A
PRAS40	Proline-rich Akt/PKB substrate 40 kDa
PTEN	Phosphatase and Tensin homolog
PVC	Polyvinyl chloride
Raptor	Regulatory associated protein of mTOR
Ras	Rat sarcoma
Rab	Ras-related in brain
Rheb	Ras homolog enriched in brain
Rictor	Rapamycin-insensitive companion of mTOR
RSK	Ribosomal S6 kinase
RTKs	Receptor tyrosin kinases

S6K	S6 kinase
Ser473	Serin 473
SGK	Serum and glucocorticoid inducible protein kinase
Thr308	Threonin 308
TSC2	Tuberous sclerosis complex 2
TST	Tail suspension test
WHO	World Health Organization
Wt	Wild type

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anteil der jemals ärztlich oder therapeutisch festgestellten Depression in der ab 18-jährigen Bevölkerung (Robert Koch-Institut und Statistisches Bundesamt 2010)	2
Abbildung 2: Strukturen der Akt-Isoformen.....	4
Abbildung 3: Die Aktivierung und Regulierung von Akt (Song et al. 2005).....	6
Abbildung 4: Darstellung der reduzierten Gehirngröße von Akt3-defizienten Mäusen gegenüber Wildtyp-Mäusen (Easton 2005).....	8
Abbildung 5: mTOR-Signalweg (Lamming et al. 2013).....	9
Abbildung 6: Regulation der Zellerhaltung durch Akt (Nicholson 2002)	11
Abbildung 7: Die vielseitigen Aufgaben, wie z.B. Stoffwechsel, Zellerhaltung, Glukoseaufnahme, Angiogenese, Wachstum und Zellteilung, von verschiedenen Akt-Effektoren (Manning et al. 2007).....	12
Abbildung 8: Analyse der Interaktion zwischen Furcht, Angst, Depression und Wahrnehmung. Zusätzlich werden die möglichen Angriffspunkte von Stress auf diese Faktoren dargelegt (modifiziert nach (Kalueff et al. 2007)	18
Abbildung 9: Schematische Darstellung der Mobilitäts- und Immobilitätsphase der Mäuse im forcierten Schwimmtest und im TST (Abelaira et al. 2013).....	22
Abbildung 10: Skizze des Versuchsaufbaus des Offenen Feldes.....	27
Abbildung 11: Skizze des Versuchsaufbaus der Hell-Dunkel-Kammer	28

Abbildung 12: Bild des Versuchsaufbaus des Angehobenen Null-Labyrinths	29
Abbildung 13: Bild des Versuchsaufbaus des Forcierten Schwimmtests nach Porsolt.....	30
Abbildung 14: Skizze des Versuchsaufbaus des Notstandtests	31
Abbildung 15: Skizze des Versuchsaufbaus des Tests mit neuem Objekt	32
Abbildung 16: Skizze des Versuchsaufbaus des Wasserlabyrinths nach Morris	33
Abbildung 17: Bild des Versuchsaufbaus des Achtarmigen Irrgartens	35
Abbildung 18: Analysen des Verhaltens der <i>akt2^{-/-}</i> - und wt(wild type)-Mäuse im Test des Offenen Feldes	38
Abbildung 19: Analysen des Verhaltens der <i>akt3^{-/-}</i> - und wt-Mäuse im Test des Offenen Feldes	41
Abbildung 20: Analysen des Verhaltens der <i>akt2^{-/-}</i> - und wt-Mäuse in der Hell-Dunkel-Kammer.....	44
Abbildung 21: Analysen des Verhaltens der <i>akt3^{-/-}</i> - und wt-Mäuse in der Hell-Dunkel-Kammer.....	47
Abbildung 22: Analysen des Verhaltens der <i>akt2^{-/-}</i> - und wt-Mäuse im Angehobenen Null-Labyrinth	49
Abbildung 23: Analysen des Verhaltens der <i>akt3^{-/-}</i> - und wt-Mäuse im Angehobenen Null-Labyrinth	51
Abbildung 24: Analyse des Verhaltens der <i>akt2^{-/-}</i> - und wt-Mäuse im Forcierten Schwimmtest nach Porsolt	51
Abbildung 25: Analyse des Verhaltens der <i>akt3^{-/-}</i> - und wt-Mäuse im Forcierten Schwimmtest nach Porsolt	52

Abbildung 26: Analysen des Verhaltens der <i>akt2^{-/-}</i> - und wt-Mäuse im Notstandtest.....	53
Abbildung 27: Analysen des Verhaltens der <i>akt2^{-/-}</i> - und wt-Mäuse im Test mit neuem Objekt.....	54
Abbildung 28: Analysen des Verhaltens der <i>akt2^{-/-}</i> - und wt-Mäuse im Wasserlabyrinth nach Morris	56
Abbildung 29: Analysen des Verhaltens der <i>akt3^{-/-}</i> - und wt-Mäuse im Wasserlabyrinth nach Morris	58
Abbildung 30: Analysen des Verhaltens der <i>akt2^{-/-}</i> - und wt-Mäuse im Achtarmigen Irrgarten	60
Abbildung 31: Analysen des Verhaltens der <i>akt3^{-/-}</i> - und wt-Mäuse im Achtarmigen Irrgarten	63

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Rearing-Verhalten der *akt2*^{-/-}- und wt-Mäuse im Offenen Feld39

1. Einleitung

In der Öffentlichkeit und den Medien wird derzeit regelmäßig über psychiatrische Erkrankungen berichtet, wobei vor allem Depressionen und Angstzustände eine wichtige Rolle spielen. Zahlen des Statistischen Bundesamts aus dem Jahre 2012 untermauern diese Feststellung. Bei einer Gesamtzahl von insgesamt 1 648 952 Fällen der 20 häufigsten Hauptdiagnosen entfallen mittlerweile 88 006 Fälle auf Erkrankungen aus dem psychiatrischen Formenkreis. Mit 46 934 depressiven Episoden und 41 108 rezidivierenden depressiven Störungen resultiert daraus ein Prozentsatz von 5,3 %.

Laut eines Berichts der WHO (World Health Organization) stellen neuropsychiatrische Störungen 26 % der Krankheitslast in der EU (European Union) dar. Mit den dadurch besonders ins Gewicht fallenden Angsterkrankungen und Stimmungsstörungen entstehen der EU Kosten in Höhe von 170 Mrd. Euro pro Jahr (WHO 2012). Außerdem prognostiziert die WHO, dass Depressionen im Jahre 2020 die zweithäufigste Ursache für Arbeitsunfähigkeit sein werden (Murray et al. 1997).

Abbildung 1 stellt die Erkrankungshäufigkeit in Hinsicht auf Depressionen in den verschiedenen Altersbereichen dar. Hierbei kann ein kontinuierlicher Erkrankungsanstieg bis ins Alter von 50–59 Jahren festgestellt werden. Bei über 59-Jährigen ist die Diagnose „Depression“ hingegen wieder rückläufig. Zusätzlich belegt das Diagramm eine deutlich stärkere Anfälligkeit der Frauen für Depressionen im Vergleich zu Männern.

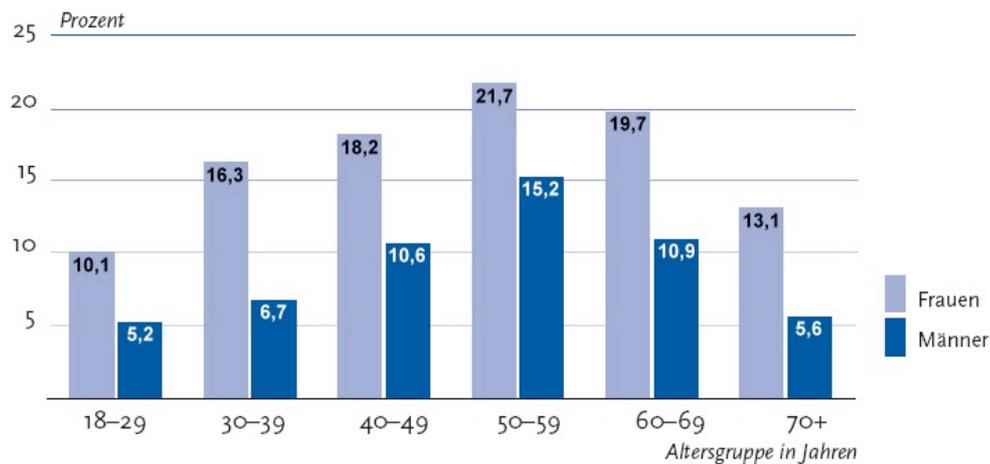


Abbildung 1: Anteil der jemals ärztlich oder therapeutisch festgestellten Depression in der ab 18-jährigen Bevölkerung (Robert Koch-Institut und Statistisches Bundesamt 2010).

Die Proteinkinase B (PKB), ebenfalls unter dem Namen Akt bekannt, spielt mit Ausnahme der Depression auch in anderen Bereichen, wie z.B. in der Zellproliferation, der Zellerhaltung, dem Zellwachstum, der Angiogenese und im Stoffwechsel eine entscheidende Rolle. Somit können Fehlsteuerungen von Akt neoplastische, kardiovaskuläre, neurologische und metabolische Erkrankungen initiieren. Dies veranschaulicht, welche wesentliche Bedeutung dieser Kinase zukommt. In der folgenden Arbeit soll neben den allgemein bekannten Grundkenntnissen über Akt vor allem die Bedeutung der Isoformen Akt2 und Akt3 hinsichtlich Depression und Angstverhalten in diversen Verhaltenstests untersucht werden.

2. Grundlagen

2.1 Akt

2.1.1 Entdeckung der Kinase

Im Jahre 1987 gelang dem Wissenschaftler Stephan Staal erstmals die Identifikation der Kinase Akt, welche er im Rahmen seiner tierexperimentellen Forschung in einem Adenokarzinom vorfand (Staal 1987). Acht Jahre später konnte Richard Roth mit Kollegen die Aktivierung von Akt durch Insulin nachweisen (Kohn et al. 1995). Diese Entdeckung führte schlagartig zu einem immensen Interesse an der Regulation und der Bedeutung der bislang eher unbekanntem Proteinkinase.

2.1.2 Isoformen und chemische Struktur

Mittlerweile werden von Akt drei Unterformen unterschieden. Diese sogenannten Isoformen werden entweder als Akt1, Akt2 und Akt3 oder als PKB α , PKB β und PKB γ (protein kinase B) bezeichnet (Abb. 2). Sie haben eine hochkonservierte Domänenstruktur mit einer N-terminalen PH-(pleckstrin homology)-Domäne, einer Kinase-Domäne und einem C-terminalen hydrophoben Endstück, welches für die Regulation entscheidend ist (Hanada et al. 2004).

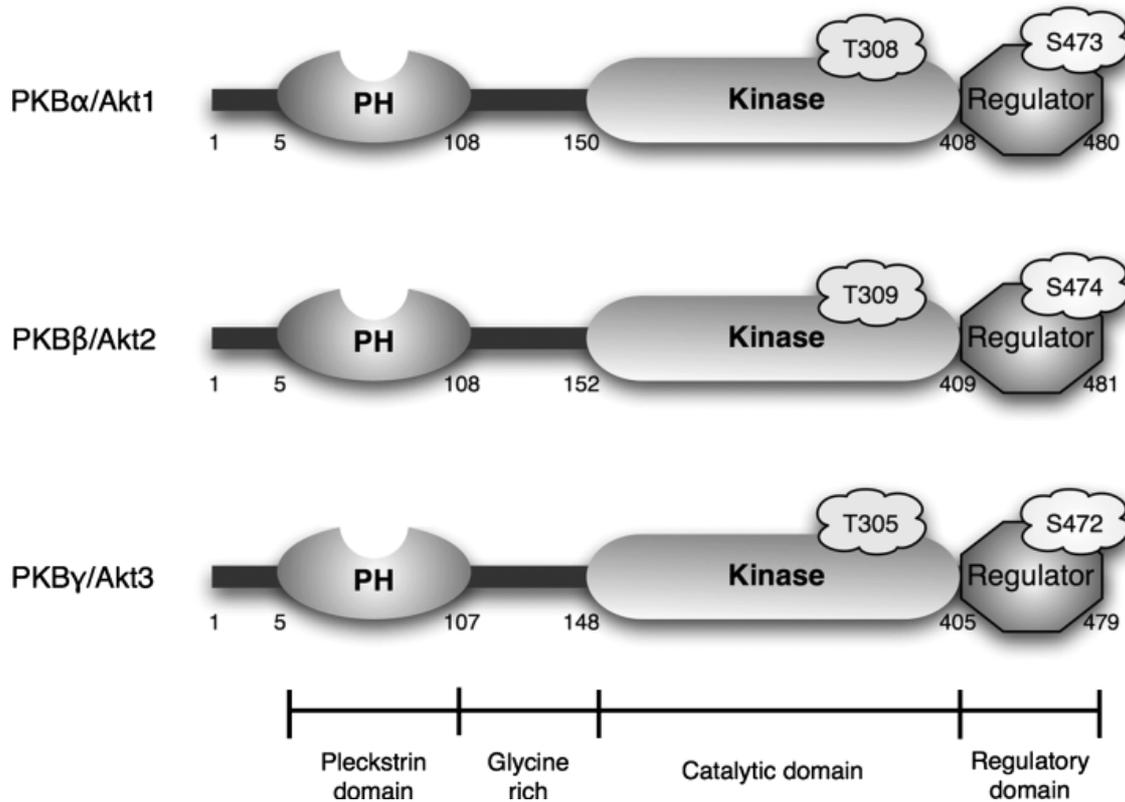


Abbildung 2: Strukturen der Akt-Isoformen.

Die Phosphorylierungsstellen an der katalytischen und der regulatorischen Domäne sind durch wolkenähnliche Strukturen bildlich dargestellt. T308: Threonin 308; S473: Serin 474; PH: Pleckstrin-Homologie-Domäne (Elghazi et al. 2007).

2.1.3 Lokalisation der Isoformen

Sowohl die Regulierung als auch die Expressionsbereiche sind bei den Isoformen divergierend. Bezüglich Akt1 liegt eine breite Streuung in vielen Organen des Körpers vor. Sie ist in die Bereiche des Zellwachstums und der Zellerhaltung involviert. Aufgrund dieser Beteiligung sind Akt1-Knock-out-Mäuse durch ein verzögertes Wachstum und eine perinatale Sterblichkeit gekennzeichnet (Chen et al. 2001, Cho et al. 2001). Demgegenüber wirkt Akt2 bei der Insulinvermittelten Regulation der Glukoseverteilung mit und wird daher vornehmlich im Muskel- und Fettgewebe exprimiert (Cho et al. 2001, Garofalo et al. 2003). Die Expression von Akt3 wiederum ist in bestimmten Körperregionen, wie Gehirn und Hoden, erhöht (Tschopp et al. 2005). Eine verminderte Expression von

Akt3 findet sich in Fettzellen, Lunge und Brustdrüsengewebe (Yang et al. 2003).

2.1.4 PI3K-Akt-Signalweg

Neben dem Ausgangsprodukt PI3K (phosphoinositide-3-kinase) ist Akt eines der Schlüsselmoleküle des PI3K-Akt-Signalwegs (Abb. 3). Nachdem RTKs (receptor tyrosin kinases), wie beispielsweise EGFR (epidermal growth factor receptor), durch das Binden von GFs (growth factors) an der extrazellulären Domäne aktiviert worden sind, folgen eine Autophosphorylierung und dadurch ein Anstieg der Kinaseaktivität. Durch Andocken von PI3K an den RTK erfolgt eine Phosphorylierung von PI(3,4)P₂ (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate), welches einen Anstieg des in der Zellmembran verankerten PI(3,4,5)P₃ (phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate) induziert (Carnero et al. 2014). Bei Anwesenheit von PTEN (phosphatase and tensin homolog) wird PIP₃ hingegen wieder zu PIP₂ überführt.

Anschließend reiht sich Akt in die Signalkaskade ein. Aufgrund der Verbindung zwischen der PH- und der Kinase-Domäne liegt Akt normalerweise in einem inaktiven Zustand vor. Kommt jedoch eine Verbindung zwischen der PH-Domäne von Akt und PIP₃ zustande, resultiert daraus eine Konformationsänderung in Akt, welche deren Verankerung in der Plasmamembran ermöglicht. Infolgedessen wird PDK1 (3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1) das Andocken ermöglicht, um den Aktivierungszyklus abzurufen und Akt an der Position Thr308 zu phosphorylieren (Calleja et al. 2007). Diese Phosphorylierung erhöht die Aktivität von Akt um das 100-Fache. Zum Erreichen der Maximalaktivität ist jedoch zusätzlich eine Phosphorylierung von Ser473 notwendig (Alessi et al. 1996), die einen fünffachen Anstieg der Akt-Aktivität zur Folge hat (Sarbasov et al. 2005). Ergänzend ist hinzuzufügen, dass Thr308 und Ser473 unabhängig voneinander phosphoryliert werden können.

Verantwortlich für die Phosphorylierung von Ser473 sind PDK2 (3-phosphoinositide-dependent protein kinase 2) und mTORC2 (mammalian target of rapamycin complex 2) (Riaz et al. 2012, Yang et al. 2015). Die

Dephosphorylierung an Position Thr308 wird durch PP2A (protein phosphatase 2A) gesteuert. Die Phosphatase PHLPP (PH domain leucine-rich repeat phosphatase) übernimmt im Anschluss daran die Dephosphorylierung von Ser473. Ferner gibt es eine größere Korrelation zwischen P(phosphoryliertem)-Thr308, nicht aber zwischen P-Ser473 und der Phosphorylierung der nachfolgenden Akt-Substrate PRAS40 (proline-rich Akt/PKB substrate 40 kDa), TSC2 (tuberous sclerosis complex 2) und AS160 (Akt substrate of 160 kDa) (Vincent et al. 2011). Das Blockieren der Ser473-Phosphorylierung durch mTOR (mechanistic target of rapamycin)-Inhibitoren, wie z. B. torin1, hat hingegen keinen Effekt auf die Thr308-Phosphorylierung, die Akt1-Aktivität oder die GSK3 (glykogen synthase kinase 3)-Phosphorylierung. Allerdings werden dabei die Akt2-Aktivität sowie die PRAS40-Phosphorylierung signifikant reduziert (Moore et al. 2011).

Sobald Akt phosphoryliert und damit aktiviert worden ist, trennt sie sich von der Membran und gelangt ins Zytosol und schlussendlich in den Zellkern. Dort aktiviert sie die Abfolge des Signalwegs durch die Phosphorylierung einer Vielzahl weiterer Substrate.

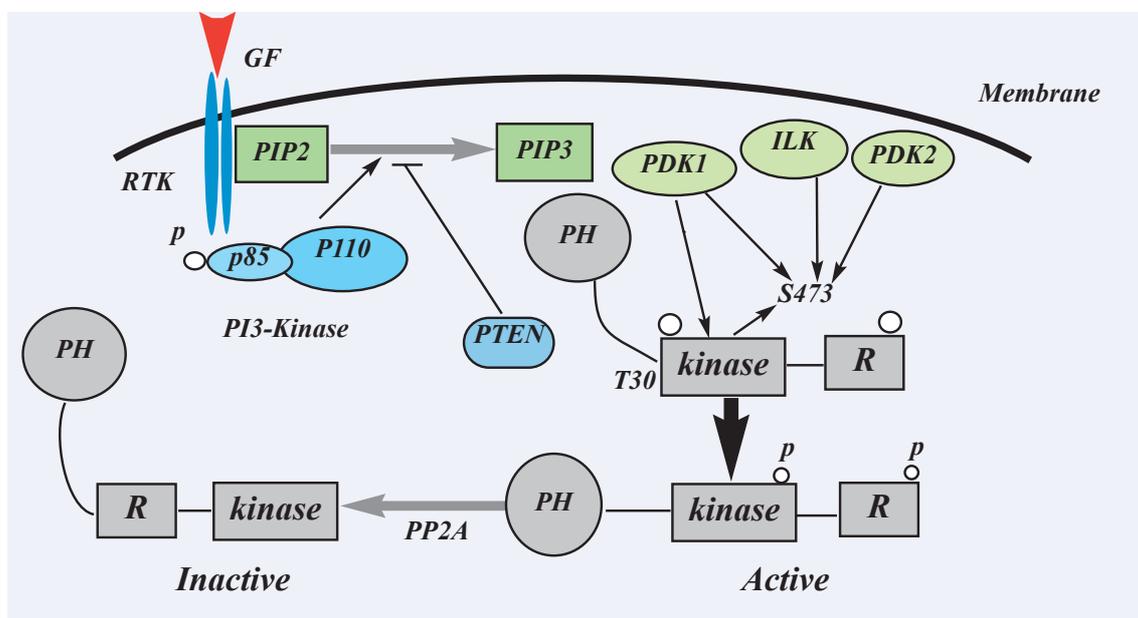


Abbildung 3: Die Aktivierung und Regulierung von Akt (Song et al. 2005).

2.1.5 Molekularbiologie

2.1.5.1 Angiogenese

Eine entscheidende Funktion von Akt ist die Regulation der Angiogenese. Darunter versteht man in erster Linie das Wachstum im embryonalen Organismus sowie die Umstrukturierung eines primitiven Gefäßnetzwerks in ein komplexes System. Im adulten Organismus spielt die Angiogenese vor allem bei der Proliferation des Endometriums und während der Wundheilung eine wichtige Rolle. Akt beeinflusst die Gefäßweite, indem sie die NO(nitric oxide)-Synthase bzw. die Isoform eNOS (endothelial nitric oxide synthase) über Phosphorylierung aktiviert. Die damit einhergehende NO-Produktion führt zur Vasodilatation der Widerstandsgefäße (Shiojima et al. 2002).

2.1.5.2 Apoptose

Eine weitere wichtige Aufgabe übernimmt Akt im programmierten Zelltod, der Apoptose. Sie übermittelt den Zellen Wachstumssignale und unterbindet dadurch den gezielten Zelltod (Takeda et al. 2004). Dieser Vorgang wird durch die Inaktivierung bzw. Dephosphorylierung der proapoptotischen Faktoren wie Bad (Bcl2-antagonist of cell death), Caspase-9 und FOXO (forkhead box protein O) Transkriptionsfaktoren induziert (Cardone et al. 1998, Cross et al. 1995, Datta et al. 1997, Del Peso et al. 1997).

2.1.5.3 Zellwachstum, -teilung und -erhaltung

Darüber hinaus spielt Akt eine entscheidende Rolle im Wachstum. Beispielsweise präsentiert sich bei Mäusen mit vorliegender Störung im Akt1-Gen eine generelle Beeinträchtigung des fötalen und postnatalen Wachstums (Chen 2001, Cho 2001, Yang 2003). Im Gegensatz zum Wildtyp kann sowohl bei Akt1- als auch bei Akt3-defizienten Mäusen ein geringeres Gehirnvolumen nachgewiesen werden (Abb. 4). Bei Akt3-defizienten-Mäusen liegt dieser Unterschied bei ca. 20%. Jedoch ist zwischen den beiden Isoformen Akt1 und Akt3 zu differenzieren. Während der Mangel an Akt1 eine Reduktion der Zellanzahl in allen Organen zur Folge hat, führt die Abwesenheit von Akt3 zusätzlich auch zu kleineren Zellen im Gehirn (Easton et al. 2005, Tschopp 2005). Aufgrund der be-

grenzten Verteilung der Akt3-mRNA beschränkt sich die oben beschriebene verringerte Größenentwicklung der Organe hauptsächlich auf das Gehirn und die Hoden der Tiere.



Abbildung 4: Darstellung der reduzierten Gehirngröße von Akt3-defizienten Mäusen gegenüber Wildtyp-Mäusen (Easton 2005).

Generell wurde nachgewiesen, dass der PI3K-Akt-Signalweg bei der Festlegung der endgültigen Organgröße eine entscheidende Rolle spielt (Garofalo 2002, Stocker et al. 2000).

Über den mTORC1-Signalweg beeinflusst Akt die Translation, den Zellzyklus und die Ribosomenbiosynthese (Abb. 5). Der mTORC1 besteht aus mTOR, Raptor (regulatory associated protein of mTOR), mLST8 (mammalian lethal with SEC13 protein 8), PRAS40 und Deptor (domain-containing mTOR-interacting protein) (Dibble et al. 2015). Akt besitzt in diesem Signalweg zwei Ansatzstellen. Zum einen phosphoryliert sie und inhibiert hierbei PRAS40. Zum anderen greift sie über TSC2 in diesen Signalweg ein. Durch Phosphorylierung des TSC2 und eine damit verbundene Hemmung der GAP (GTPase-activating protein)-Aktivität kommt es zur Aktivierung des mTORC1 durch Anhäufung des aktiven GTP-gebundenen Rheb (ras homologue enriched in brain) (Beauchamp et al. 2013). Durch Phosphorylierung der Proteine 4EBP1 (eukaryotic initiation factor 4E-binding protein 1) und S6K (S6 kinase) kontrolliert der mTORC1 die mRNA-Translation und die Zellproliferation (Hay et al. 2004).

Neben der Aktivierung durch PDK1 kann Akt zusätzlich durch mTORC2 phosphoryliert und somit aktiviert werden. Dieser Komplex beinhaltet mTOR, Deptor, mLST8, mSin1 (stress-activated protein kinase-interacting protein 1), Rictor (rapamycin-insensitive companion of mTOR) und Protor1 (Yang 2015).

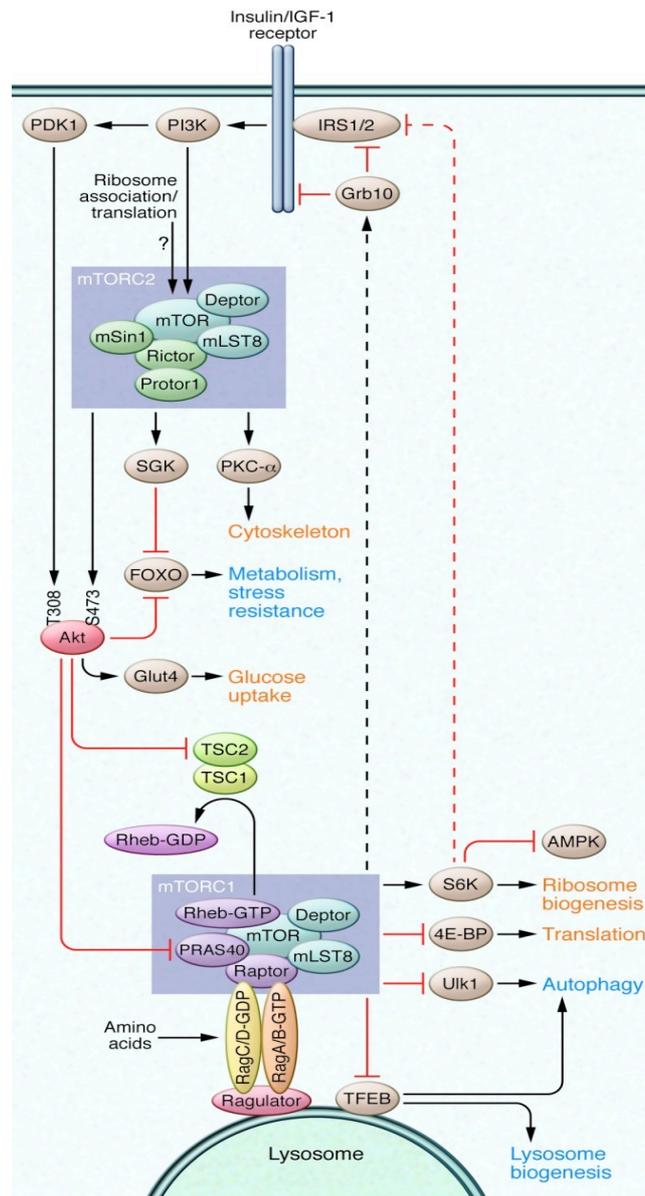


Abbildung 5: mTOR-Signalweg (Lamming et al. 2013)

Indem Akt die proapoptischen Transkriptionsfaktoren der FOXO-Familie phosphoryliert und damit inhibiert, ist sie wie beschrieben an der Zellerhaltung, der Zellteilung und am Stoffwechsel beteiligt. Diese Faktoren steigern entspre-

chend die Transkription und Expression von p27kip1 (cyclin-dependent kinase inhibitor 1B), welcher den Cyklin/CDK(cyclin-dependent kinase)-Komplex hemmt und somit eine entscheidende Rolle im Verlauf des Zellzyklus spielt (Burgering et al. 2003).

Die Zellerhaltung hingegen ist das Ergebnis einer positiven Regulierung der Transkriptionsfaktoren durch Akt (Abb. 6). Hierbei nimmt Akt eine wichtige Stellung in der Steuerung der NF- κ B(nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells)-abhängigen Gentranskription ein, da dieser Faktor wiederum die Transkription zellerhaltungsfördernder Gene, wie BIRC1 und BIRC2 (baculoviral IAP repeat-containing protein 1/2), begünstigt (Nicholson et al. 2002). Akt bindet an IKK α (inhibitor of kappa B kinase- α) und aktiviert diesen nachfolgend. Anschließend begünstigt dieser Inhibitor den Abbau des hemmenden Cofaktors von NF- κ B, I- κ B, durch Phosphorylierung (Romashkova et al. 1999). Somit ist Akt imstande, den antiapoptotischen Transkriptionsfaktor NF- κ B indirekt über die Hemmung des Inhibitors zu aktivieren. Infolgedessen gelangt NF- κ B zum Zellkern und regt die Transkription der zellerhaltenden Gene an.

Zusätzlich kann Akt CREB (cAMP response element-binding protein) positiv regulieren (Du et al. 1998). CREB befindet sich im inaktiven Zustand in nicht erregten Zellen am Anfang einer Gensequenz an der DNA und stellt einen universell verfügbaren Aktivator der Transkription dar. Durch eine direkte Phosphorylierung von CREB ruft Akt das Binden eines zusätzlichen Proteins hervor, das zur Transkription von zellerhaltenden Genen, wie z.B. bcl-2 (B-cell lymphoma 2) und mcl-1 (myeloid cell leukemia 1), führt (Nicholson 2002, Wang et al. 1999).

Ferner ist Akt durch die Deaktivierung von GSK3 in der Lage, deren Hemmung von Regulatoren des Zellzyklus aufzuheben. Darunter befinden sich zum einen die Transkriptionsfaktoren C-myc und NFAT (Nuclear factor of activated T-cells), zum anderen Proteine wie Cyclin D, welches die Kinasefunktion der CDKs während des gesamten Zellzyklus aktiviert, sowie p21 und CDK-Inhibitor 1 (Chang et al. 2003).

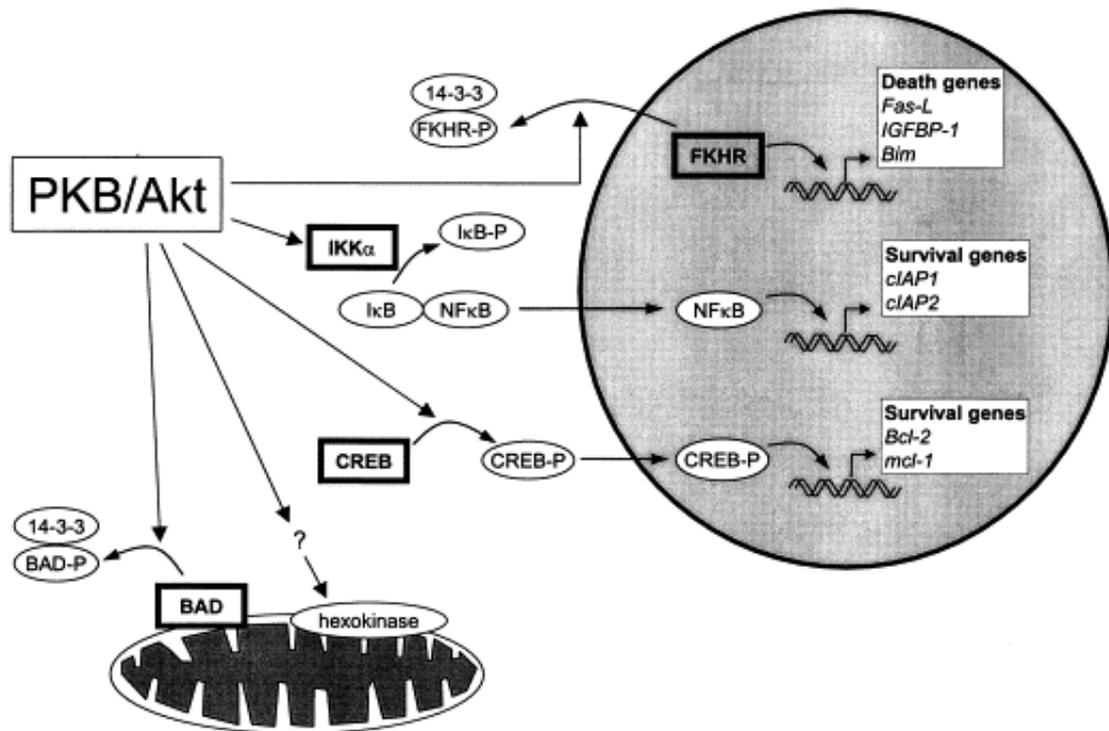


Abbildung 6: Regulation der Zellerhaltung durch Akt (Nicholson 2002).

2.1.5.4 Glukoseaufnahme und -speicherung

Neben den oben genannten Mechanismen ist Akt zusätzlich für die insulinabhängige Glukoseaufnahme in gestreiften Muskel- und Fettzellen entscheidend (Cong et al. 1997). In diesen Zellen befinden sich im menschlichen Organismus GLUT4 (Glukosetransporter Typ 4) in intrazellulären Vesikeln. Sobald Insulin an einen Insulinrezeptor bindet, erfolgt eine Translokation der Vesikel zur Plasmamembran, mit der sie verschmelzen. Die nun in der Zellmembran befindlichen GLUT4 erzeugen folglich einen Glukoseeinstrom in die Zelle. Dieser Prozess der Translokation wird durch die Akt Phosphorylierung durch Rab GAP, AS160, getriggert, indem die Aktivität der Rab GAP gehemmt wird (Peck et al. 2009).

Außerdem ist Akt durch die Phosphorylierung und Inaktivierung von GSK3 ein wichtiger Faktor bei der Glukosespeicherung bzw. -synthese. Folglich hemmt Akt dadurch ihre eigene Kinaseaktivität (Cross 1995). Weil GSK3 die Glykogensynthese phosphoryliert und inaktiviert, resultiert aus einer Akt-vermittelten Hemmung von GSK3 eine Dephosphorylierung bzw. Aktivierung der Glykogen-

synthase. Daraufhin erfolgt ein Anstieg der Glykogensynthese (Embi et al. 1980).

2.1.5.5 Zahnentwicklung

Akt spielt zudem eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung der DFCs (dental follicle cells). Dabei wird der Akt-Signalweg aktiviert, nachdem die osteogene Differenzierung durch den Transkriptionsfaktor BMP2 (bone morphogenic protein 2) eingeleitet worden ist. Wird Akt hingegen gehemmt, folgt weder eine Differenzierung noch die Expression eines weiteren Transkriptionsfaktors, EGR1 (early growth response protein 1), welcher ebenfalls für einen Anstieg der Anzahl von Zahnfollikelzellen verantwortlich wäre (Viale-Bouroncle et al. 2015).

2.1.5.6 Zusammenfassung der zellulären Funktionen von Akt-Effektoren

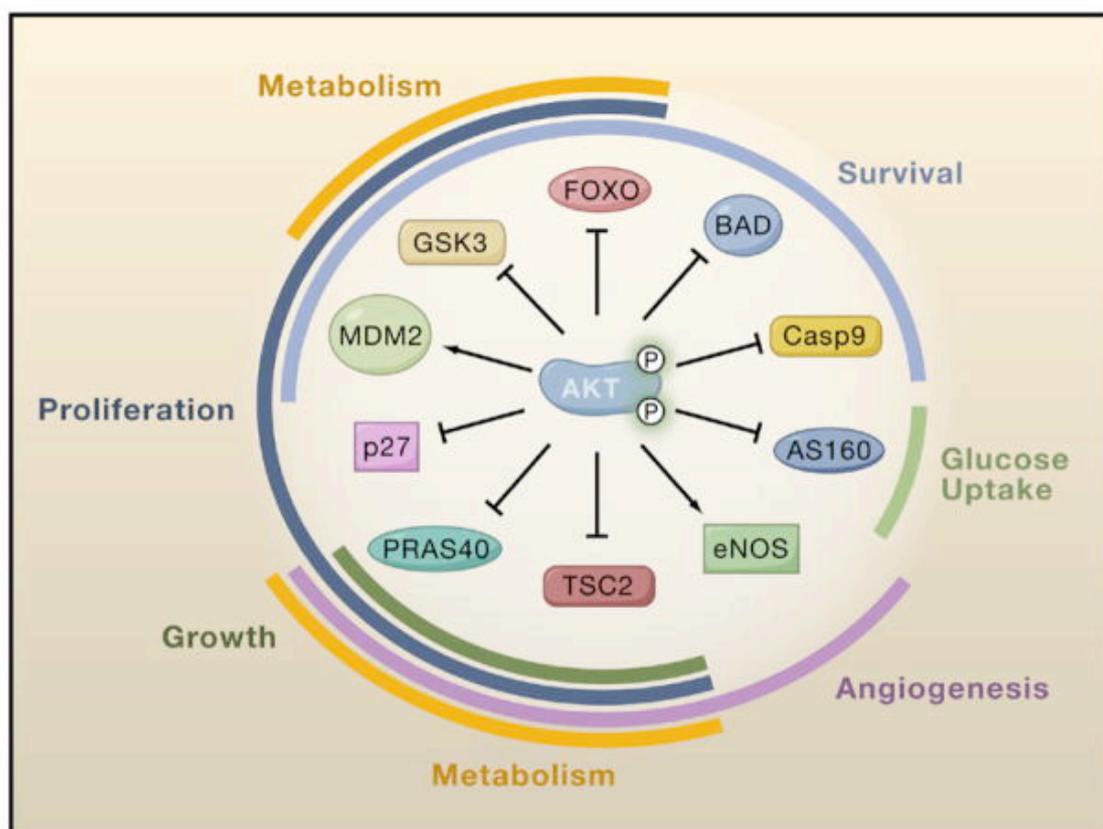


Abbildung 7: Die vielseitigen Aufgaben, wie z.B. Stoffwechsel, Zellerhaltung, Glukoseaufnahme, Angiogenesis, Wachstum und Zellteilung, von verschiedenen Akt-Substraten. Dargestellt sind zum einen Pfeile, die eine Aktivierung durch Akt verdeutlichen sollen, zum anderen geblockte Pfeile, die eine Hemmung durch Akt symbolisieren (Manning et al. 2007).

2.1.6 Pathologie

2.1.6.1 Tumorerkrankungen

Akt spielt nicht nur in physiologischen zellulären Prozessen eine Schlüsselrolle, sondern ist auch an pathologischen Abläufen im Körper wesentlich beteiligt. Sie zählt außerdem zu den am häufigsten hyperaktiven Proteinkinasen in menschlichen Tumorarten (Altomare et al. 2005). Allerdings müssen wiederum die unterschiedlichen Isoformen von Akt hinsichtlich Lokalisation und Häufigkeit differenziert werden. In erster Linie ist Akt2 zu nennen, da sie in Krebszellen von allen drei Isoformen am häufigsten exprimiert wird. Während Akt2 vorwiegend in Eierstocktumoren, Brust- und Pankreaskrebs vorzufinden ist, wird Akt3 vor allem in Brust- und Prostatatumorzellen überexprimiert (Bellacosa et al. 1995, Cheng et al. 1992, Cheng et al. 1996, Miwa et al. 1996, Nakatani et al. 1999, Ruggeri et al. 1998). Demgegenüber kommt Akt1 eine untergeordnete Rolle in der Tumorgenese zu (Carnero 2014).

2.1.6.2 Diabetes

Durch die Beteiligung von Akt an der Regulierung der Glukoseaufnahme kann eine verminderte Expression von Akt Diabetes mellitus (DM) zur Folge haben. Die Glukoseaufnahme in Fett- und Muskelzellen erfolgt durch eine Stimulierung der Translokation der GLUT4 in die Plasmamembran. Akt2-Knock-out-Mäuse sind insulinintolerant und erkranken somit durch eine erhöhte Blutzuckerkonzentration an DM (Cho 2001, Garofalo 2003). Neben dem Glukosetransport ist Akt zudem für die Zellerhaltung und Zellteilung von Insulin-sezernierenden β -Zellen im Pankreas verantwortlich (Elghazi 2007). Ursächlich für die reduzierte Kinaseaktivität von Akt ist bei DM eine erhöhte Zirkulation von FFA (free fatty acids) und entzündlichen Zytokinen. Diese wirken an der Insulinresistenz mit, indem sie die Serinphosphorylierung von IRS1 (insulin receptor substrate 1) veranlassen (Le Marchand-Brustel et al. 2003). Daraus resultierend wird die Insulinsignalübertragung durch Entkoppelung von IRS1 vom aktivierten Rezeptor oder durch Hemmung der Effektoren gedämpft. Folglich entwickelt sich eine reduzierte Aktivierung von PI3K und Akt. Außerdem erhöhen die entstandenen Fettsäuren die Produktion von Ceramiden aufgrund des Acyl-CoA-

Metabolismus. Ceramide gehören zu einer Untergruppe der Lipide und wirken wie sekundäre Botenstoffe (second messenger), die Signalwege aktivieren und die Insulinsensibilität herabsetzen (Schmitz-Peiffer et al. 1999). Die reduzierte Glukoseaufnahme ist Folge der Dephosphorylierung bzw. Deaktivierung von Akt durch PP2A, welche durch Ceramid aktiviert wird (Chavez et al. 2003).

2.1.6.3 Kardiovaskuläre Erkrankungen

Akt ist auch für verschiedene Funktionen im kardiovaskulären System von Bedeutung und somit an der Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen beteiligt, der häufigsten Todesursache in Deutschland. Dazu zählen unter anderem Apoplexie, der Myokardinfarkt, die arterielle Hypertonie, die periphere arterielle Verschlusskrankheit und koronare Herzkrankheiten. Die entscheidende Rolle spielt dabei Akt1. Diese Isoform reguliert die Herzgröße, kontraktile Aufgaben und die koronare Gefäßneubildung. Während eine kurzzeitige Überexpression von Akt1 die Wirkung einer physiologischen Hypertrophie erzielt, führt eine langanhaltende Akt1-Aktivierung zu einer Hypertrophie mit kontraktile Dysfunktion (Shiojima et al. 2005). Zum einen hat Akt aufgrund ihrer Beteiligung am kardialen Wachstum und an der Produktion des gefäßerweiternd wirkenden Stickstoffmonoxids (NO) eine schützende Wirkung auf das Herz. Zum anderen kann Akt1 eine kardiovaskuläre Erkrankung forcieren, indem sie die Leukozytenmigration in die Intima durch einen NO-vermittelten Anstieg der mikrovaskulären Permeabilität reguliert (Di Lorenzo et al. 2009). Weiter fördert Akt1 die Thrombozytenaggregation durch Hemmung der negativ wirkenden GSK3 (Li et al. 2008).

2.1.6.4 Neurologische Erkrankungen

In neonatalen und adulten Motorneuronen ist Akt wesentlich in der Zellerhaltung und neuronalen Regenerationsprozessen involviert (Namikawa et al. 2000). In dopaminergen Neuronen der Substantia nigra, die bei Parkinson betroffen sind, verhindert eine Überexpression von konstitutiv aktiviertem Akt (myr-Akt) den neurotoxisch induzierten Zelltod und ermöglicht die Aufrechterhaltung der axonalen Aussprossung (Ries et al. 2006).

2.2 Psychiatrische Störungen und deren Beeinflussung durch Akt

Der PI3K-Akt-Signalweg ist entscheidend beteiligt am Entstehen und Fortschreiten von diversen psychiatrischen Störungen, wie z.B. Schizophrenie, schweren depressiven Störungen und einer bipolaren Symptomatik. Die WHO teilt die psychiatrischen Erkrankungen in der ICD-10 (10. Version der „International Classification of Disease“) unter Abschnitt F ein.

Die unipolare Depression wird unterteilt in depressive Episoden und rezidivierende depressive Störungen. Die depressiven Episoden werden wiederum unterteilt in leichte, mittelgradige und schwere Formen. Die Ätiopathogenese ist multifaktoriell. Einer schwedischen Studie zufolge spielt bei diesem Krankheitsbild der genetische Einfluss mit 40% bei Frauen und 30% bei Männern eine entscheidende Rolle (Kendler et al. 2006). Neurobiologische Ursachen sind jedoch bis heute nicht eindeutig geklärt und werden deshalb als Hypothesen bezeichnet. Die anfängliche Katecholaminhypothese, bei welcher als Ursache der Depression ausschließlich ein Mangel an Noradrenalin gilt, wurde um eine „Monoaminmangelhypothese“ erweitert. Neben dem Noradrenalinmangel steht hierbei auch der funktionelle Mangel an Serotonin im Vordergrund. Außerdem gibt es Hinweise darauf, dass Veränderungen der Hypothalamus-Hypophysen-Achse ursächlich für die Entstehung einer Depression sind. Zu nennen sind in diesem Zusammenhang eine Störung in der zirkadianen Rhythmik des Kortisolhaushaltes (Young et al. 1993), erhöhte Serum- und 24-h-Urinspiegel (Deuschle et al. 1997, Kathol et al. 1989) sowie Nebennierenhyperplasien (Amsterdam et al. 1987). Des Weiteren zählen hierzu aktuelle psychosoziale Belastungen (z.B. Tod naher Angehöriger oder Arbeitsplatzverlust), physikalische Einwirkungen (z.B. Lichtentzug), Hypovitaminose D (Ubbenhorst et al. 2011), eine erlernte Hilflosigkeit auf alle Situationen und negative Bilder von sich selbst, der Umwelt und der Zukunft.

Erkrankte Patienten leiden in der Regel unter einer niedergeschlagenen Grundstimmung mit Gefühlen der Wert- und Hilflosigkeit. Zudem treten Appetitverlust, Schlafstörungen, Konzentrationsschwierigkeiten, Libidoverlust und Interesselo-

sigkeit auf. Bei besonders schweren Episoden steht vor allem eine subjektiv empfundene Gefühllosigkeit mit einer absoluten inneren Leere im Vordergrund. Außerdem kann diese schwere Form der Depression auch psychotische Symptome, wie z. B. Halluzinationen und Wahnvorstellungen, verursachen und eine depressive Pseudodemenz hervorrufen. Im Unterschied zu Demenzerkrankten wird bei diesen Patienten eine Reduktion der kognitiven Fähigkeit lediglich suggeriert. Unter Testbedingungen erzielen sie im Widerspruch zu ihrem eigenen Empfinden deutlich bessere Ergebnisse.

Demgegenüber zeigen Patienten in manischen Phasen gegensätzliche Symptome. Es dominiert eine anhaltend und situationsinadäquat gehobene Stimmung. Eine unipolare Manie ohne Beteiligung von depressiven Phasen tritt sehr selten auf. Die ICD-10 unterscheidet drei verschiedene Arten von Manien. Die schwächste Form wird als Hypomanie bezeichnet, bei der es zu einer leichten Ausprägung manischer Symptome kommt. Charakteristisch für diese Form ist eine anhaltende, leicht gehobene Stimmung mit einer euphorischen Geselligkeit, einer gesteigerten Libido und einem verminderten Schlafbedürfnis. Im Gegensatz dazu wird bei der Manie ohne psychotische Symptome die situationsinadäquat gehobene Stimmung vom Umfeld nicht als amüsant, sondern als befremdlich empfunden. Die oben genannten Symptome sind deutlich gesteigert. Außerdem überwiegt eine maßlose Selbstüberschätzung mit übertriebenem Optimismus. Bei der schwersten Form der Erkrankung, der Manie mit psychotischen Symptomen, treten zusätzlich Größen-, Verfolgungs- und/oder religiöser Wahn und Halluzinationen auf. Eine zwischenmenschliche Beziehung ist bei Betroffenen meist nicht mehr möglich.

Bipolare Störungen, Manien und Depressionen zählen zu den affektiven Störungen. Während bei der unipolaren Depression eine dauerhafte Antriebslosigkeit und Dämpfung der Affektivität vorliegt, sind bipolare Störungen durch mindestens zwei Episoden gekennzeichnet, in denen das Aktivitätsniveau und die Stimmung des Patienten deutlich gestört sind. Meist liegt bei bipolaren Störungen ein immer wiederkehrender Wechsel zwischen depressiven und manischen

Phasen vor. Jedoch werden auch Störungen mit sich wiederholenden manischen Episoden als bipolar eingestuft.

Demgegenüber zählt die Schizophrenie zu den psychotischen Erkrankungen. Sie ist gekennzeichnet durch grundlegende charakteristische Störungen des Denkens, der Wahrnehmung, des Affekts und der Psychomotorik. Hingegen sind Bewusstsein und intellektuelle Fähigkeiten in der Regel nicht beeinträchtigt, allerdings können sich im Krankheitsverlauf kognitive Defizite entwickeln. Zu den charakteristischen Symptomen zählen vor allem ein desorganisierter Sprachgebrauch mit formalen Denkstörungen, Wahnvorstellungen, Halluzinationen und Ich-Störungen. Patienten mit Schizophrenie leiden nicht selten zusätzlich an einer schweren Depression oder Angststörung (Sim et al. 2006). Hierbei ist anzumerken, dass sich sowohl die Symptome als auch die Behandlung der unterschiedlichen Erkrankungen überlagern.

Außerdem ist eine differenzierte Betrachtung zwischen den beiden Gefühlsäußerungen Angst und Furcht entscheidend. Während im Zustand der Angst eine Gefahr erwartet wird, deren Ursache jedoch unklar ist, liegt bei Furcht eine akute Gefahr vor und die betroffene Person ist auf die Bedrohung fokussiert. Außerdem ist Angst normalerweise kontinuierlich vorhanden und fordert zudem eine dauerhafte Aufmerksamkeit, wohingegen Furcht episodisch abläuft und nach der Bedrohungslage wieder abflacht (Rachman 2004).

Das Schaubild (Abb. 8) verdeutlicht die enge Verbindung zwischen Angst, Depression und Wahrnehmung und stellt die Angriffspunkte bei Stressbelastung dar.

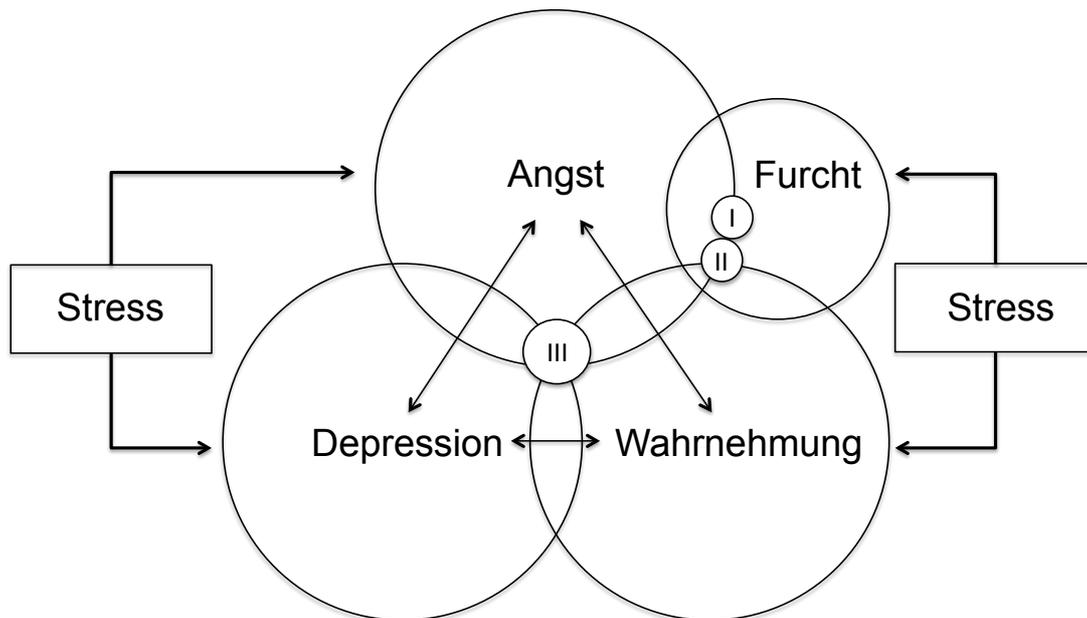


Abbildung 8: Analyse der Interaktion zwischen Furcht, Angst, Depression und Wahrnehmung. Zusätzlich werden die möglichen Angriffspunkte von Stress auf diese Faktoren dargelegt. Außerdem wird deren Schnittmenge mit posttraumatischem Stress (I), phobischen Störungen (II) und wiederkehrenden Depressionen in Verbindung mit negativen Erfahrungen (III) veranschaulicht (modifiziert nach (Kalueff et al. 2007)).

Auf molekularbiologischer Ebene gibt es für die Ausbildung von psychiatrischen Erkrankungen mehrere Ansatzpunkte im PI3K-Akt-Signalweg. Wichtige Rollen spielen dabei die Kinasen GSK3 und PDK1. Die Hemmung von GSK3 durch einige antimaniische Medikamente, wie zum Beispiel Lithium, fällt dabei besonders ins Gewicht. Diese Hemmung erfolgt zum einen über eine direkte Hemmung der Mg^{2+} -ATP-abhängigen katalytischen Aktivität von GSK3 (Ryves et al. 2001), zum anderen durch einen Anstieg der Ser21-/Ser9-Phosphorylierungsstellen von GSK3 durch einen noch nicht endgültig erforschten Mechanismus. Außerdem hemmen antidepressive Medikamente, wie MAO (monoamine oxidase), selektive Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer und zyklische Antidepressiva, GSK3 durch eine Zunahme ihrer N-terminalen Phosphorylierung in diversen Gehirnregionen (Beaulieu et al. 2008, Li et al. 2004).

Die PDK1-Signalübertragung hingegen beeinflusst neben Akt (Whiteman et al. 2002) unter anderem die p70 rsk (ribosomale S6 kinase) (Dann et al. 2007), die SGK (serum and glucocorticoid inducible protein kinase) (Lang et al. 2006), die p90 rsk (Hauge et al. 2006), und die PKC (protein kinase C) (Newton 2003). Zum Phänotyp von PDK1-hypomorphen Mäusen (*pdk1^{hm}*), bei denen die PDK1 nur noch eine Restaktivität besitzt, und *Gsk^{Kl}*-Mäusen, die genetisch so verändert wurden, dass sie nicht mehr durch Akt und SGK gehemmt werden können, unterscheiden sich grundlegend voneinander. Der *Pdk1^{hm}*-Maus konnten sowohl in der Verhaltensforschung als auch in biochemischen Untersuchungen des Gehirns ängstliche und depressive Eigenschaften zugeordnet werden. Im Gegensatz dazu besitzt die *Gsk^{Kl}*-Maus einen hyperaktiven Phänotyp mit einem risikofreudigen Verhaltensmuster (Ackermann et al. 2008, Ackermann et al. 2010).

In Bezug auf einzelne Isoformen von Akt zeigten Studien bei Patienten mit Schizophrenie eine geringere Expression von Akt1 im präfrontalen Cortex und im Hippocampus im Vergleich zu gesunden Testpersonen. Dies konnte jedoch nur für Akt1, nicht aber für die beiden anderen Isoformen Akt2 und Akt3, bestätigt werden (Emamian et al. 2004).

Einen besonderen Einfluss auf die Ausbildung einer psychiatrischen Erkrankung haben Neurotrophine. Bei diesen handelt es sich um körpereigene Signale, welche die Entwicklung und das Wachstum von Nervenzellen vermitteln und somit für das Lernen und die Gedächtnisbildung entscheidend sind. Eines der wichtigsten Neurotrophine ist BDNF (brain-derived neurotrophic factor). Akt wird über die Aktivierung von PI3K indirekt durch BDNF beeinflusst (Elliott et al. 2005), welcher mit Depressionen und bipolaren Störungen in Verbindung gebracht wird (Lang et al. 2005, Lang et al. 2004, Lang et al. 2007). In Untersuchungen wurde bei verstorbenen Personen, die nachweislich an Depressionen litten, eine verringerte Menge an BDNF im Blutserum und im Gehirn festgestellt (Mao et al. 2010). Im Körper ist BDNF für die Neurogenese bzw. die Nervenreuebildung verantwortlich. Bei Patienten mit starken Depressionen liegt somit ein erniedrigter BDNF-Spiegel im Blutplasma vor (Sen et al. 2008). Ande-

rerseits entwickelten Mäuse nach einer direkten Infusion von BDNF in die Gehirne einen „antidepressiven Effekt“ während der Tiermodellversuche für Depressionen (Siuciak et al. 1997).

Ein weiterer Wachstumsfaktor, der eine gewichtige Rolle bei der Entwicklung einer Depression spielt, ist IGF1 (insulin like growth factor 1). Dieses Peptidhormon wird hauptsächlich in der Leber gebildet, jedoch auch im Gehirn exprimiert und stellt einen wesentlichen Bestandteil der Steuerung des Zellwachstums im Körper dar. Die Steuerung geschieht über die Bindung an membranständigen IGF-Rezeptoren (Tyrosinkinaserzeptoren), welche die gleiche Struktur aufweisen wie Insulinrezeptoren (Hoshaw et al. 2005). Durch die Aktivierung des Rezeptors wird PI3K angeregt und der Signalweg mit Akt eingeleitet. Vor-klinische Studien mit Ratten zeigten ebenfalls einen „antidepressiven Effekt“ in deren Verhalten (Paslakis et al. 2012).

Zudem wird Akt mit der Regulierung der Langzeit-Potenzierung (long-term potentiation, LTP) in Verbindung gebracht, einer langandauernden Verstärkung der synaptischen Übertragung im Hippocampus für die Gedächtnisbildung und die Fähigkeit zu lernen (Li et al. 2010).

2.3 Methoden zur Erforschung von Depression

Zur Erforschung der neurobiologischen Mechanismen von Angst und Depressionen werden unter anderem Tierversuche herangezogen. Dabei werden diverse Untersuchungsmethoden unterschieden, die zum Verständnis von depressivem Verhalten dienen sollen.

2.3.1 Saccharosekonsumtest

Primär ist hier der Saccharosekonsumtest (sucrose consumption test) zu nennen. Mithilfe dieses Tests kann bei Nagern eines der Hauptsymptome der Depression, die Anhedonie, festgestellt werden. Anhedonie ist gekennzeichnet durch einen Zustand der Lustlosigkeit und durch das Fehlen oder das eingeschränkte Empfinden von Freude. In diesem Test wird den Mäusen neben reinem Wasser auch saccharosehaltiges Wasser angeboten. Während gesunde

Mäuse vorrangig die gesüßte Flüssigkeit zu sich nehmen, zeigen depressive Mäuse wenig Interesse daran (Bergner et al. 2010, Kos et al. 2006). Entscheidet sich ein Tier im Laufe der Untersuchungen in weniger als 65 % der Fälle für die Saccharoselösung, wird dies als Anzeichen einer Anhedonie gewertet (Strekalova et al. 2004).

2.3.2 Forcierter Schwimmtest

Eine weitere experimentelle Methode zur Erfassung von Depression ist der forcierte Schwimmtest. Dieser war Bestandteil der unten aufgeführten Testreihen. In diesem Versuch werden die Mäuse in einen Behälter mit Wasser gesetzt und ihr Schwimmverhalten für sechs Minuten beobachtet. Der wichtigste Parameter ist dabei die sogenannte Floating-Zeit, das regungslose Treibenlassen, das mit ängstlichem Verhalten in Verbindung steht.

2.3.3 TST (tail suspension test)

Des Weiteren kann der TST (tail suspension test) angewandt werden (Abb. 9). In diesem Test werden die Mäuse in einer speziellen Apparatur am Schwanz aufgehängt. Innerhalb einer Periode von sechs Minuten wird zwischen einer Erregungsphase und einer Immobilitätsphase unterschieden. Letztere ist gekennzeichnet durch das passive Hängen der Mäuse ohne jegliche Bewegung des Körpers. Ferner stellt die Immobilitätsphase einen Indikator für depressives und ängstliches Verhalten dar (Steru et al. 1985).

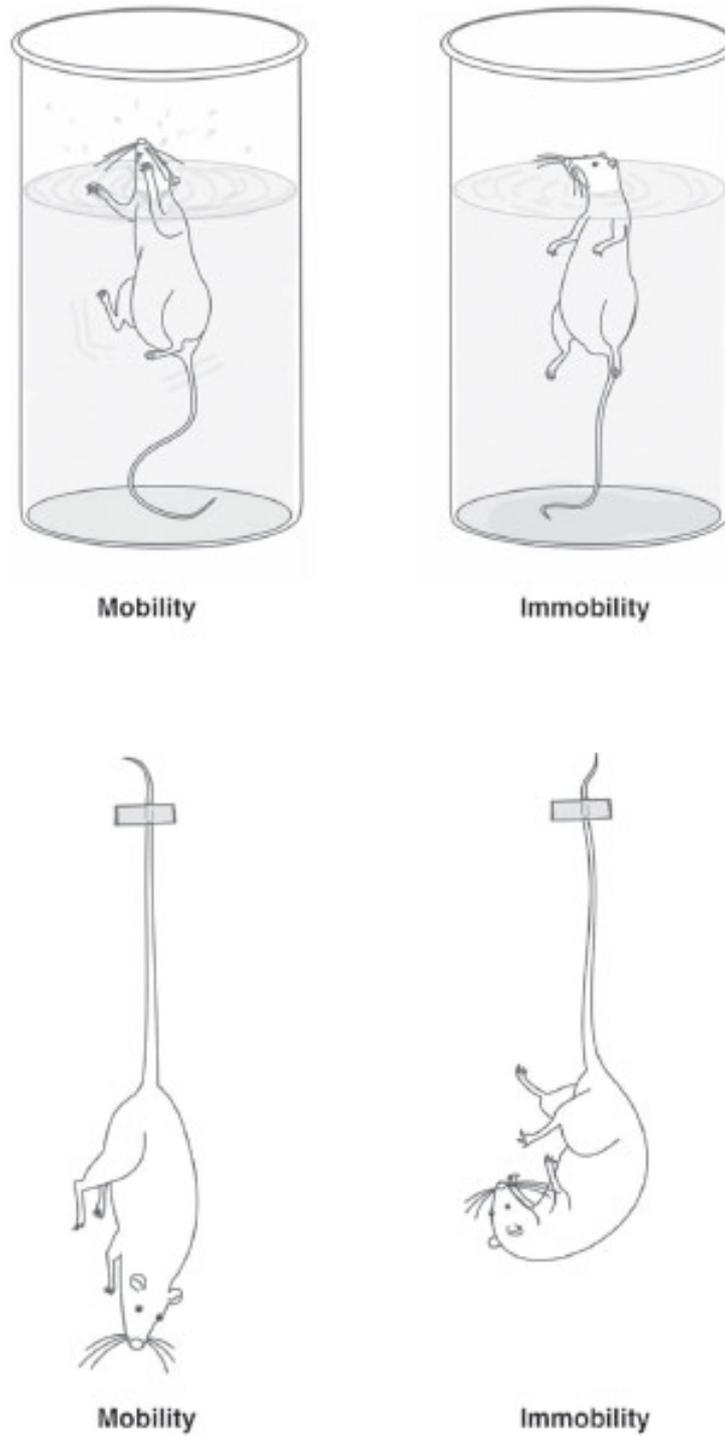


Abbildung 9: Schematische Darstellung der Mobilitäts- (linke Seite) und der Immobilitätsphase (rechte Seite) der Mäuse im forcierten Schwimmtest (oben) und im TST (unten) (Abelaira et al. 2013).

2.3.4 CSM (chronic mild stress)

Depressives Verhalten von Mäusen kann außerdem im CSM (chronic mild stress) untersucht werden. Hierbei werden die Tiere über einen Zeitraum von drei Wochen einer Reihe von unterschiedlichen Stressfaktoren ausgesetzt. Während die ersten CSM-Versuche in den frühen 80er Jahren beispielsweise Elektroschockbehandlungen, das Untertauchen in kaltem Wasser und eine Immobilisation der Nager beinhalteten (Katz et al. 1981), werden heute Nahrungs- und Flüssigkeitsentzug oder Isolation herangezogen (Abelaira 2013). Neben optischen Auffälligkeiten wie der Abnahme der Bewegungsaktivität, des sexuellen oder aggressiven Verhaltens (Chen et al. 2010) liegt der Fokus der Forschung zunehmend auf der Messung von Neurotrophinen.

3. Ziel der Studie

Wie oben aufgeführt, spielt der PI3K-Akt-Signalweg eine entscheidende Rolle in der Pathophysiologie und in der Behandlung von neuropsychiatrischen Erkrankungen. Aufgrund der Tatsache, dass die Phänotypen von GSK3- und PDK1-Knock-out-Mäusen hinsichtlich dieser Thematik bereits bekannt waren, richtete sich die Analyse auf Akt, die das Bindeglied zwischen den beiden genannten Kinasen in der Signalkaskade darstellte. Die aktuelle Studie zielte auf eine differenziertere Erforschung von Akt2- und Akt3-Knock-out-Mäusen in Bezug auf ein depressives und ängstliches Verhaltensmuster ab. Außerdem sollten die Gedächtnisleistung und der Orientierungssinn der Tiere untersucht werden.

Die Ergebnisse sollten in erster Linie einen Beitrag dazu leisten, Erkrankungen aus dem psychiatrischen Formenkreis, wie z. B. Schizophrenie und Depression, besser verstehen zu können. Außerdem können neue Erkenntnisse auf molekularer Ebene die Entwicklung neuer Medikamente begünstigen.

Material und Methoden

3.1 Tiere

Alle Experimente basierten auf den deutschen Gesetzen für das Wohlergehen der Tiere. Außerdem fanden die Versuche mit einer Genehmigung der zuständigen Behörden statt. Die Generierung und die grundlegenden Merkmale der Akt2-defizienten Mäuse wurden bereits im Jahre 2001 beschrieben (Cho 2001). Die durchgeführten Versuche beinhalteten weibliche und männliche Tiere, die unterschiedlichen Alters waren. Die Altersgrenze von zwei Monaten wurde jedoch nicht unterschritten.

Die insgesamt 59 Akt2-Knock-out-Mäuse ($akt2^{-/-}$) und 64 Wildtyp-Mäuse ($akt2^{+/+}$) wurden auf vier Gruppen aufgeteilt:

- Erste Gruppe: 14 $akt2^{-/-}$, 16 $akt2^{+/+}$ -Mäuse
- Zweite Gruppe: 8 $akt2^{-/-}$, 10 $akt2^{+/+}$ -Mäuse
- Dritte Gruppe: 12 $akt2^{-/-}$, 12 $akt2^{+/+}$ -Mäuse
- Vierte Gruppe: 4 $akt2^{-/-}$, 5 $akt2^{+/+}$ -Mäuse

Während der Versuchsaufbau des Achtarmigen Irrgartens 12 $akt2^{-/-}$ und 11 $akt2^{+/+}$ -Mäuse umfasste, waren im Wasserlabyrinth nach Morris 9 $akt2^{-/-}$ und 10 $akt2^{+/+}$ -Mäuse involviert. Bei Beginn dieser Tests waren die Tiere zwischen 8 und 12 Wochen alt.

Bei den Versuchen mit Akt3-Knock-out-Mäusen ($akt3^{-/-}$) wurden bei den Tests das Offene Feld, die Hell-Dunkel-Kammer, das Angehobene Null-Labyrinth und der Porsolt forcierte Schwimmtest mit 10 $akt3^{-/-}$ und 7 $akt3^{+/+}$ -Mäusen analysiert. In den Versuchen des Wasserlabyrinths nach Morris und des Achtarmigen Irrgartens waren insgesamt 15 $akt3^{-/-}$ und 12 $akt3^{+/+}$ -Mäuse involviert.

3.2 Haltung der Tiere und Art der Behandlungen

Die Mäuse wurden in der Tierhaltung des Physiologischen Instituts in Tübingen in einem offenen Regalsystem untergebracht. Die Käfige entsprachen mit einer Größe von 370 cm² bzw. 820 cm² den Typen II und III der in Europa festgelegten Exemplare. Die Käfigschalen waren mindestens einen Zentimeter mit einer Einstreu gefüllt und mit einem Gitter verschlossen. Sie bestanden wie die dort befestigte Trinkflasche aus Polycarbonat und wurden in regelmäßigen Abständen in einem Autoklav sterilisiert. Die Tiere hatten Zugang zu Standardfutter und Leitungswasser ad libitum. Außerdem wurde den Mäusen ein lichtgeschütztes Häuschen (9 x 10 cm) bereitgestellt, um den natürlichen Nestbau zu ermöglichen.

Um sicherzustellen, dass die Versuchszeiten der Tiere ihren Aktivitätsphasen entsprechen, wurden sie während der Verhaltenstests in einem eigenen Raum gehalten, der einen entgegengesetzten Nacht-Tag-Rhythmus vortäuschen sollte. So waren die 24 Stunden pro Tag auf eine Dunkelphase zwischen 7 und 19 Uhr und eine helle Phase zwischen 19 und 7 Uhr aufgeteilt. Ein spezielles Belüftungssystem sorgte für eine relative Luftfeuchtigkeit von 55% und eine konstante Temperatur von 22 °C (+/- 2 °C).

Pro Tag wurde nur eine Versuchsart durchgeführt. Zum Experiment waren die Tiere bereits 30 Minuten vor Versuchsbeginn im entsprechenden Raum, damit Fehlinterpretationen des Verhaltens durch eventuelle Hyperaktivitäten infolge des Transportstresses ausgeschlossen werden konnten. Außerdem wurden Gerüche und Verschmutzungen für die nachfolgende Maus durch eine intensive Reinigung mit 70-prozentigem Alkohol entfernt, um eine negative Beeinflussung der Messung zu vermeiden.

Die Versuche fanden über einen Zeitraum von drei Monaten in folgender chronologischer Reihenfolge statt:

- Test des Offenen Feldes (open field)
- Hell-Dunkel-Kammer (light-dark-box)
- Angehobenes Null-Labyrinth (elevated-O-maze)

- Forcierter Schwimmtest nach Porsolt (forced swimming test)
- Notstandtest (emergence test)
- Test mit neuem Objekt (object exploration test)
- Wasserlabyrinth nach Morris (water maze)
- Achtarmiger Irrgarten (radial maze)

3.3 Videoaufnahmen und Belichtung

Die einzelnen Versuche wurden mit der Kamera 302050-SW-KIT-Cam mit einer Auflösung von 0,62–0,72 Pixel (TSE-Systems, Bad Homburg, Germany) aufgezeichnet. Diese stand mit einem Computer in Verbindung, der die gewonnenen Rohdaten im Programm Microsoft Excel weiterverarbeitete. Somit konnten die Mäuse auf dem Bildschirm verfolgt und verschiedene Parameter, wie Positionen und Geschwindigkeiten, optisch dargestellt und gemessen werden. Die Experimente fanden beinahe alle unter einem indirekten Raumlicht mit dimmbaren Glühbirnen statt. Deren Intensität war so eingestellt, dass im Zentrum der Versuchsplattform weniger als 30 Lux resultierten.

Die einzige Ausnahme in den Versuchsreihen bildete der Test in der Hell-Dunkel-Kammer. Hierbei wurde mit ca. 500 Lux die maximale Lichtintensität benötigt.

3.4 Versuche

3.4.1 Test des Offenen Feldes (open field)

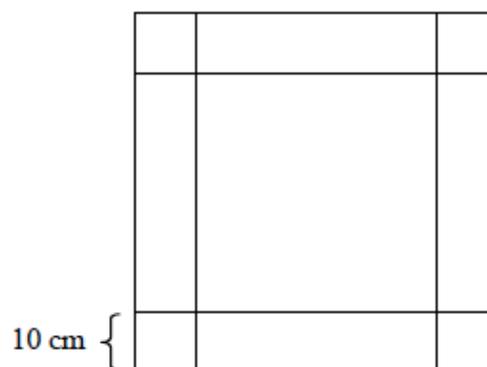


Abbildung 10: Skizze des Versuchsaufbaus des Offenen Feldes.

Der erste Versuchsaufbau war das Offene Feld (open field) (Abb. 10). Hierbei handelte es sich um eine beinahe quadratische Box (Seitenlänge: 50 cm; Höhe 40 cm) aus weißen Spannholzplatten, die auf zwei gegenüberliegenden Seiten mit durchsichtigen PVC (polyvinyl chloride)-Platten unterbrochen waren. Dieses 4 cm große Fenster, welches sich 4 cm über der Bodenplatte befand, war die Durchtrittsöffnung für eine Lichtschranke, welche außen mit einem verstellbaren Rahmen befestigt wurde. Mithilfe dieses Rearing-Systems konnte im Experiment die Anzahl der „Rearings“, des sogenannten „Männchenmachens“ der Mäuse, festgehalten werden. Diese Körperhaltung galt als Hinweis für ein interessantes und mutiges Verhalten und war somit eine wichtige Komponente für die Beurteilung der Angstforschung. Wie oben dargestellt, wurde die Box in einen zentralen Bereich und einen Randbereich unterteilt, der 10 cm von den Wänden entfernt war. Über eine an der Decke befestigte Videokamera wurde die Fläche im Computerprogramm mit einem virtuellen Raster versehen. Dadurch konnten nicht nur die exakten Bewegungsabläufe der Nager verfolgt werden, sondern ermöglichte die Messung der Besuche des Zentrums, der Randregion bzw. der jeweils 10 cm² großen Ecken. Lange Aufenthalte in den äußeren Bereichen waren Indikatoren für ängstliches Verhalten der Tiere, ebenso wie hinterlassene Exkremete und Urinspritzer. Nachdem die Mäuse zu Beginn einer jeden Messung jeweils in dieselbe Ecke gesetzt worden waren, folgte eine 30-minütige Aufnahme.

3.4.2 Hell-Dunkel-Kammer (light-dark-box)

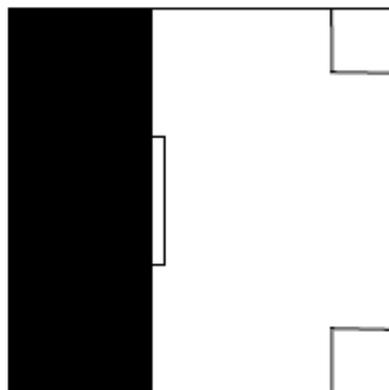


Abbildung 11: Skizze des Versuchsaufbaus der Hell-Dunkel-Kammer

Der Versuchsaufbau der Hell-Dunkel-Kammer (light-dark-box) bestand neben der oben genannten Box des Offenen Feldes zusätzlich aus einem integrierten Kasten, der mit einer Höhe von 40 cm und einer Seitenlänge von 16 cm ca. 33% der Bodenplatte bedeckte. Das Material war aus lichtundurchlässigem schwarzen Acryl. Diesen dunklen Bereich konnten die Mäuse über einen zentral gelegenen Eingang (Länge: 10 cm; Höhe: 11 cm) erreichen. Der Grundriss dieser Anordnung wird in Abbildung 11 veranschaulicht. Jeweils ein virtuelles Quadrat an beiden Ecken diente auch in diesem Versuch zur Analyse des Bewegungsmusters der Mäuse. Ferner konnte der Eingang mit einem dort befindlichen Rechteck überwacht werden. In dem 10-minütigen Experiment stand die Erforschung des Angstverhaltens im Vordergrund, wobei sich ängstliches Verhalten vor allem in vermehrtem Aufenthalt in der dunklen Box und im Eingangsbereich ausdrückte.

3.4.3 Angehobenes Null-Labyrinth (elevated-O-maze)

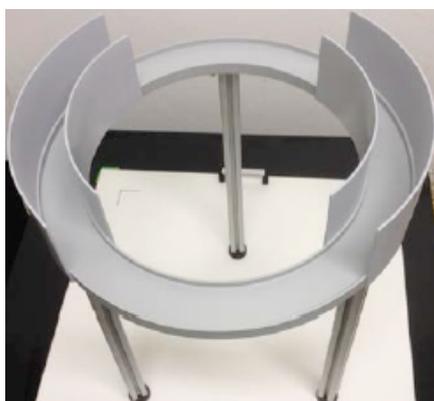


Abbildung 12: Bild des Versuchsaufbaus des Angehobenen Null-Labyrinths

Der Testaufbau des Angehobenen Null-Labyrinths (elevated-O-maze) war ein 5,5 cm breiter Rundweg, der auf vier 40 cm hohen Stelzen befestigt wurde und in vier Sektoren unterteilt war (Abb. 12). Während zwei gegenüberliegende Abschnitte an beiden Seiten von 11 cm hohen Wänden umgeben waren, fehlten an den dazwischenliegenden Bereichen derartige Sicherungen. Die Apparatur hatte einen äußeren Durchmesser von 46 cm und bestand aus einem grauen PVC.

Nachdem die Mäuse auf einen festgelegten Punkt gesetzt worden waren, folgte eine 10-minütige Videoaufzeichnung zur Überwachung des Bewegungsmusters.

Hierbei konnten sehr ängstliche Tiere von anderen Tieren dadurch unterschieden werden, dass sich ihr Aufenthalt vor allem auf die geschützten umwandeten Bereiche beschränkte. Eine hohe Anzahl gewagter Blicke nach unten in die Tiefe war hingegen ein entscheidender Indikator für furchtloses Verhalten. Dabei konnte ein geschütztes und ein mutigeres ungeschütztes Kopfnicken unterschieden werden. Während sich beim geschützten Nach-unten-Schauen der Körper immer noch in dem umwandeten Abschnitt befand, war beim ungeschützten Kopfnicken der komplette Körper des Tieres im ungeschützten Bereich.

3.4.4 Forcierter Schwimmtest nach Porsolt (forced swimming test)



Abbildung 13: Bild des Versuchsaufbaus des Forcierten Schwimmtests nach Porsolt

Für den Versuch des Forcierten Schwimmtests (forced swimming test) nach Porsolt wurde ein 30 cm hoher Wasserbehälter mit einem Durchmesser von 20 cm verwendet (Abb. 13). Damit die Mäuse nicht Gefahr liefen auszukühlen, betrug die Wassertemperatur zwischen 24 und 26 °C.

Dieser Test wurde auf 6 Minuten festgelegt. Das sogenannte Floating, bei dem die Mäuse regungslos im Wasser treiben, war hierbei ein wichtiger Parameter für ängstliches Verhalten (Machado-Vieira et al. 2004). Falls es einem Tier nicht gelang, sich in der vorgegebenen Zeit über Wasser zu halten, wurde der Ver-

such sofort abgebrochen und die Maus zurück in ihren Käfig gesetzt. Nach dem Experiment befanden sich die Tiere zum Aufwärmen und Trocknen unter einer Wärmelampe.

3.4.5 Notstandstest (emergence test)

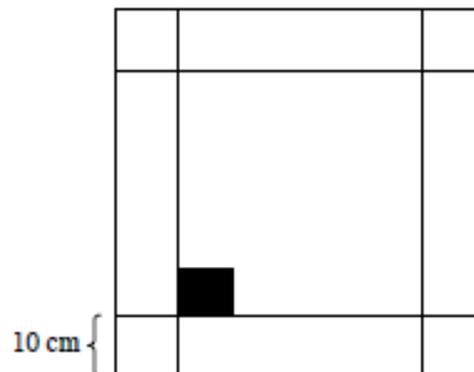


Abbildung 14: Skizze des Versuchsaufbaus des Notstandstests

Ein weiteres Experiment zur Messung des Angstverhaltens, welches in Abbildung 14 dargestellt ist, war der Notstandstest (emergence test), modifiziert nach Dulawa et al. (Diez et al. 2012). In der bereits oben beschriebenen Box des Offenen Feldes wurde mit Klebeband ein Häuschen befestigt. Dieses war 10 cm lang, 9 cm breit und mit zwei Eingängen versehen, die wiederum 3 cm lang und 3,5 cm breit waren. Dabei ist zu beachten, dass für jede einzelne Maus das individuelle Häuschen des eigenen Käfigs verwendet wurde, um ihr einen vertrauten Platz in der sonst fremden Umgebung zu ermöglichen. Während die „mutigen“ Tiere innerhalb der vorgegebenen Zeit von 30 Minuten die unbekannte Peripherie erkundeten, verließen „schreckhafte“ Mäuse das Häuschen eher selten oder kehrten öfter dahin zurück.

3.4.6 Test mit neuem Objekt (object exploration test)

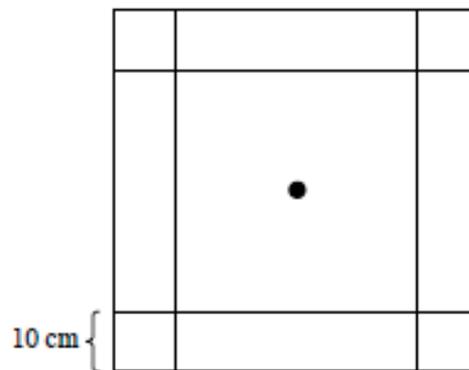


Abbildung 15: Skizze des Versuchsaufbaus des Tests mit neuem Objekt

Der Test mit neuem Objekt (object exploration test), dessen Aufbau ebenfalls gemäß der veränderten Fassung nach Dulawa et al. (Diez 2012) erfolgte, sollte das Verhalten der Tiere analysieren, wenn diese mit einem unbekanntem Gegenstand konfrontiert wurden. Die Aufbausskizze kann Abbildung 15 entnommen werden. Anfänglich wurde die Maus in der bereits vorgestellten Box für 30 Minuten beobachtet. In dieser Zeit konnte sie sich an ihre Umgebung gewöhnen. Anschließend wurde das Tier kurzzeitig aus der Box genommen, bis ein farbiger, 4 cm großer Plastikdeckel eines Reagenzglases in der Mitte der Plattform mit einem Klebeband angebracht worden war. Nachdem die Maus erneut in die Box gesetzt worden war, erfolgte eine zweite Überwachung für weitere 30 Minuten. Ein gewichtiges Kriterium für ein interessiertes und mutiges Verhalten der Mäuse war das Berühren des Deckels mit der Nasenspitze.

3.4.7 Wasserlabyrinth nach Morris (water maze)

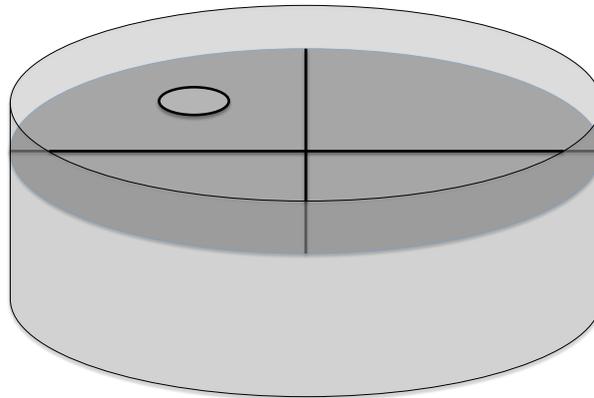


Abbildung 16: Skizze des Versuchsaufbaus des Wasserlabyrinths nach Morris

Ein Stahlbecken mit einem Durchmesser von 150 cm stellte den Versuchsort des Wasserlabyrinths nach Morris (water maze) dar (Abb. 16). Dabei wurde die ursprüngliche Methode im Umgang mit den Mäusen herangezogen (Dulawa et al. 1999, Mohajeri et al. 2004). Der Behälter war bis zu einer Höhe von ca. 20 cm mit 24–26 °C warmem Wasser gefüllt. Des Weiteren befand sich in ihm eine runde Plattform ($d = 15 \text{ cm}$), die einen halben Zentimeter unterhalb der Wasseroberfläche montiert wurde. Daraufhin wurde das Wasser mit einer weißen, opaken Flüssigkeit vermengt, um die exakte Lage der Plattform unsichtbar zu gestalten.

Der Versuch wurde unterteilt in eine Lernphase und eine Umstellungsphase. Die erste Phase erstreckte sich über einen Zeitraum von drei Tagen, mit jeweils sechs Versuchsreihen pro Tag. Dabei startete an einem Tag jede einzelne Maus von sechs verschiedenen Startpunkten im Becken.

Das Ziel der Übung war es, dass die Tiere trotz unterschiedlicher Anfangsposition die im Wasser befindliche Plattform erreichen. Hierfür wurden gezielt Erinnerungsvermögen und Gedächtnisleistungen der Mäuse beansprucht. In der Umstellungsphase mussten sich die Nager binnen kurzer Zeit auf eine neue Situation einstellen, nachdem die Plattform für die restlichen zwölf Durchgänge

an den darauffolgenden zwei Tagen in den gegenüberliegenden Quadranten des Beckens positioniert worden war.

Jeder einzelne Versuch wurde entweder durch das Erreichen der Plattform beendet, oder das Tier wurde nach Nichterreichen der Ebene binnen 120 Sek. aus den Becken entfernt. Der Testlauf galt erst dann als erfolgreich, sobald die Maus 5 Sek. auf der Plattform verweilt war.

Während des gesamten Experiments dienten den schwimmenden Nagern ein Metallregal in der Ecke des Zimmers sowie an den Beckenrand befestigte geometrische Zeichen als Orientierungshilfe. Diese unterschieden sich zudem in Form und Farbe.

Sowohl zu Beginn als auch am Ende des Versuchs wurden die Tiere mit einer an einer Stange befestigten löchrigen Plastikplatte transportiert. Dieser Vorgang geschah ohne jegliches Drängen der Tiere durch den eigenständigen Gang auf die Platte. Somit konnte sichergestellt werden, dass die Mäuse nicht unter Stressbeteiligung manuell gefangen werden mussten.

Die Versuchsauswertung erfolgte durch Auswertung verschiedener Faktoren, wie z. B. der Zeit, der Distanz, des Aufenthalts in Randregionen und der Schnelligkeit der Mäuse.

3.4.8 Achtarmiger Irrgarten (radial maze)

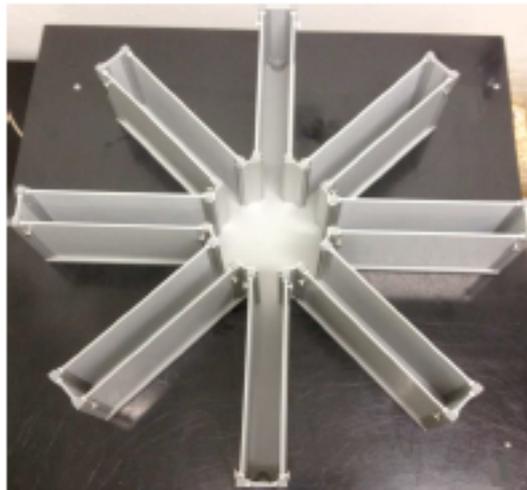


Abbildung 17: Bild des Versuchsaufbaus des Achtarmigen Irrgartens

Mithilfe einer speziellen Apparatur aus PVC wurden im Achtarmigen Irrgarten (radial maze) vor allem der Orientierungssinn und das Erinnerungsvermögen der Tiere getestet. Der Aufbau (Abb. 17) wurde auf einem Tisch in 75 cm Höhe befestigt und bestand aus einem Oktagon mit einem Umkreisdurchmesser von 18,5 cm. An dessen Kanten waren wiederum strahlenförmig acht 38 cm lange Gänge angeordnet. Am Ende eines jeden Gangs war auf Kopfhöhe der Nager ein kleiner Behälter angebracht, welcher vor Versuchsbeginn mit Futter gefüllt wurde. Mit einer Wandhöhe von 15 cm wurde sichergestellt, dass sich die Mäuse in der neuen Umgebung nicht an äußeren Punkten orientieren konnten.

Vor Versuchsbeginn wurde das Gewicht der Mäuse auf etwa 85% des Ausgangskörpergewichts reduziert, wobei täglich sowohl das Gewicht als auch der entsprechende Ernährungs- und Kräftezustand kontrolliert wurde. Aufgrund des entstehenden Hungerempfindens wurden die Tiere im Test überdurchschnittlich zur Futtersuche angeregt. Nachdem sich das oben genannte Gewicht der Mäuse stabilisiert hatte, wurde zunächst ein zweitägiger Trainingsdurchgang abgehalten, bevor die Messungen registriert wurden. Die folgenden Testreihen erstreckten sich über einen Zeitraum von 10 Tagen.

Vor Versuchsbeginn wurde jede einzelne Schüssel am Ende der Gänge mit einem herkömmlichen Hirsekorn gefüllt. Im Folgenden wurde die Maus in die Mitte des Oktagons gesetzt und die Messung gestartet. Das Ziel der Übung war jedes einzelne Korn in einer möglichst kurzen Zeit zu verzehren. Der Test wurde nach maximal 10 Minuten beendet oder sobald sich kein Korn mehr in den Behältern befand.

Folgende Parameter wurden bei diesem Test erhoben: Zu Beginn wurde bis zum Auftreten des ersten Fehlers die Anzahl der korrekten Gangbesuche ermittelt, welche einem Gangbesuch mit erfolgter Nahrungsaufnahme entsprachen. Außerdem wurde die Gesamtzahl der Fehler in Form von Gangbesuchen mit fehlender Nahrungsaufnahme registriert. Zudem wurde die Zahl der Erinnerungsfehler dokumentiert; darunter ist zu verstehen, dass das Tier einen Gang betrat, in dem es das Hirsekorn bereits verzehrt hatte. Neben der Anzahl der gesammelten Körner war außerdem der gemessene Winkel zwischen den benutzten Gängen ein Bestandteil der Untersuchung. So wurde einerseits der Durchschnittswinkel aller Winkel erhoben, andererseits der bevorzugte Winkel der Mäuse mit seinem Verhältnis zur Gesamtzahl der Winkel ermittelt. Falls ein Nagetier einen Gang betrat, ohne die Nahrung aufzunehmen, stellte dies ebenfalls einen weiteren Parameter dar.

3.5 Statistische Analyse

Die statistischen Berechnungen erfolgten mit der Software PASW von SPSS auf dem Betriebssystem Windows. Zur grafischen Darstellung der Vergleichsgruppen wurde die Statistiksoftware Graph Pad Prism genutzt. Als signifikant gelten die Ergebnisse mit einem p-Wert $< .05$ ($p < 0.05$).

4. Ergebnisse

4.1 Offenes Feld

4.1.1 Akt2

Im Offenen Feld konnten mehrere signifikante Unterschiede zwischen den beiden Mausgruppen festgestellt werden. Während die Durchschnittsgeschwindigkeit der *akt2^{-/-}*-Mäuse mit $p = .0597$ beinahe signifikant kleiner war (Abb. 18A), war vor allem die zurückgelegte Gesamtstrecke gegenüber den *akt2^{+/+}*-Mäusen deutlich herabgesetzt ($p = .0183$) (Abb. 18B).

Zudem hielten sich die *akt2^{-/-}*-Mäuse bezeichnend länger ($p = .0001$) in Randgebieten auf (Abb. 18C), wobei in diesen Bereichen die zurückgelegte Strecke bei den *akt2^{+/+}*-Mäusen bedeutend länger ($p = .0265$) war (Abb. 18D). Des Weiteren konnte bei den *akt2^{-/-}*-Mäusen ein signifikant längerer Aufenthalt mit $p < .0001$ in den Ecken des Versuchsaufbaus beobachtet werden (Abb. 18E). Außerdem besuchten sie gegenüber den *akt2^{+/+}*-Mäusen wesentlich seltener ($p = .0024$) das Zentrum des Offenen Feldes (Abb. 18F). Dies wirkte sich nicht nur auf eine wesentlich geringere Gesamtzeit im zentralen Bereich aus, sondern auch auf eine bedeutend geringere zurückgelegte Distanz.

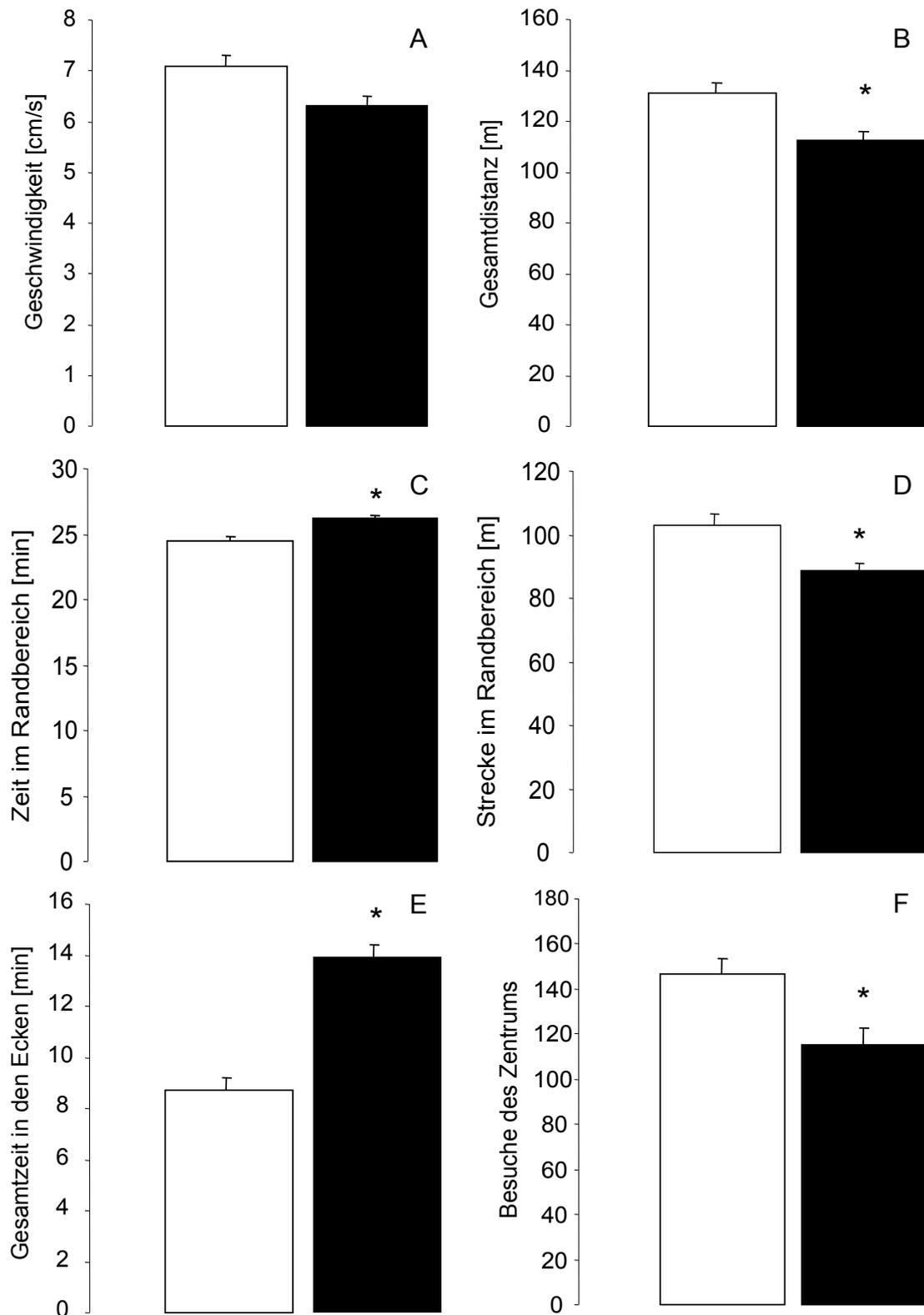


Abbildung 18: Analysen des Verhaltens der *akt2*^{-/-}- und wt(wild type)-Mäuse im Test des Offenen Feldes.

n = 38 *akt2*^{-/-}-Mäuse (schwarzer Balken), 43 wt-Mäuse (weißer Balken).

* zeigt einen statistisch signifikanten Unterschied (p < .05) zu den Wildtyp-Mäusen an.

A: Durchschnittsgeschwindigkeit ($p = .0597$; Mann-Whitney-Test). B: Zurückgelegte Gesamtstrecke ($p = .0183$; Mann-Whitney-Test). C: Aufenthaltszeit im Randbereich ($p < .0001$; t-Test). D: Zurückgelegte Strecke im Randbereich des Offenen Feldes ($p = .0265$; Mann-Whitney-Test). E: Aufenthaltszeit in den Ecken des Offenen Feldes ($p < .0001$; t-Test). F: Anzahl der Besuche des Zentrums ($p = .0024$; t-Test).

Die Auswertungen des Rearing-Verhaltens, bei dem sich die Mäuse auf ihre Hinterbeine stellen, sind in folgender Tabelle dargestellt.

Tabelle 1: Rearing-Verhalten der $akt2^{-/-}$ - und wt-Mäuse im Offenen Feld

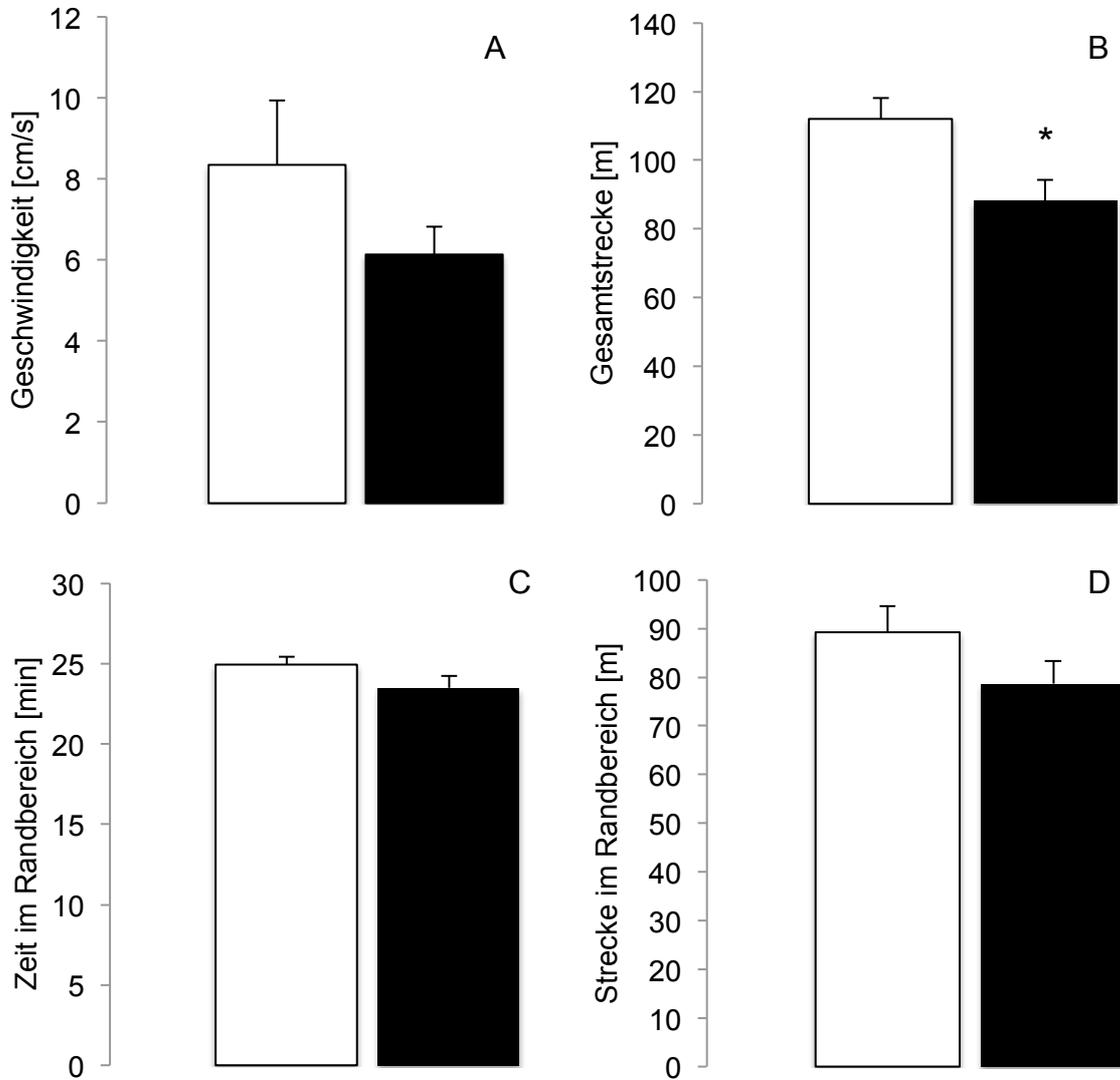
Rearing-Parameter im Offenen Feld	$akt2^{+/+}$ -Mäuse	$akt2^{-/-}$ -Mäuse	Statistik
Anzahl der Rearings in der Grenzregion	303.09 ± 6.00	277.11 ± 8.37	$p = .0092$; Mann-Whitney-Test
Rearing-Zeit in der Grenzregion [min]	16.51 ± 0.40	12.60 ± 0.48	$p < .0001$; t-Test
Verhältnis Zeit/Rearing in der Grenzregion [s/Rearing]	3.33 ± 0.11	2.74 ± 0.09	$p = .0003$; Mann-Whitney-Test
Anzahl der Rearings im Zentrum [min]	82.30 ± 4.42	52.92 ± 4.72	$p < .0001$; t-Test
Rearing-Zeit im Zentrum [min]	3.08 ± 0.18	1.79 ± 0.19	$p < .0001$; t-Test
Verhältnis Zeit/Rearing im Zentrum [s/Rearing]	2.34 ± 0.10	1.93 ± 0.09	$p = .0060$; t-Test

n = 38 $akt2^{-/-}$ -Mäuse, 43 wt-Mäuse.

4.1.2 Akt3

Die Versuche der $akt3^{-/-}$ -Mäuse im Offenen Feld lieferten folgende Ergebnisse. Die Durchschnittsgeschwindigkeit (Abb. 20A) ergab bei den $akt3^{-/-}$ -Mäusen einen niedrigeren Wert ($p = .179$) als bei den Wildtieren. In erster Linie zeigten $akt3^{-/-}$ -Mäuse jedoch einen signifikant kleineren Wert mit $p = .018$ bezüglich der Gesamtstrecke (Abb. 20B). Im Randbereich waren die Wildtyp-Mäuse länger ($p = .158$) unterwegs (Abb. 20C) und legten dabei mehr Strecke ($p = .161$) (Abb. 20D) zurück. Dieses Übergewicht der Aufenthaltszeit der Wildtyp-Mäuse konnte auch speziell in den Ecken des Aufbaus beobachtet werden ($p = .341$) (Abb. 20E). Die Anzahl der Besuche des Zentrums war bei den Knock-out-Tieren kleiner ($p = .741$) (Abb. 20F). Zusätzlich waren bei den $akt3^{-/-}$ -Mäusen

sowohl die Zahl an Urinspritzern ($p = .126$) (Abb. 20G) als auch die Anzahl an Exkrementen ($p = 1,03$) (Abb. 20H) gegenüber den Wildtyp-Mäusen deutlich erhöht.



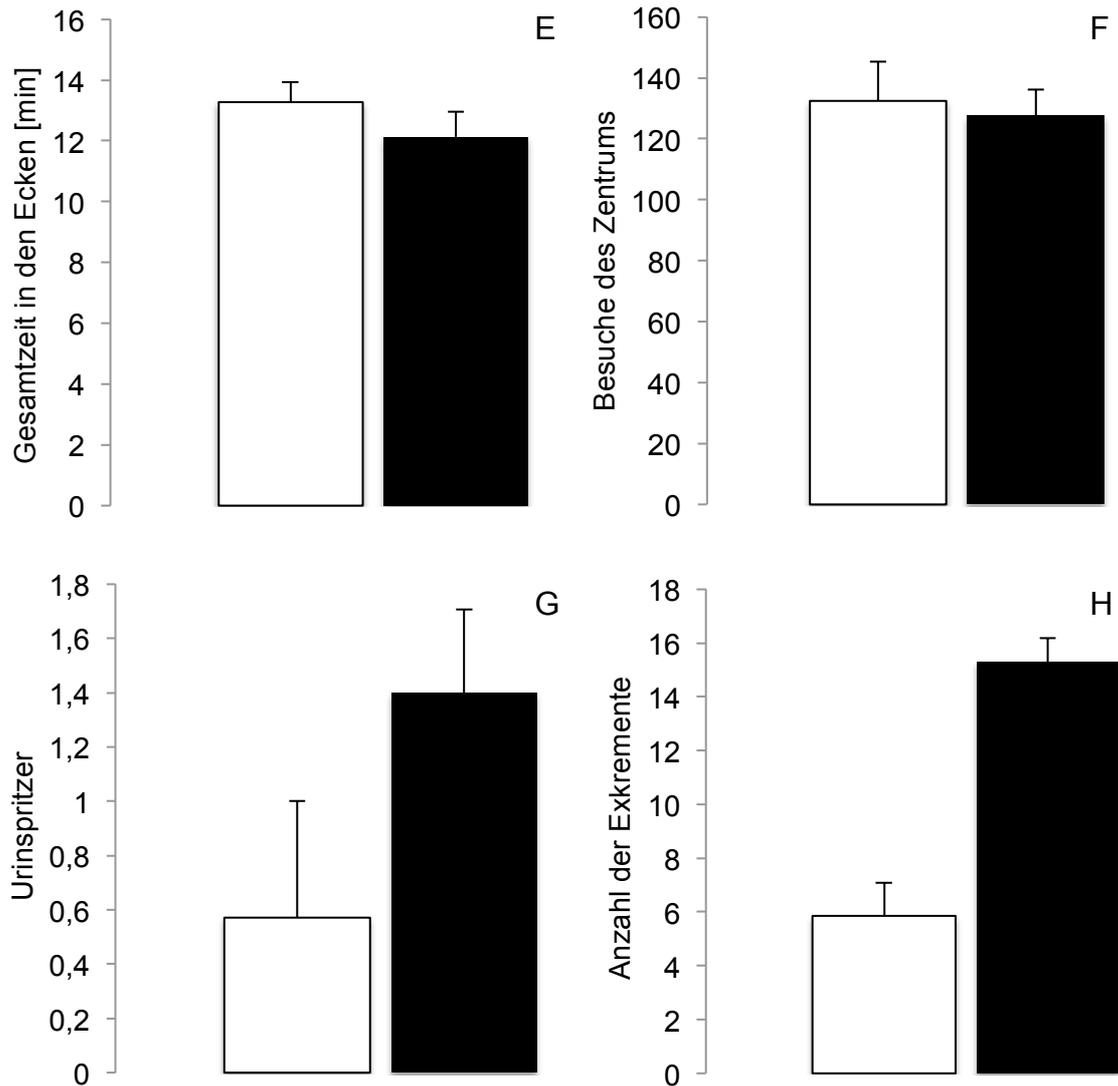


Abbildung 19: Analysen des Verhaltens der *akt3*^{-/-}- und wt-Mäuse im Test des Offenen Feldes. n = 10 *akt3*^{-/-}-Mäuse (schwarzer Balken), 7 wt-Mäuse (weißer Balken).

* zeigt einen statistisch signifikanten Unterschied ($p < .05$) zu den Wildtyp-Mäusen an.

A: Geschwindigkeit ($p = .179$; t-Test). B: Gesamtstrecke ($p = .018$; t-Test). C: Zeit im Randbereich ($p = .158$; t-Test). D: Strecke im Randbereich ($p = .161$; t-Test). E: Gesamtzeit in den Ecken ($p = .341$; t-Test). F: Besuche des Zentrums ($p = .741$; t-Test). G: Anzahl der Urinspritzer ($p = .126$; t-Test). H: Anzahl der Exkremente ($p = 1,029$; t-Test).

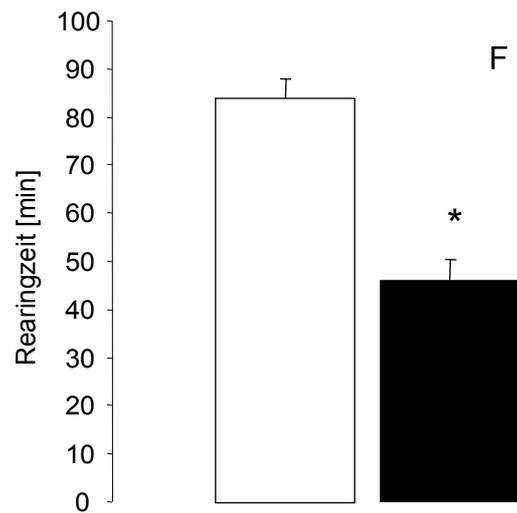
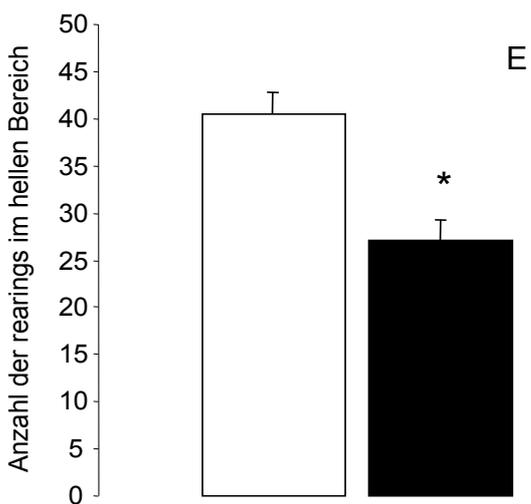
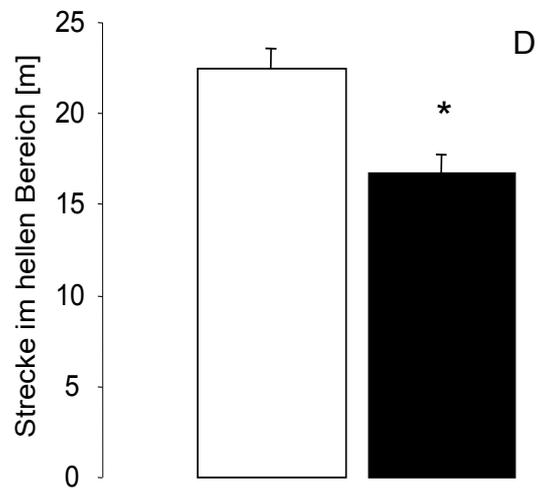
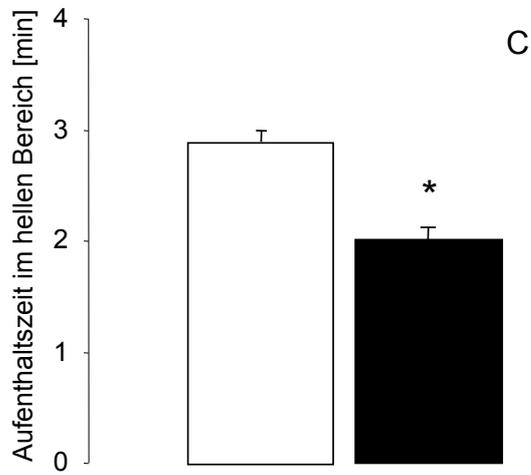
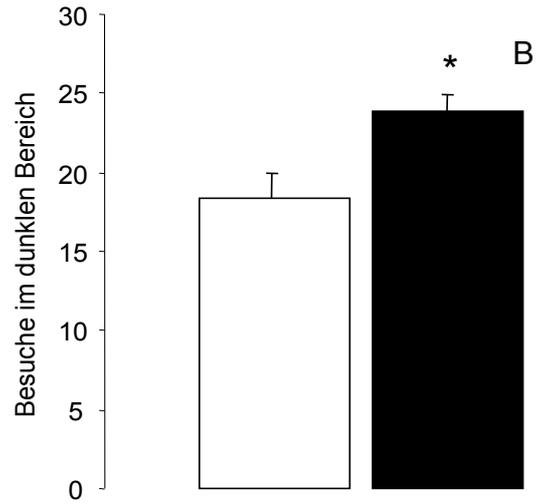
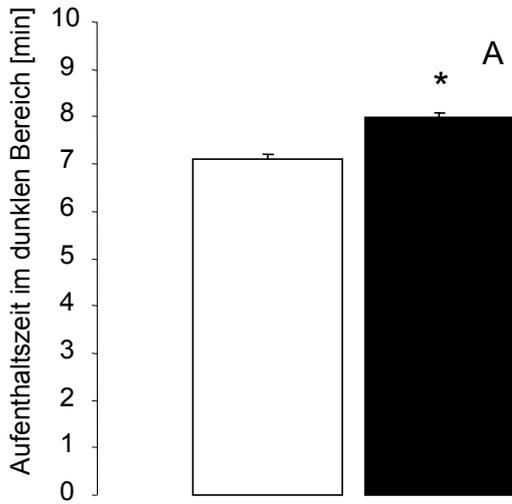
4.2 Hell-Dunkel-Kammer

4.2.1 Akt2

In der Hell-Dunkel-Kammer konnte das differierende Verhalten von Knock-out- und Wildtyp-Mäusen in divergent beleuchteten Bereichen bestimmt werden. Neben einem erheblich längeren Aufenthalt ($p = <.0001$) (Abb. 21A) suchten die $akt2^{-/-}$ - gegenüber den $akt2^{+/+}$ -Mäusen signifikant öfter ($p = .0053$) den dunkleren Abschnitt auf (Abb. 21B). In den helleren Segmenten konnte eine geringere Aufenthaltszeit ($p = <.0001$) (Abb. 21C) und eine kürzere zurückgelegte Strecke ($p = .0004$) (Abb. 21D) der $akt2^{-/-}$ - im Vergleich zu den $akt2^{+/+}$ -Mäusen festgestellt werden.

Darüber hinaus konnte eine beträchtliche Abweichung im Rearing-Verhalten gezeigt werden. Verglichen mit $akt2^{+/+}$ -Mäusen ist bei den $akt2^{-/-}$ -Mäusen die auffallend geringe Zahl des „Männchenmachens“ in den beleuchteten Bereichen zu nennen (Abb. 21E). Ebenfalls wurde sowohl bei der Gesamtzeit des Rearings ($p = <.0001$) (Abb. 21F) als auch beim Verhältnis zwischen der durchschnittlichen Zeit und der Anzahl des „Männchenmachens“ ($p = .0195$) ein deutlich kleinerer Wert bei den $akt2^{-/-}$ -Mäusen eruiert (Abb. 21G).

Im abgedunkelten Bereich war es auffällig, dass sich trotz des längeren Aufenthalts der $akt2^{-/-}$ -Mäuse (Abb. 21H) die Wildtyp-Mäuse beinahe signifikant öfter ($p = .0559$) auf die Hinterbeine stellten (Abb. 21I). Im Gegensatz dazu wiesen die erhobenen Werte im Bereich des Eingangs zur Dunkelkammer Signifikanzen auf. Die Werte der Knock-out-Mäuse in diesem Bereich sind gegenüber den Wildtyp-Mäusen hinsichtlich der Besuche ($p < .0001$) (Abb. 21J), der Aufenthaltszeit ($p = .0021$) (Abb. 21K) und der zurückgelegten Strecke ($p = .0067$) (Abb. 21L) signifikant größer.



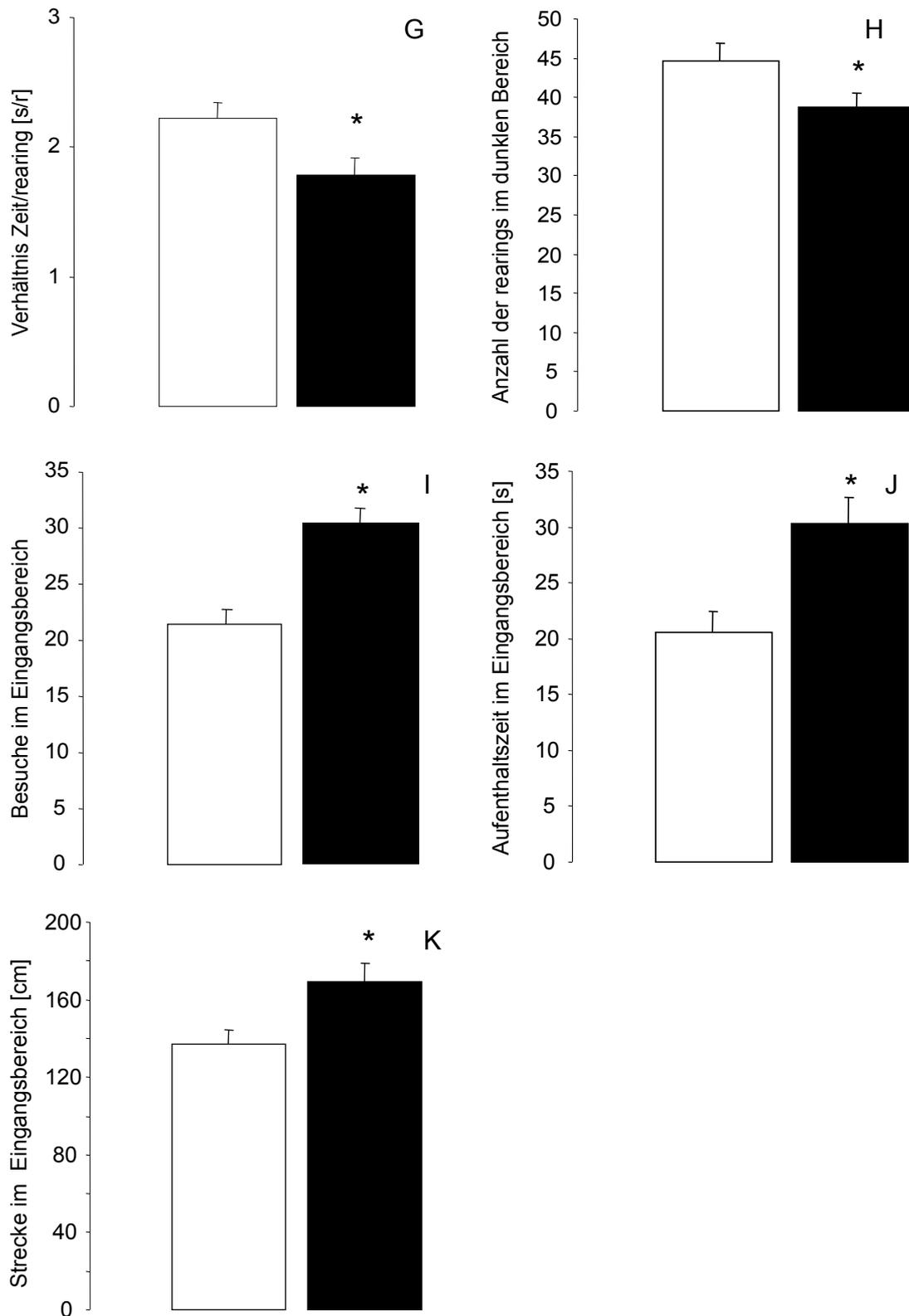


Abbildung 20: Analysen des Verhaltens der *akt2*^{-/-}- und wt-Mäuse in der Hell-Dunkel-Kammer.

n = 31 *akt2*^{-/-}-Mäuse (schwarzer Balken), 38 wt-Mäuse (weißer Balken).

* zeigt einen statistisch signifikanten Unterschied (p < .05) zu den Wildtyp-Mäusen an.

A: Aufenthaltszeit im geschützten/dunklen Bereich der Box ($p < .0001$; t-Test). B: Anzahl der Besuche im geschützten/dunklen Bereich ($p = .0053$; Mann-Whitney-Test). C: Aufenthaltszeit im ungeschützten/hellen Bereich ($p < .0001$; t-Test). D: Zurückgelegte Strecke im ungeschützten/hellen Bereich ($p = .0004$; t-Test). E: Anzahl des „Männchenmachens“ im ungeschützten/hellen Bereich ($p = .0002$; t-Test). F: Durchschnittliche Dauer des „Männchenmachens“ ($p < .0001$; t-Test). G: Verhältnis zwischen der durchschnittlichen Zeit des „Männchenmachens“ und der Anzahl des „Männchenmachens“ ($p = .0195$; t-Test). H: Anzahl des „Männchenmachens“ im geschützten/dunklen Bereich ($p = .0559$; Mann-Whitney-Test). I: Durchschnittliche Besuche im Eingangsbereich der dunklen Box ($p < .0001$; t-Test). J: Durchschnittliche Aufenthaltszeit im Eingangsbereich der dunklen Box ($p = .0021$; t-Test). K: Zurückgelegte Strecke im Eingangsbereich der dunklen Box ($p = .0067$; t-Test).

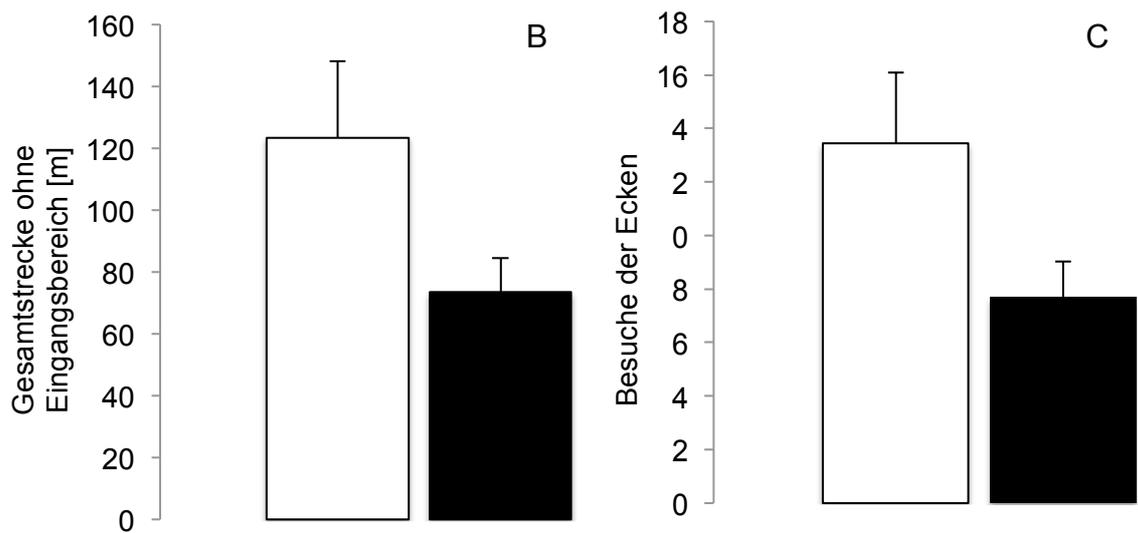
4.2.2 Akt3

Die Auswertung der Versuche mit den *akt3*^{-/-}-Mäusen in der Hell-Dunkel-Kammer ließ erkennen, dass diese im hellen, ungeschützten Bereich sowohl hinsichtlich der Zeit ($p = .0797$) als auch in Bezug auf die zurückgelegte Strecke ($p = .0879$) geringere Werte aufwiesen als die Wildtyp-Mäuse. Diese Unterschiede werden noch deutlicher bei Betrachtung des hellen Abschnitts ohne Eingangsbereich (Abb. 22A). Während die *akt3*^{-/-}-Mäuse in Bezug auf die Gesamtstrecke im hellen Bereich zu 29 % der Strecke im Eingangsbereich zurücklegten, wurde bei den *akt3*^{+/+}-Mäusen ein Wert von 20 % ermittelt. Bezüglich der Aufenthaltszeit verbrachten die Knock-out-Mäuse 46 % ihrer Zeit außerhalb der dunklen Kammer im Eingangsbereich. Für die Vergleichsgruppe der Wildtyp-Mäuse wurde hingegen ein Wert von 29 % ermittelt. Dies spiegelt sich auch im absoluten Wert der Gesamtstrecke ohne Eingangsbereich ($p = .0571$) wider (Abb. 22B).

Ähnliche Unterschiede konnten vor allem bei den Besuchen in den Ecken des hellen Bereichs ($p = .0517$) ermittelt werden, die am weitesten vom Eingang der dunklen Kammer entfernt waren (Abb. 22C). Außerdem hielten sich die *akt3*^{-/-}-Mäuse deutlich länger ($p = .0805$) im geschützten dunklen Areal auf (Abb. 22D).

A

	Gesamtstrecke im hellen Bereich [m]	Gesamtstrecke ohne Eingangsbereich [m]	Verhältnis Gesamtstrecke ohne Eingangsbereich/ Gesamtstrecke [%]
wt-Mäuse	154	123	80
<i>akt3</i> ^{-/-} -Mäuse	103	73	71
	Gesamtzeit im hellen Bereich [min]	Gesamtzeit ohne Eingangsbereich [min]	Verhältnis Gesamtzeit ohne Eingangsbereich/ Gesamtzeit [%]
wt-Mäuse	3,8	2,7	71
<i>akt3</i> ^{-/-} -Mäuse	2,8	1,5	54



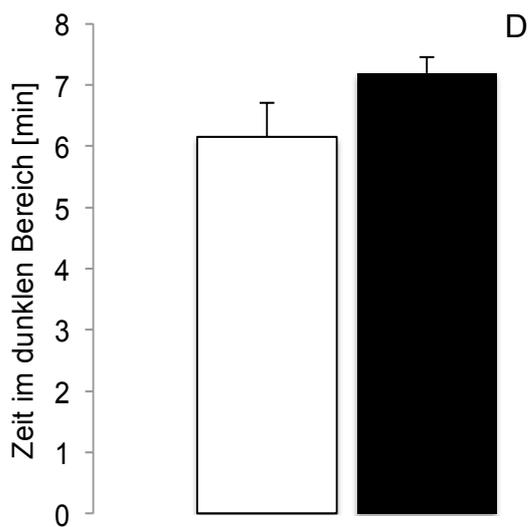


Abbildung 21: Analysen des Verhaltens der *akt3*^{-/-}- und wt-Mäuse in der Hell-Dunkel-Kammer.

n = 10 *akt3*^{-/-}-Mäuse (schwarzer Balken), 7 wt-Mäuse (weißer Balken).

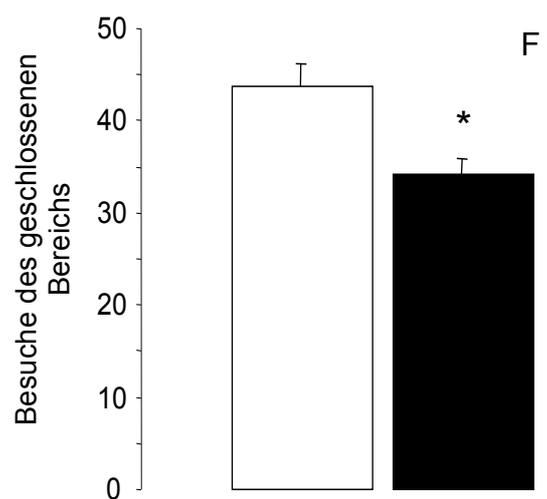
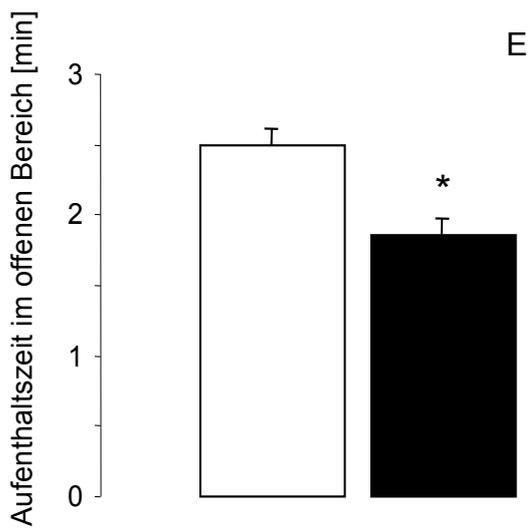
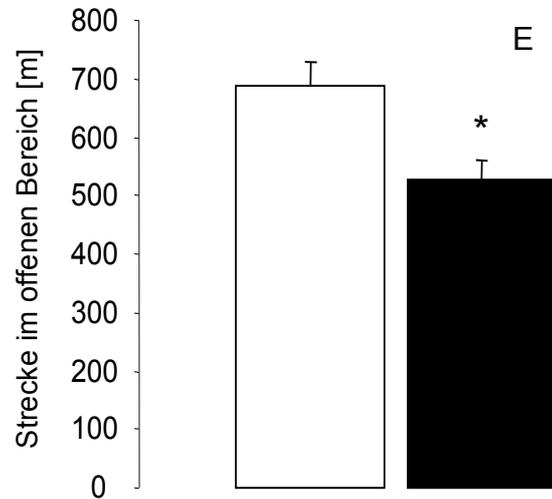
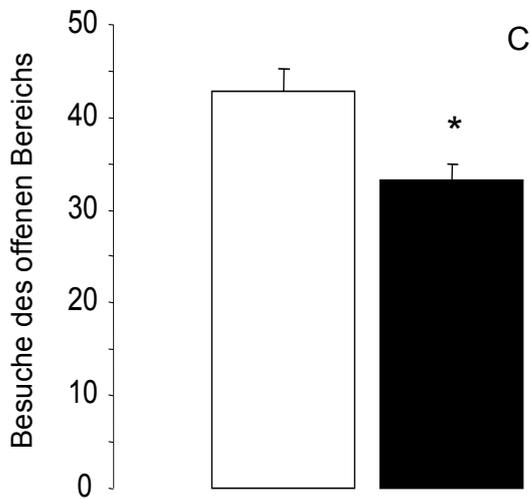
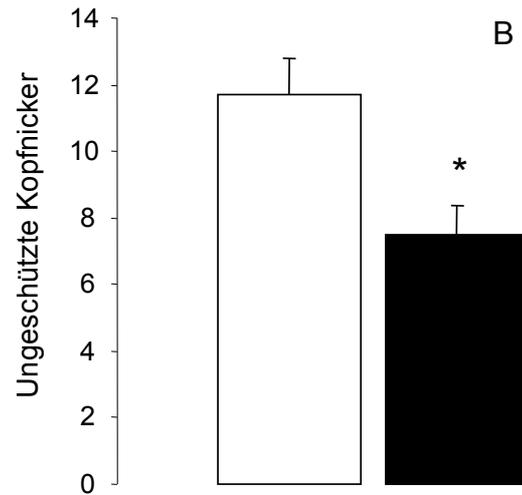
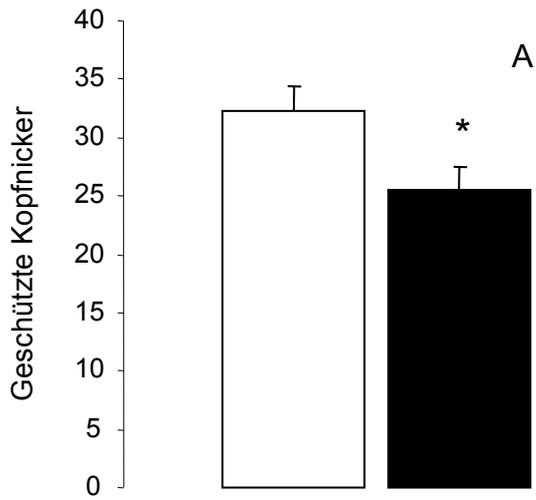
A: Verhältnis Gesamtstrecke ohne Eingangsbereich/Gesamtstrecke [%]. B: Gesamtstrecke im hellen Bereich ohne Eingangsbereich (p = .0571; t-Test). C: Besuche der Ecken (p = 0517; t-Test). D: Zeit im dunklen Bereich (p = .0805; t-Test).

4.3 Angehobenes Null-Labyrinth

4.3.1 Akt2

Im Angehobenen Null-Labyrinth übten die *akt2*^{-/-}-Mäuse sowohl das geschützte (p < .0261) (Abb. 23A) als auch das ungeschützte (Abb. 23B) Nach-unten-Schauen wesentlich seltener aus (p = .008). Zudem konnte beobachtet werden, dass die Wildtyp-Mäuse signifikant häufiger (p = .0095) die offenen Bereiche besuchten (Abb. 23C). Entsprechende Ergebnisse zeigten sich bezüglich der zurückgelegten Strecke (p = .0049) (Abb. 23D) und der Aufenthaltszeit im ungeschützten Abschnitt (p = .0005) (Abb. 23E).

Dementsprechend besuchten die *akt2*^{+/+}-Mäuse wiederum die umwandeten Areale bedeutend häufiger (p = .0095) als die *akt2*^{-/-}-Mäuse (Abb. 23F). Obwohl die *akt2*^{-/-}-Mäuse wesentlich mehr Zeit (p = .0005) in den geschützten Bereichen verbrachten (Abb. 23G), legten beide Gruppen annähernd die gleiche Strecke zurück (p = .301) (Abb. 23H).



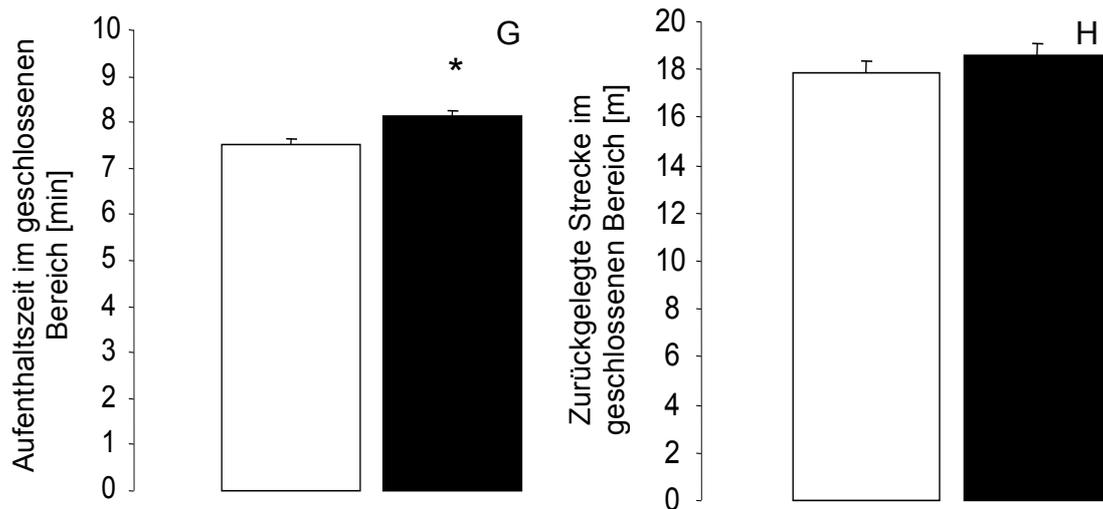


Abbildung 22: Analysen des Verhaltens der *akt2*^{-/-}- und wt-Mäuse im Angehobenen Null-Labyrinth.

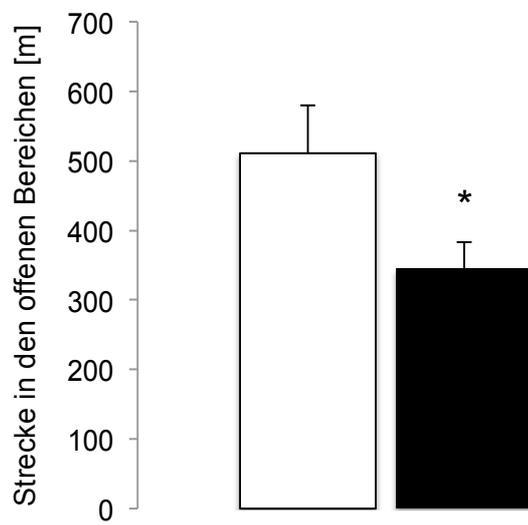
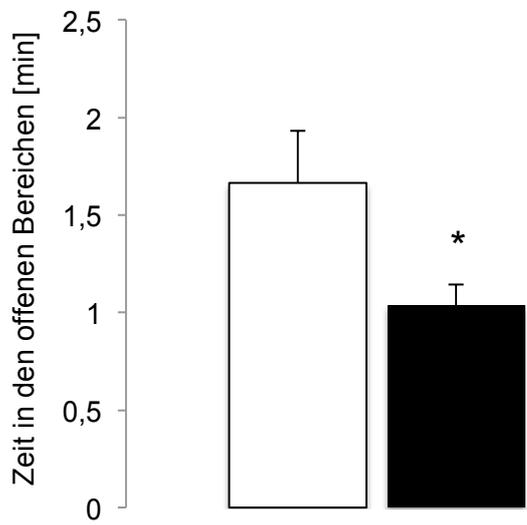
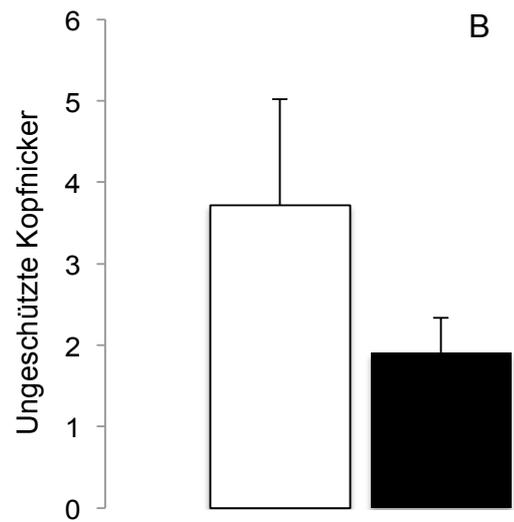
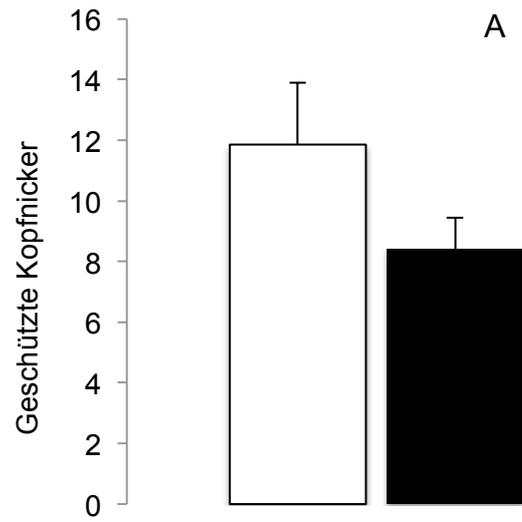
n = 31 *akt2*^{-/-}-Mäuse (schwarzer Balken), 38 wt-Mäuse (weißer Balken).

* zeigt einen statistisch signifikanten Unterschied ($p < .05$) zu den Wildtyp-Mäusen an.

A: Anzahl der geschützten Kopfnicker ($p < .0261$; t-Test). B: Anzahl der ungeschützten Kopfnicker ($p = .008$; Mann-Whitney-Test). C: Anzahl der Besuche der offenen Bereiche ($p = .0095$; Mann-Whitney-Test). D: Zurückgelegte Strecke in den offenen Bereichen ($p = .0049$; Mann-Whitney-Test). E: Aufenthaltszeit in den offenen Bereichen ($p = .0005$; t-Test). F: Anzahl der Besuche der geschlossenen Bereiche ($p = .0095$; Mann-Whitney-Test). G: Aufenthaltszeit in den geschlossenen Bereichen ($p = .0005$; t-Test). H: Zurückgelegte Strecke in den geschlossenen Bereichen ($p = .301$; t-Test).

4.3.2 Akt3

Die *akt3*^{-/-}-Mäuse wagten im Angehobenen Null-Labyrinth im Vergleich zu den Wildtyp-Mäusen nicht nur im sicheren Bereich seltener ($p = .12$) den Blick nach unten (Abb. 24A), sondern hatten auch weniger ($p = .15$) ungeschützte Kopfnicker (Abb. 24B). Außerdem wurde für die Knock-out-Tiere sowohl hinsichtlich der Zeit ($p = .028$) (Abb. 24C) als auch der Strecke ($p = .039$) (Abb. 24D) in den geschlossenen Bereichen signifikant geringere Werte ermittelt. Bezüglich der prozentualen Verteilung der Zeit und Strecke in den offenen Bereichen zur Gesamtzeit sowie Gesamtstrecke können aus der Abbildung 20E entnommen werden.



E	Gesamtzeit in den offenen Bereichen [%]	Gesamtstrecke in den offenen Bereichen [%]
wt-Mäuse	17	23
<i>akt3</i> ^{-/-} -Mäuse	10	17

Abbildung 23: Analysen des Verhaltens der *akt3*^{-/-}- und wt-Mäuse im Angehobenen Null-Labyrinth.

n = 10 *akt3*^{-/-}-Mäuse (schwarzer Balken), 7 wt-Mäuse (weißer Balken).

* zeigt einen statistisch signifikanten Unterschied (p < .05) zu den Wildtyp-Mäusen an.

A: Anzahl der geschützten Kopfnicker (p = .12; t-Test). B: Anzahl der ungeschützten Kopfnicker (p = .15; t-Test). C: Zeit in den offenen Bereichen (p = .028; t-Test). D: Strecke in den offenen Bereichen (p = .039). E: Prozentuales Verhältnis von Strecke und Zeit in den offenen Bereichen zur Gesamtstrecke bzw. Gesamtzeit zwischen den *akt3*^{-/-}- und wt-Mäusen.

4.4 Forcierter Schwimmtest nach Porsolt

4.4.1 Akt2

Der in einem gewöhnlichen Messbecher durchgeführte Schwimmtest ergab bei den *akt2*^{-/-}-Mäusen ein signifikant längeres (p = .0161) regungsloses Treiben auf dem Wasser (Floating) (Abb. 25).

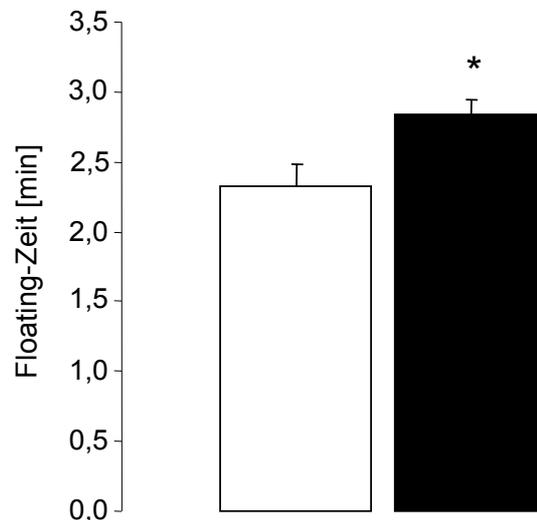


Abbildung 24: Analyse des Verhaltens der *akt2*^{-/-}- und wt-Mäuse im Forcierten Schwimmtest nach Porsolt.

n = 22 *akt2*^{-/-}-Mäuse (schwarzer Balken), 24 wt-Mäuse (weißer Balken).

* zeigt einen statistisch signifikanten Unterschied (p < .05) zu den Wildtyp-Mäusen an.

Durchschnittliche Zeit des regungslosen Treibens (p = .0161; Mann-Whitney-Test).

4.4.2 Akt3

Der gleiche Versuch zeigte beim Vergleich der *akt3*^{-/-}- und der wt-Mäuse beinahe keinen Unterschied ($p = .747$) (Abb. 26).

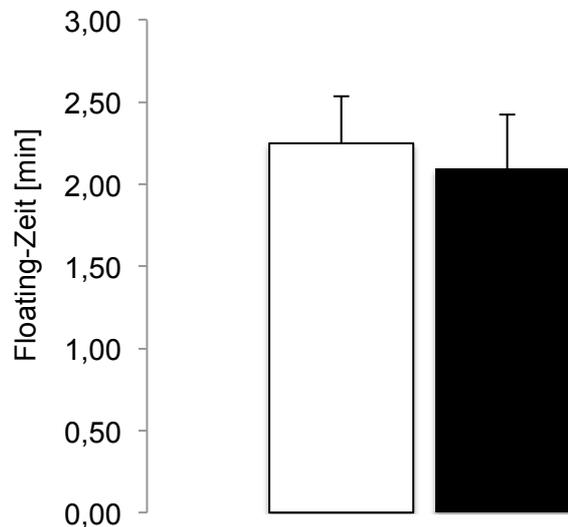


Abbildung 25: Analyse des Verhaltens der *akt3*^{-/-}- und wt-Mäuse im Forcierten Schwimmtest nach Porsolt.

$n = 10$ *akt2*^{-/-}-Mäuse (schwarzer Balken), 7 wt-Mäuse (weißer Balken). ($p = .747$; t-Test).

4.5 Notstandtest

4.5.1 Akt2

Der mit einem Häuschen versehene Versuchsaufbau des Offenen Feldes lieferte zwei wesentliche Ergebnisse. Zum einen war die Zeit, welche die Mäuse in ihrem gewohnten Häuschen verbrachten, bei den *akt2*^{-/-}-Mäusen länger ($p = .0003$) (Abb. 27A). Zum anderen gingen die *akt2*^{+/+}-Mäuse dementsprechend öfter ($p = .0325$) auf die offene, ungeschützte Fläche (Abb. 27B).

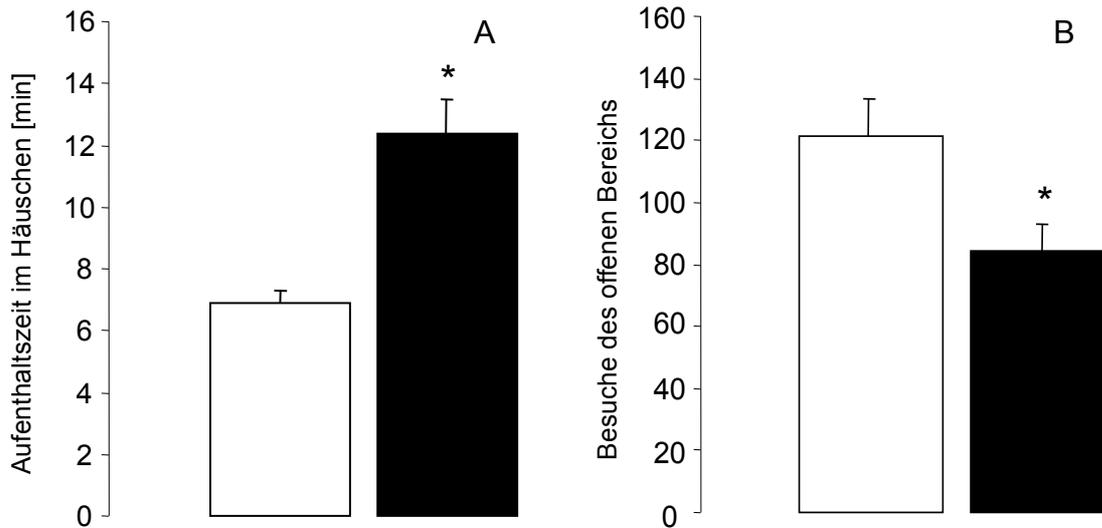


Abbildung 26: Analysen des Verhaltens der *akt2*^{-/-}- und wt-Mäuse im Notstandstest.

n = 9 *akt2*^{-/-}-Mäuse (schwarzer Balken), 12 wt-Mäuse (weißer Balken).

* zeigt einen statistisch signifikanten Unterschied ($p < .05$) zu den Wildtyp-Mäusen an.

A: Aufenthaltszeit im Häuschen ($p = .0003$; Mann-Whitney-Test). B: Anzahl der Besuche des Offenen Feldes ($p = .0325$; t-Test).

4.6 Test mit neuem Objekt

4.6.1 Akt2

Die Ergebnisse dieses Experiments zeigten zwei wesentliche Unterschiede zwischen den Maustypen. Die *akt2*^{+/+}-Mäuse berührten das neue Objekt nicht nur wesentlich öfter ($p = .0002$) (Abb. 28A), sondern hatten im Vergleich zu den *akt2*^{-/-}-Mäusen während des gesamten Versuchs im Durchschnitt auch einen signifikant geringeren Abstand zu ihm ($p = .0002$) (Abb. 29B).

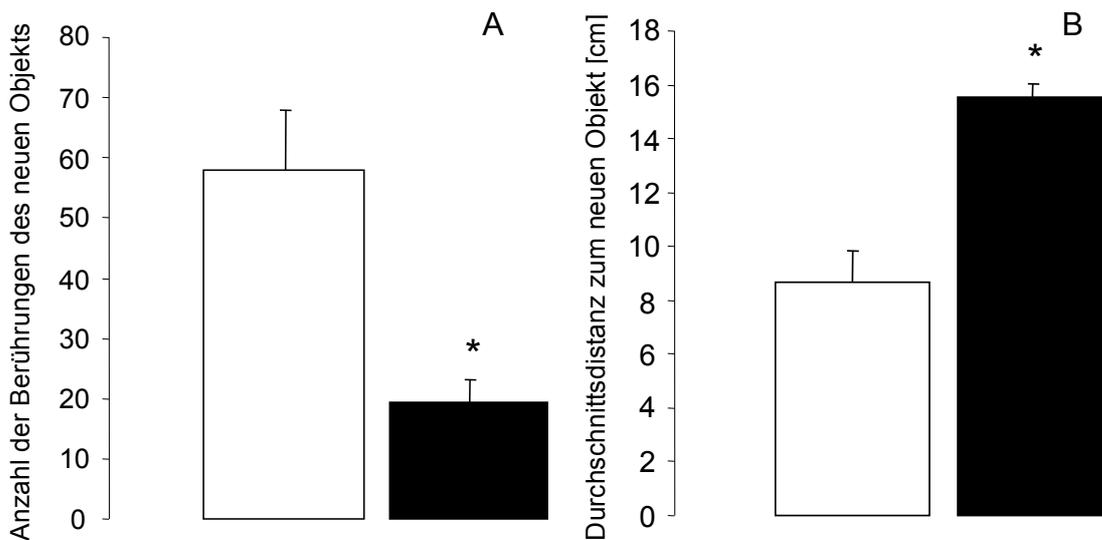


Abbildung 27: Analysen des Verhaltens der *akt2*^{-/-}- und wt-Mäuse im Test mit neuem Objekt. n = 9 *akt2*^{-/-}-Mäuse (schwarzer Balken), 12 wt-Mäuse (weißer Balken).

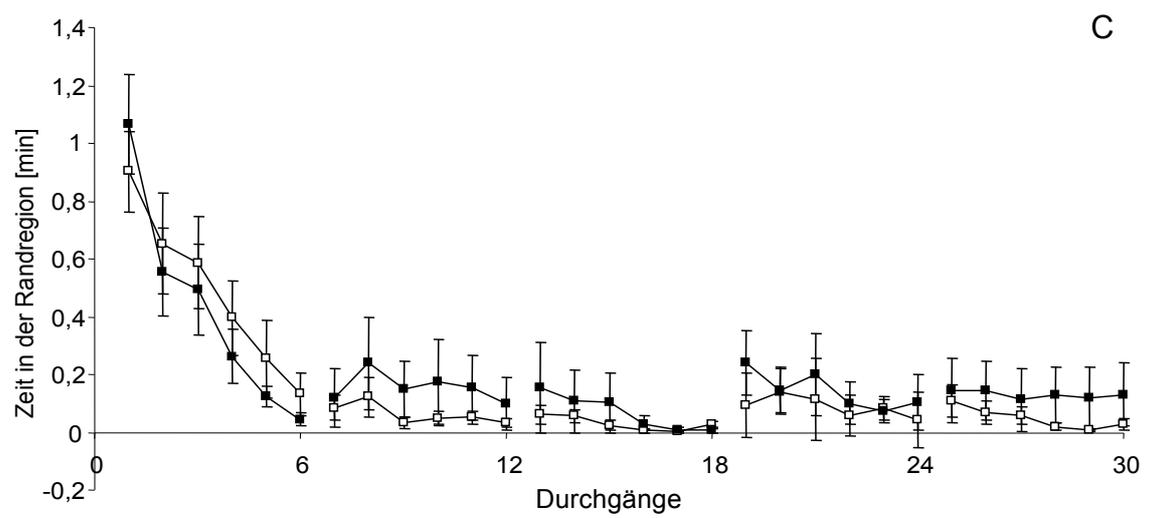
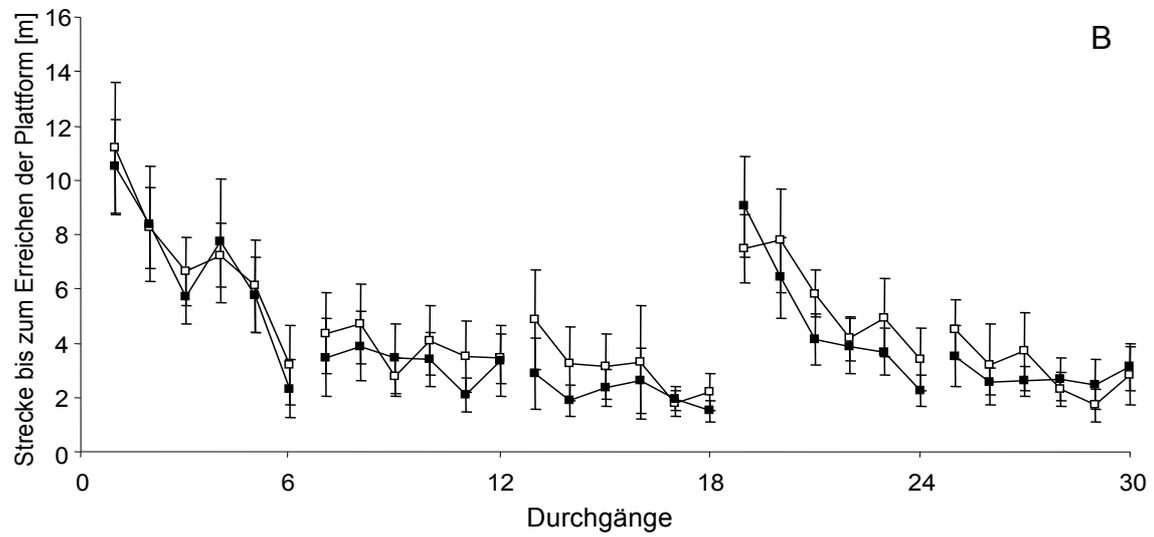
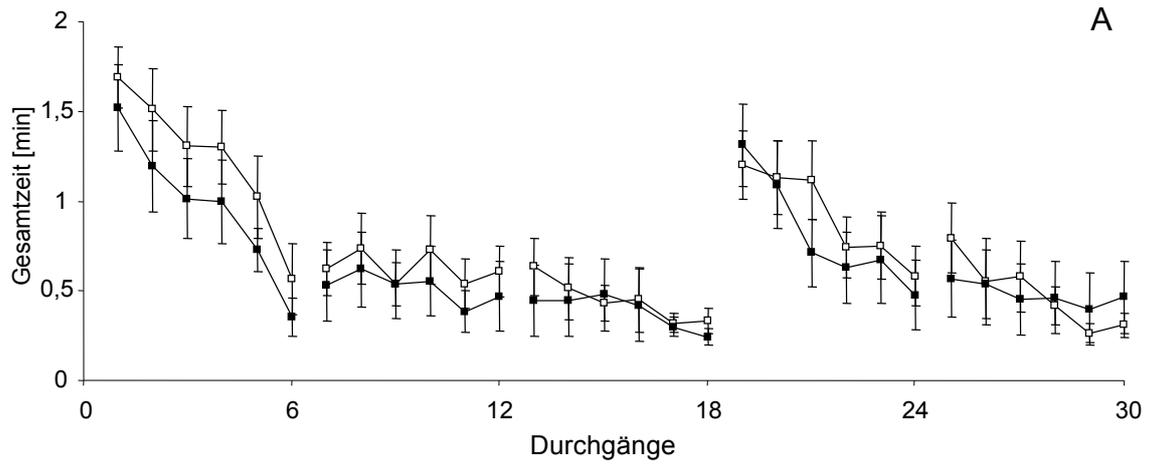
* zeigt einen statistisch signifikanten Unterschied ($p < .05$) zu den Wildtyp-Mäusen an.

A: Anzahl der Berührungen des neuen Objekts ($p = .0002$; Mann-Whitney-Test). B: Durchschnittliche Distanz zum neuen Objekt ($p = .0002$; Mann-Whitney-Test).

4.7 Wasserlabyrinth nach Morris

4.7.1 Akt2

Die Analyse dieses Tests zeigte keinen wesentlichen Unterschied zwischen den *akt2*^{-/-}- und den Wildtyp-Mäusen hinsichtlich der untersuchten Faktoren. Sowohl in Bezug auf die Gesamtzeit (Abb. 29A), als auch auf die zurückgelegte Distanz (Abb. 29B), waren die erhobenen Werte zwischen dem ersten und dem 18. Durchgang abfallend. Nachdem die Plattform in den gegenüberliegenden Quadranten versetzt worden war, konnte eine beinahe identische Kurve, jedoch mit einem niedrigeren Ausgangsniveau, festgestellt werden. Hinsichtlich der gemessenen Zeit, in der sich die Tiere im Randbereich aufhielten, war bis zum sechsten Durchgang eine deutliche Reduktion zu beobachten. Anschließend verbrachten sie beinahe keine Zeit mehr in den Randbereichen (Abb. 29C). Zudem wurde eruiert, dass die Durchschnittsgeschwindigkeit der Mäuse während des gesamten Versuchs annähernd gleich blieb (Abb. 29D).



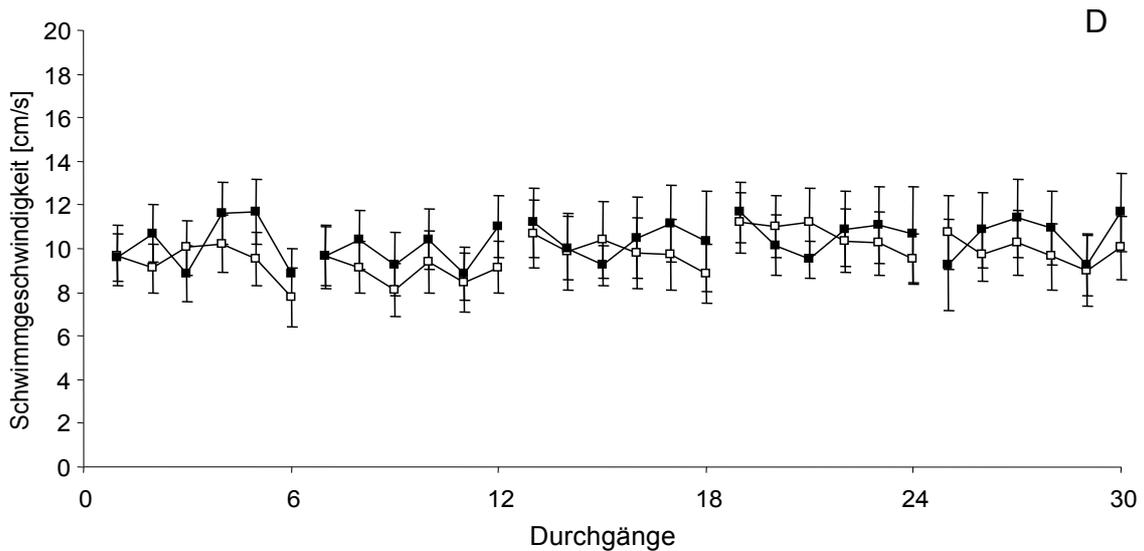


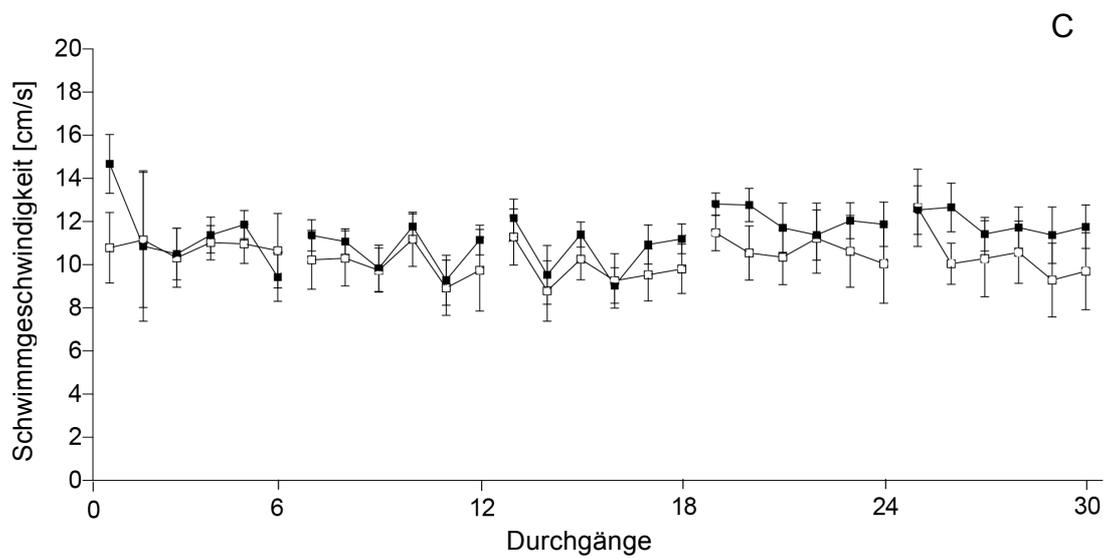
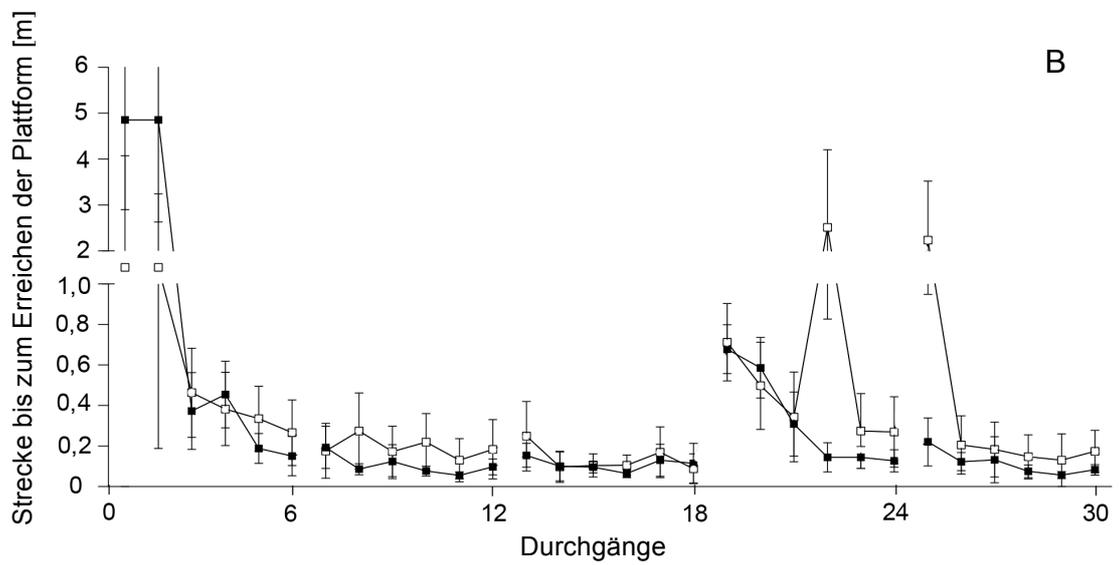
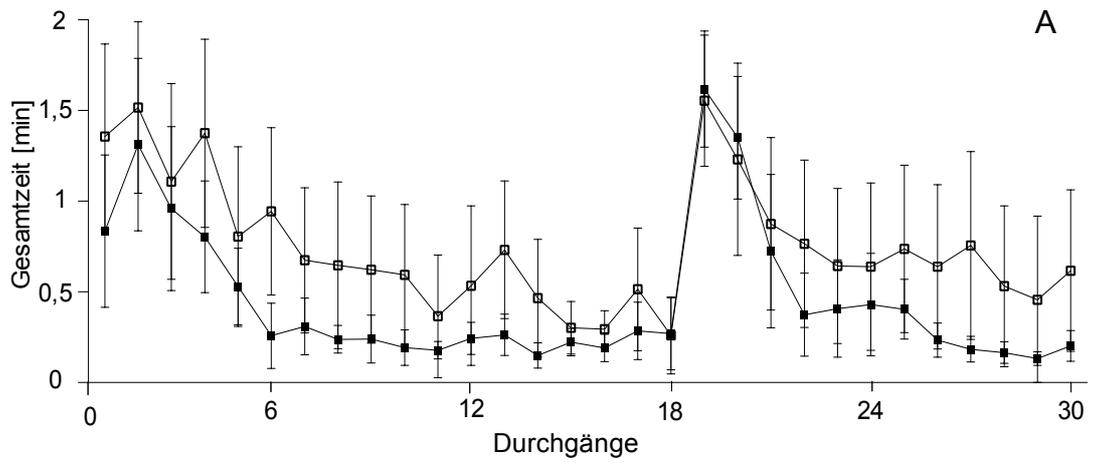
Abbildung 28: Analysen des Verhaltens der *akt2*^{-/-}- und wt-Mäuse im Wasserlabyrinth nach Morris.

n = 9 *akt2*^{-/-}-Mäuse (-■-); 10 *akt2*^{+/+}-Mäuse (-□-).

A: Zeit bis zum Erreichen der Plattform. B: Gesamtstrecke bis zum Erreichen der Plattform. C: Aufenthaltszeit in den Grenzregionen des Beckens. D: Durchschnittliche Schwimmgeschwindigkeit.

4.7.2 Akt3

Bei den *akt3*^{-/-}-Mäusen konnten im Wasserlabyrinth nach Morris hinsichtlich der Gesamtzeit bis zum Erreichen der Plattform (Abb. 30A) geringfügig niedrigere Werte als bei den Wildtyp-Mäusen festgestellt werden. Die Auswertungen der Gesamtstrecke bis zum Erreichen des Versuchsziels (Abb. 30B), der gemessenen Durchschnittsgeschwindigkeit (Abb. 30C) und der prozentualen Aufenthaltszeit im Zielquadranten ergaben keine wesentlichen Unterschiede.



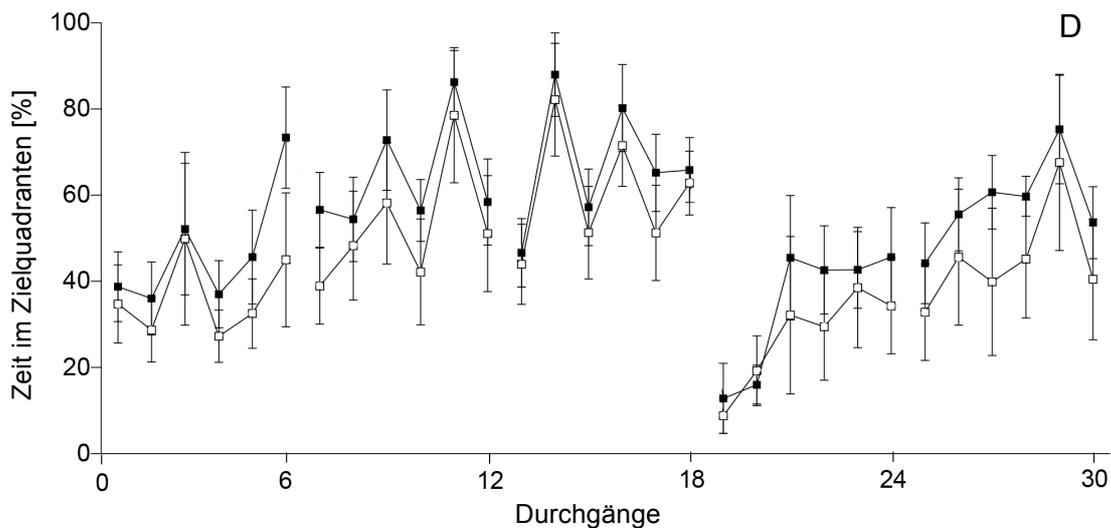


Abbildung 29: Analysen des Verhaltens der *akt3*^{-/-}- und wt-Mäuse im Wasserlabyrinth nach Morris.

n = 15 *akt3*^{-/-}-Mäuse (-■-); 12 *akt3*^{+/+}-Mäuse (-□-).

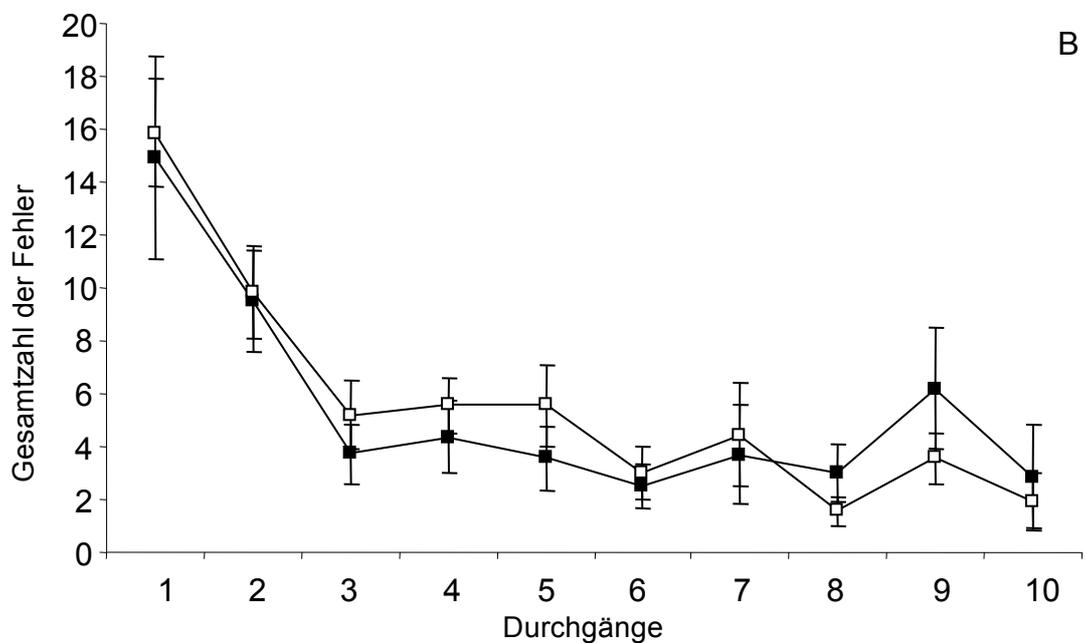
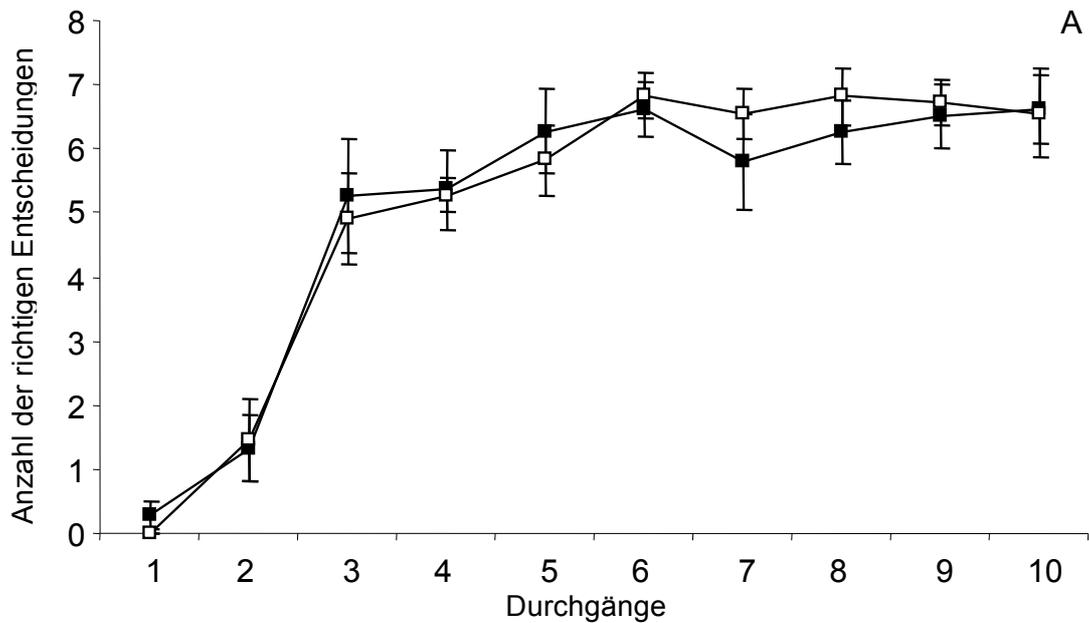
A: Zeit bis zum Erreichen der verborgenen Plattform. B: Zurückgelegte Strecke bis zum Erreichen des Versuchsziels. C: Durchschnittliche Schwimgeschwindigkeit. D: Zeit im Zielquadranten.

4.8 Achtarmiger strahlenförmiger Irrgarten

4.8.1 Akt2

Mit dieser speziellen Apparatur konnten wiederum keine relevanten Unterschiede zwischen den *akt2*^{+/+}- und den *akt2*^{-/-}-Mäusen konstatiert werden. Während der 10-tägigen Versuchsreihe konnte jedoch beobachtet werden, dass die Tiere innerhalb von drei Tagen exponentiell öfter einen richtigen Gangbesuch eines noch nicht betretenen Seitenarms getroffen hatten. Nachdem zwischenzeitlich nur noch eine leichte Steigerung der Anzahl der richtigen Entscheidungen zu verzeichnen war, wurde ab dem sechsten Durchgang ein konstant hohes Niveau erreicht (Abb. 31A). Dieses schnelle Lernvermögen konnte anhand der Gesamtzahl der Fehlversuche bestätigt werden. So wurden nach anfänglich vielen Fehlleistungen ab dem dritten Durchgang kontinuierlich weniger Fehler erzeugt (Abb. 31B). Die begangenen Erinnerungsfehler, welche durch das Begehen eines Arms entstanden, in dem das Hirsekorn bereits gegessen worden war, zeigten ebenfalls eine abfallende Tendenz (Abb. 31C).

Abschließend verdeutlicht der Blick auf die Analyse der Gesamtzeit (Abb. 31D) und der Gesamtdistanz (Abb. 31E), dass die Tiere in den ersten drei Durchgängen immer schneller und mit weniger Umwegen das Versuchsziel erreichten. Im weiteren Verlauf stellten sich konstant niedrige Versuchszeiten und Distanzen ein.



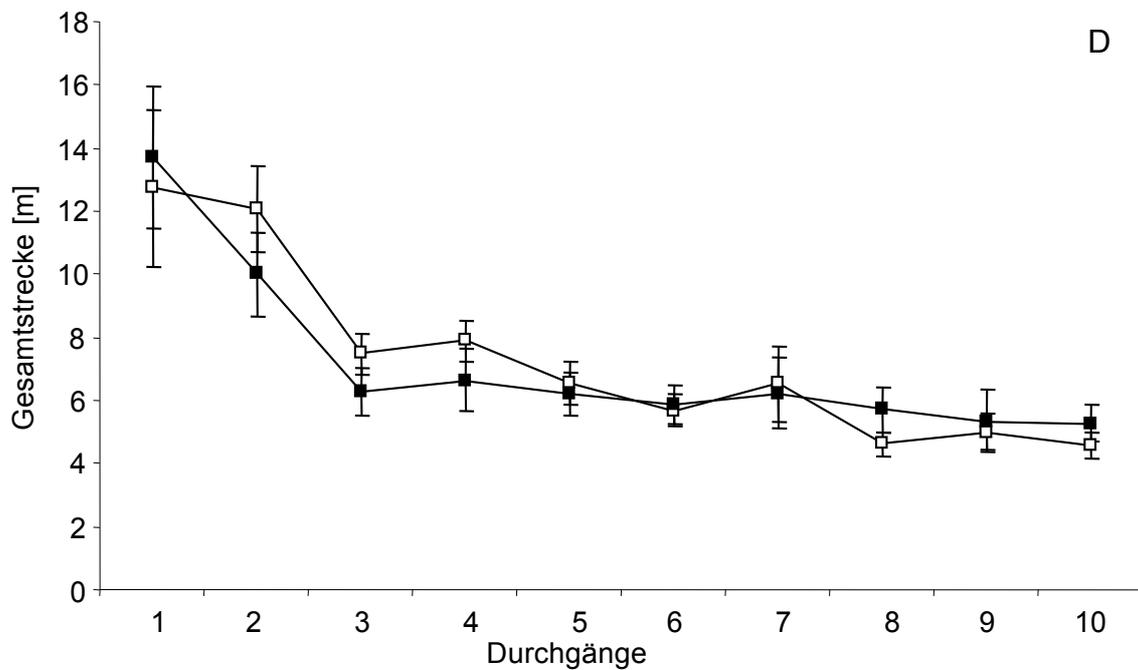
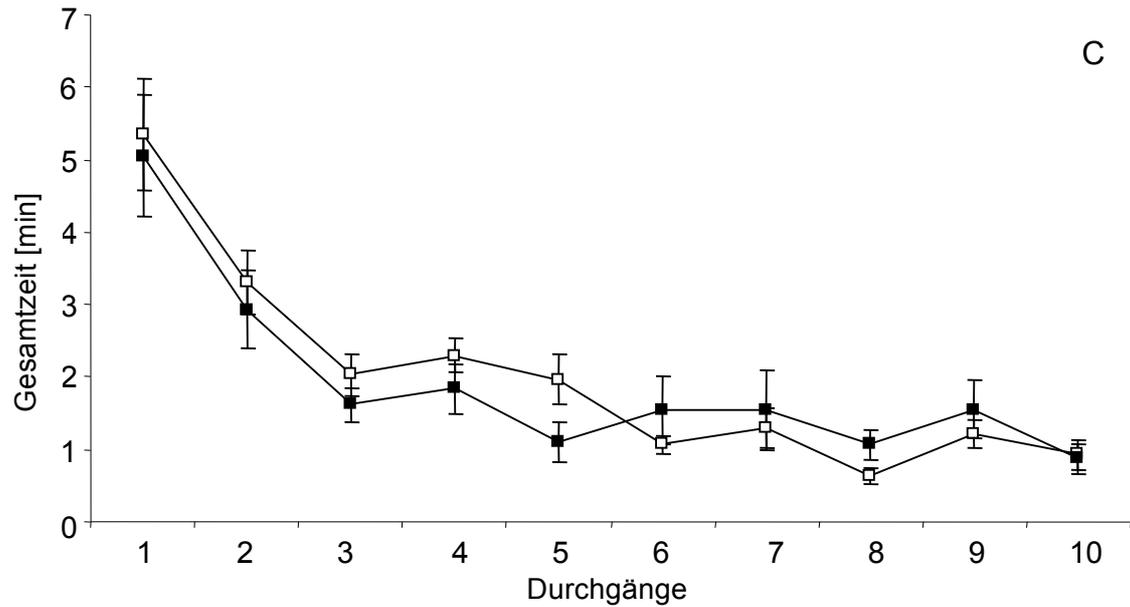


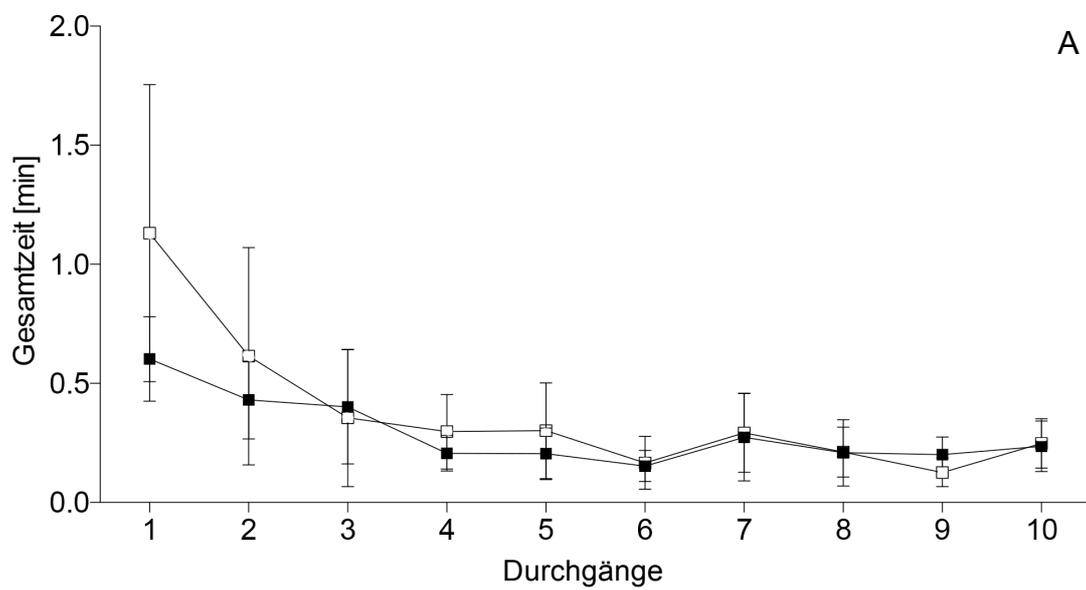
Abbildung 30: Analysen des Verhaltens der *akt2*^{-/-}- und *wt*-Mäuse im Achtarmigen Irrgarten. n = 12 *akt2*^{-/-}-Mäuse (-■-); 11 *akt2*^{+/+}-Mäuse (-□-).

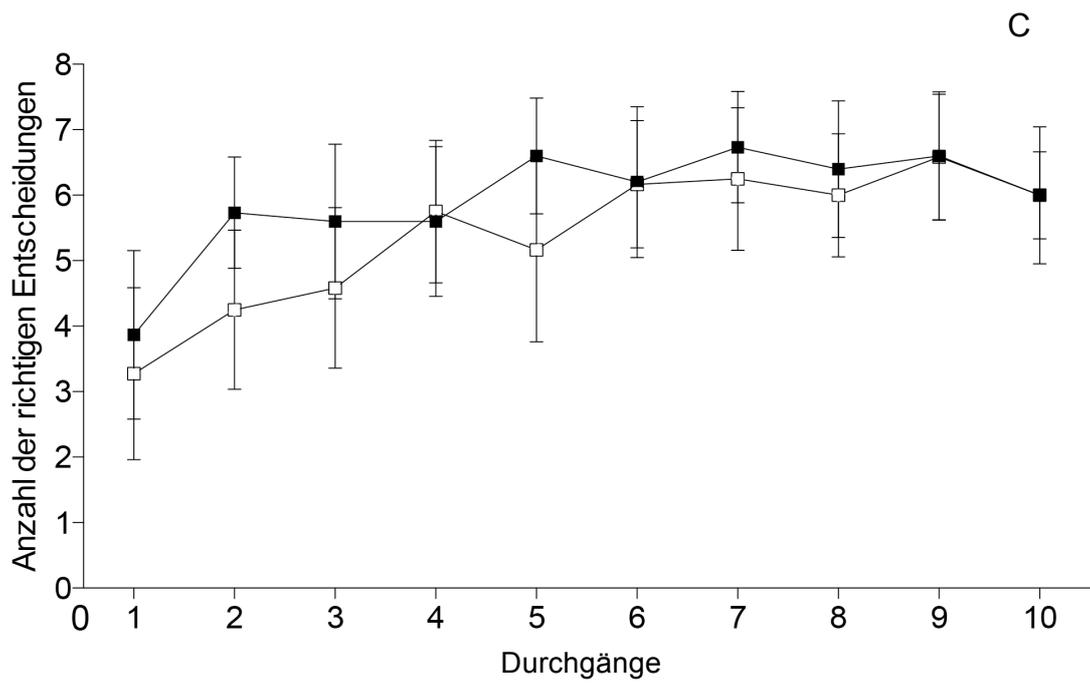
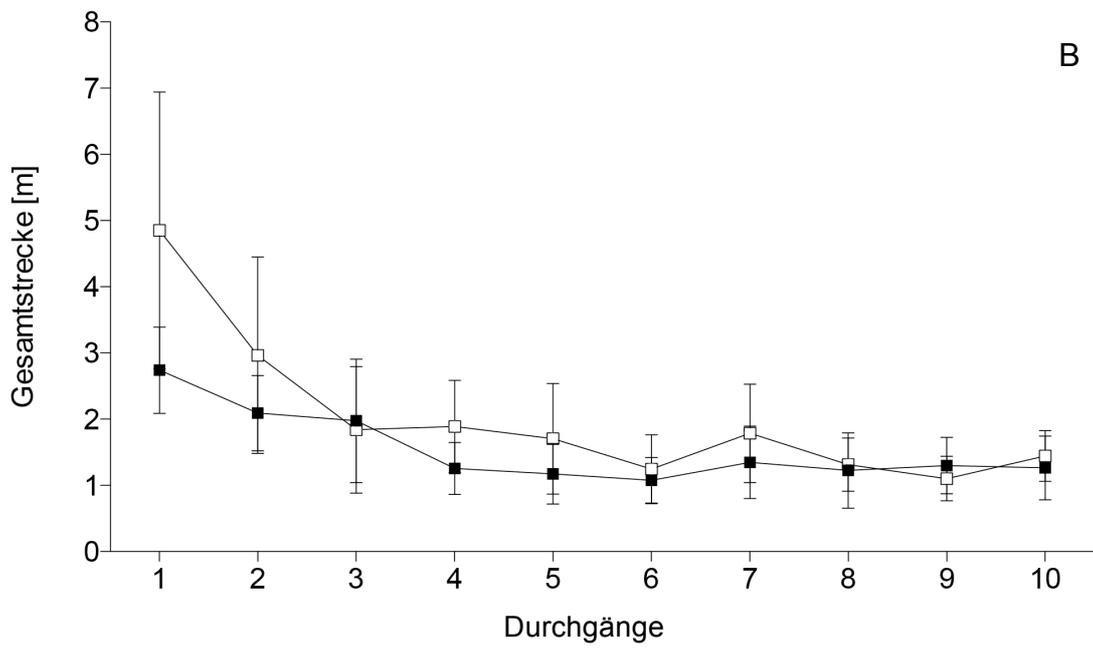
A: Anzahl der richtigen Gangentscheidungen bis zum ersten begangenen Fehler. B: Gesamtfehlerzahl. C: Gesamtzeit, in der das Versuchsziel durch das Sammeln aller Hirsekörner erreicht wurde. D: Gesamtstrecke, bis alle Körner gesammelt wurden.

4.8.2 Akt3

Wie bei den *akt2*^{-/-}-Mäusen waren im Achtarmigen Irrgarten auch bei den *akt3*^{-/-}-Mäusen keine signifikanten Abweichungen zu den Wildtyp-Mäusen zu

verzeichnen. Die beiden Mausgruppen unterschieden sich weder hinsichtlich der Gesamtzeit (Abb. 32A) noch in Bezug auf die Gesamtstrecke (Abb. 32B), die Gesamtzahl der richtigen Entscheidungen (Abb. 32C) oder die Gesamtzahl der entstandenen Fehler (Abb. 32D). Es war jedoch auffällig, dass die *akt3^{-/-}*-Mäuse anfangs eine höhere Anzahl an richtigen Entscheidungen trafen und weniger Fehler produzierten. Die Gesamtzahl der Erinnerungsfehler war hingegen im ganzen Verlauf ähnlich (Abb. 32E).





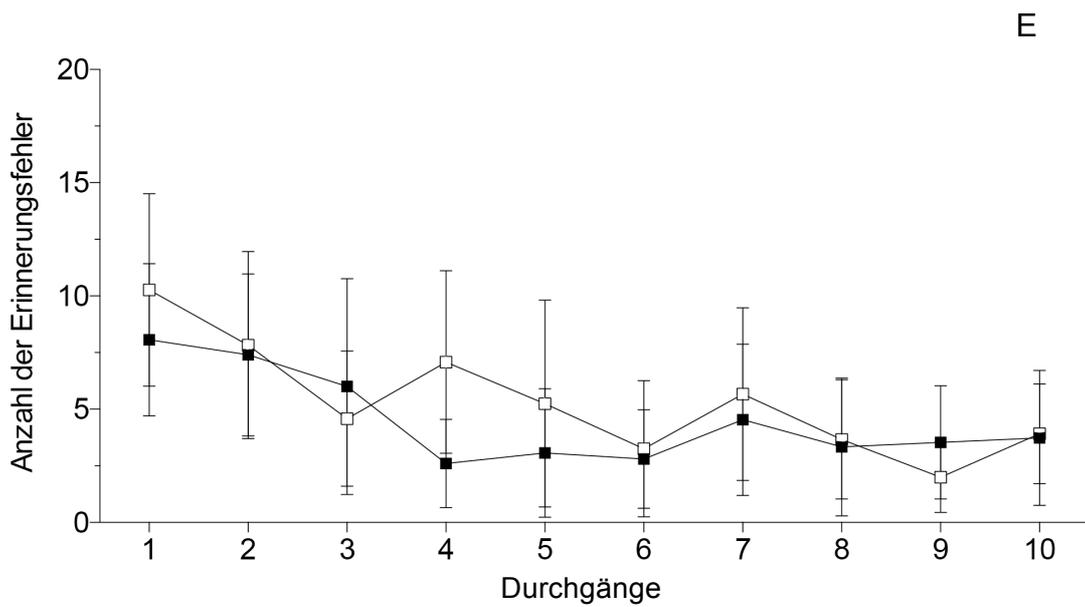
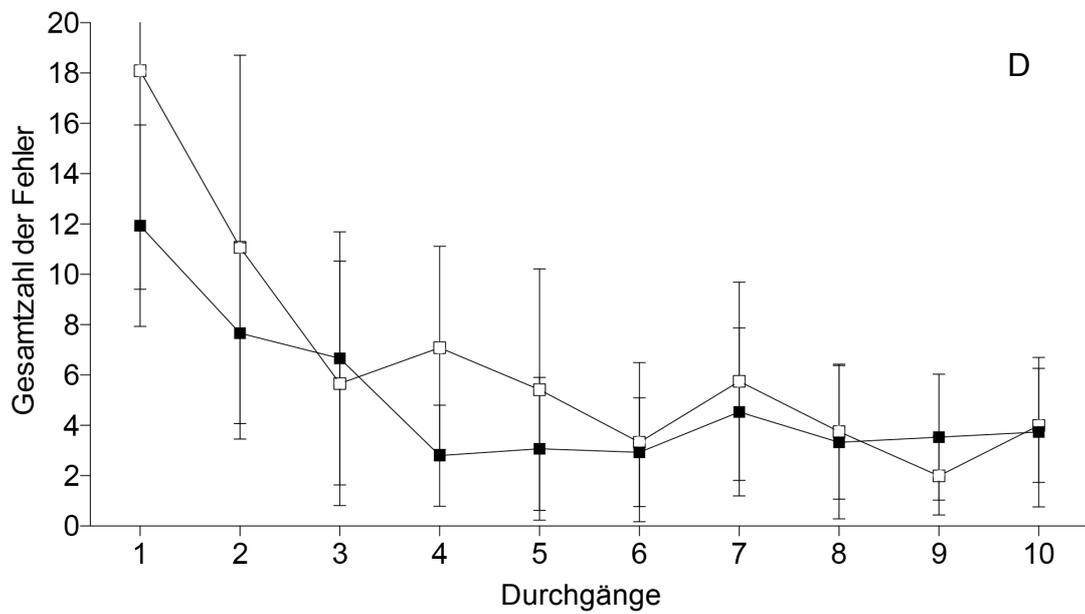


Abbildung 31: Analysen des Verhaltens der *akt3*^{-/-}- und wt-Mäuse im Achtarmigen Irrgarten.

n = 15 *akt3*^{-/-}-Mäuse (-■-); 12 *akt3*^{+/+}-Mäuse (-□-).

A: Gesamtzeit. B: Gesamtstrecke. C: Gesamtzahl der richtigen Entscheidungen. D: Gesamtzahl der Fehler. E: Gesamtzahl der Erinnerungsfehler.

5. Diskussion

5.1 Ergebnisdiskussion

Zur Erforschung der Bedeutung von Akt2 und Akt3 auf das Verhalten wurden *akt2^{-/-}*- und *akt3^{-/-}*-Mäuse mit C57Bl/6J-Wildtyp-Mäusen in diversen Experimenten miteinander verglichen. Dabei wurde zum einen das Angstverhalten der Tiere in freien Beobachtungstests untersucht, wozu der Test des Offenen Feldes, die Hell-Dunkel-Kammer, das Angehobene Null-Labyrinth, der Forcierte Schwimmtest nach Porsolt, der Notstandtest und der Test mit neuem Objekt zählen. Zum anderen wurden die Nager bezüglich ihrer Orientierung und ihres räumlichen Erinnerungsvermögens analysiert. Diese Versuche fanden im Wasserlabyrinth nach Morris sowie im Achtarmigen strahlenförmigen Irrgarten statt. Während die *akt2^{-/-}*-Mäuse alle aufgezählten Versuche durchliefen, wurden bei den *akt3^{-/-}*-Mäusen mit Ausnahme des Notstandstests und des Tests mit neuem Objekt ebenfalls alle erwähnten Experimente durchgeführt.

Die erhobenen detaillierten Analysen der *akt2^{-/-}*-Mäuse offenbarten in den diversen Tests unterschiedliche Verhaltensmuster im Vergleich mit den Wildtyp-Mäusen. Im Test des Offenen Feldes war eine deutliche Antriebslosigkeit bei den *akt2^{-/-}*-Mäusen zu erkennen. Neben einer wesentlich geringeren Durchschnittsgeschwindigkeit äußerte sie sich vor allem darin, dass die *akt2^{-/-}*-Mäuse signifikant weniger Strecke zurücklegten. Auffallend war ebenfalls deren Lokalisation. Es konnte eruiert werden, dass sich die *akt2^{-/-}*-Mäuse signifikant öfter in den äußeren Regionen, einschließlich der Ecken, aufhielten und die zentralen Regionen im Vergleich zu den *akt2^{+/+}*-Mäusen eher mieden. Die Auswertung des Rearing-Verhaltens offenbarte signifikante Parameter. Durch das Aufstellen auf die Hinterbeine drückt sich ein neugieriges und somit mutiges Verhalten der Tiere aus. Sowohl in den Randregionen als auch im Zentrum des Offenen Feldes waren die Anzahl der Rearings, die Rearing-Zeit und das Verhältnis von Rearing-Zeit zu Rearing bei den *akt2^{-/-}*-Mäusen signifikant kleiner als bei den *akt2^{+/+}*-Mäusen.

Ein ähnlich ängstliches Verhalten der *akt2^{-/-}*-Mäuse konnte in der Hell-Dunkel-Kammer beobachtet werden. In diesem Versuchsaufbau waren die Besuche und die Aufenthaltszeit der *akt2^{-/-}*- gegenüber den *akt2^{+/+}*-Mäusen in den dunklen Bereichen signifikant erhöht. Außerdem bewegten sich die *akt2^{-/-}*-Mäuse im hellen Bereich signifikant weniger und verbrachten dort weniger Zeit. Die Analyse des Eingangsbereichs, die einen verlängerten Aufenthalt und eine größere zurückgelegte Strecke zeigte, wies ebenfalls auf ein erhöhtes und ausgeprägtes Angstverhalten der *akt2^{-/-}*-Mäuse hin. Die Knock-out-Tiere blieben im Vergleich mit den Wildtyp-Mäusen somit eher in der vermeintlich sicheren Box und ragten überwiegend nur mit dem Kopf aus der Dunkelkammer. Die *akt2^{+/+}*-Mäuse erkundeten hingegen die offene, helle Fläche ohne langes Verweilen im Eingangsbereich. Ein mutiges bzw. normales Verhalten zeigte sich bei den *akt2^{+/+}*-Mäusen darüber hinaus in Bezug auf den Parameter des „Männchenmachens“ (Calabrese 2008). So stellten sich die Wildtyp-Mäuse nicht nur im hellen Bereich, sondern auch in der Dunkelkammer aufgrund ihrer neugierigeren Verhaltensweise deutlich öfter auf ihre Hinterbeine. Außerdem blieben sie erheblich länger in dieser Position. Dies verdeutlichte ebenfalls das im Vergleich dazu ängstliche und zurückhaltende Wesen der *akt2^{-/-}*-Mäuse.

Der Versuch des Angehobenen Null-Labyrinths spiegelte gleichermaßen das depressive Verhalten der *akt2^{-/-}*-Mäuse wider. Dies bekräftigt in erster Linie die signifikant niedrigere Anzahl geschützter und ungeschützter „Kopfnicker“ bei den *akt2^{-/-}*-Mäusen. Dabei ist besonders auffällig, dass die Anzahl der Kopfnicker im ungeschützten Bereich im Vergleich mit denen im geschützten Areal noch weiter voneinander abwich. Zusätzlich hatten die *akt2^{+/+}*-Mäuse in puncto Zeit, Distanz und Anzahl der Besuche der ungeschützten Bereiche gegenüber den *akt2^{-/-}*-Mäusen deutlich höhere Werte. Das eher scheue Verhalten der *akt2^{-/-}*-Mäuse führte dazu, dass die Tiere länger in den umwandeten Segmenten verweilten.

Dass die *akt2^{-/-}*-Mäuse einen geschützten Bereich favorisieren und weniger Interesse an unbekanntem Arealen haben, zeigten ferner die Analysen des Notstandtests. Zum einen verbrachten die Knock-out-Mäuse wesentlich mehr Zeit

im bekannten Häuschen, zum anderen war die Anzahl der Besuche des Offenen Feldes signifikant niedriger.

Außerdem konnte im Forcierten Schwimmtest nach Porsolt eine größere Stressanfälligkeit der *akt2^{-/-}*-Mäuse nachgewiesen werden. So wurde bei diesen im Vergleich zu den Wildtyp-Mäusen eine signifikant längere Floating-Zeit beobachtet, die mit einem Zustand der Depression in Verbindung gebracht wird (Machado-Vieira 2004).

Der Test mit neuem Objekt gab darüber Aufschluss, dass sich die *akt2^{-/-}*-Mäuse sehr zögerlich und ängstlich unbekanntem Gegenständen nähern. Sie berührten den Deckel nicht nur bezeichnend weniger oft, sondern hielten während des gesamten Tests im Vergleich mit den *akt2^{+/+}*-Mäusen durchschnittlich einen signifikant größeren Abstand zum Objekt.

Die Experimente im Wasserlabyrinth nach Morris und im Achtarmigen strahlenförmigen Irrgarten sollten hingegen Informationen über das Orientierungsvermögen und das Lernverhalten der Tiere liefern. Im Wasserlabyrinth nach Morris benötigten sowohl *akt2^{-/-}*- als auch *akt2^{+/+}*-Mäuse im Laufe der ersten sechs Durchgänge für das Erreichen des Versuchsziels immer weniger Zeit, bis sie konstant niedrige Zeiten erreichten. Erst nachdem die Plattform im Becken versetzt worden war, war ein erneuter kurzfristiger Anstieg der Gesamtzeit zu erkennen.

Die Analysen des Verhaltens der *akt2^{-/-}*-Mäuse im Achtarmigen strahlenförmigen Irrgarten ergaben ein vergleichbares Bild mit einem ähnlichen Kurvenverlauf. Sowohl bei den Knock-out- als auch bei den Wildtyp-Mäusen war nach anfänglich fehlerhaften Durchgängen fortwährend ein konstant niedriger Wert der Gesamtzahl mit einer geringen Fehlerquote festzustellen.

Es konnten im Wasserlabyrinth und im Achtarmigen strahlenförmigen Irrgarten demzufolge keine auffälligen Unterschiede zwischen den *akt2^{+/+}*- und den *akt2^{-/-}*-Mäusen eruiert werden.

Die Ergebnisse der *akt3*^{-/-}-Mäuse, die mit den korrespondierenden Wildtyp-Mäusen verglichen wurden, zeigten im Vergleich mit den *akt2*^{-/-}-Mäusen in beinahe allen Experimenten eine ähnliche Tendenz. Jedoch wurden weniger signifikante Parameter festgestellt.

Eine dieser Signifikanzen war im Offenen Feld die Gesamtstrecke. In dieser unbekanntem Umgebung waren die *akt3*^{-/-}-Mäuse deutlich weniger aktiv und erkundungsfreudig als die Wildtyp-Mäuse. Speziell in den Randbereichen der Box wiesen sie sowohl bezüglich der Zeit als auch der zurückgelegte Strecke geringere Werte auf. Das depressive Verhalten der Knock-out-Tiere war ebenfalls an der geringeren Durchschnittsgeschwindigkeit sichtbar. Zusätzlich waren nach den Versuchen mit den *akt3*^{-/-}-Mäusen wesentlich mehr Urinspritzer und Exkremente vorzufinden. Dies gilt ebenfalls als Indikator für ängstliches Verhalten.

Die gleiche Verhaltensweise konnte in der Hell-Dunkel-Kammer beobachtet werden. Auch hierbei mieden die *akt3*^{-/-}-Mäuse im Vergleich zu den Wildtyp-Mäusen den offenen hellen Bereich deutlich öfter. Darüber hinaus besuchten die *akt3*^{-/-}-Mäuse wesentlich seltener die von der schützenden Dunkelkammer am weitesten entfernt liegenden hellen Ecken der Versuchsbox. Der Bewegungsradius und die Aufenthaltszeit der *akt3*^{-/-}-Mäuse war im Vergleich mit den *akt3*^{+/+}-Mäusen zudem mehr auf den Eingangsbereich und die dunkle Box beschränkt.

Der Versuchsaufbau des Angehobenen Null-Labyrinths wurde ebenfalls zur Erforschung des Angstverhaltens der Tiere entwickelt. Obwohl Mäuse von Natur aus offene Flächen eher meiden, konnte im offenen Bereich des Tests bei den *akt3*^{-/-}-Mäusen im Vergleich zu den Wildtyp-Mäusen ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Die Werte waren sowohl bei der Zeit als auch bei der zurückgelegten Strecke in den offenen Abschnitten des Rundgangs bei den *akt3*^{-/-}-Mäusen deutlich kleiner. Zudem wurden bei den *akt3*^{-/-}-Mäusen wesentlich weniger geschützte und ungeschützte Kopfnicker beobachtet. Diese Ergebnisse der Knock-out-Tiere deuten auf ein erhöhtes Angstverhalten und eine

reduzierte Bereitschaft hin, unbekannte Gebiete zu erkunden (Shepherd et al. 1994).

Im Unterschied dazu ergab die Analyse des Forcierten Schwimmtests nach Porsolt keine maßgeblichen Unterschiede zwischen den *akt3^{-/-}*- und den *akt3^{+/+}*-Mäusen. Ähnliche Tendenzen zeigten sich in der Auswertung der Experimente im Wasserlabyrinth nach Morris. Hierbei wurde anfangs die Plattform im Wasser sowohl von den *akt3^{-/-}*- als auch von den *akt3^{+/+}*-Mäusen zunehmend schneller gefunden, bis diese sie ab dem sechsten Durchgang mit konstant niedriger Zeit direkt ansteuerten. Erst nachdem die Plattform im Becken umgestellt worden war, war kurzfristig die Gesamtzeit bis zum Erreichen des Versuchsziels erneut länger.

Auch im Achtarmigen strahlenförmigen Irrgarten waren die *akt3^{-/-}*-Mäuse gegenüber den Wildtyp-Mäusen nicht beeinträchtigt. Bis zu einem konstant niedrigen Wert ab dem sechsten Durchgang benötigten die Tiere immer weniger Zeit, um das Versuchsziel zu erreichen. Die anfänglich begangenen Fehler wurden ebenfalls ab der Hälfte der Durchgänge auf ein niedriges Niveau begrenzt.

Somit konnte bei den *akt3^{-/-}*-Mäusen weder im Achtarmigen strahlenförmigen Irrgarten noch im Wasserlabyrinth nach Morris ein reduziertes Orientierungs- oder räumliches Erinnerungsvermögen nachgewiesen werden.

Im Allgemeinen kann Akt eine übergeordnete Rolle für die Behandlung von Depressionen und bipolaren Krankheiten zugesprochen werden. Dies beruht hauptsächlich auf der Tatsache, dass sie für die Phosphorylierung und somit für die Hemmung von GSK3 verantwortlich ist (Cross et al. 1995, Shaw et al. 1997). Im Umkehrschluss konnte bereits in Verhaltenstests mit *gsk3^{-/-}*-Mäusen eine manische Verhaltensweise der Tiere nachgewiesen werden, welche im Vergleich mit den Wildtyp-Mäusen deutlich aktiver und weniger stressanfällig waren (Ackermann 2010). Die Folgen der Unterdrückung durch Akt können als Ursachen für die Effekte von stimmungsaufhellenden Medikamenten bei bipolaren Störungen gewertet werden (Gould et al. 2005, Klein et al. 1996). Dabei

sind vor allem Lithium, Clozapin, Olanzapin und Valproinsäure zu nennen, die eine Phosphorylierung von GSK3 hervorrufen (Aubry et al. 2009).

Außerdem ist Akt ihrerseits auf die Aktivierung durch PI3K angewiesen (Carracedo et al. 2008). Diese Kinase wird wiederum durch den Wachstumsfaktor BDNF stimuliert, welcher mit bipolaren Erkrankungen und Schizophrenie in Verbindung gebracht wird. Zudem verstärkt BDNF den positiven Effekt von EGF (epidermal growth factor) auf die Neurogenese und begünstigt somit die Vermehrung und Fortbewegung von neuronalen Progenitorzellen NSPCs (neural stem/progenitor cells) (Zhang et al. 2011).

Zukünftig sollten wir, neben dem am besten erforschten Aktsubstrat GSK3, mehr Aufmerksamkeit anderen Folgesubstraten von Akt, wie z.B. Bax und FOXO, widmen. Der Anteil von Bax im Temporallappen ist beispielsweise bei Patienten mit chronischer Schizophrenie höher (Jarskog et al. 2004). Ferner spielt die Familie der FOXO eine gewichtige Rolle bei Stress und Änderungen des Gemütszustands (Polter et al. 2009).

Nach Abschluss der Analysen der Testreihen deutet vieles auf eine Beteiligung von Akt2 und in geringerem Maße auch von Akt3 bezüglich ängstlichen und depressiven Verhaltens hin. In Zukunft können die beiden Isoformen von Akt demzufolge als Tiermodell für psychiatrische Erkrankungen, in erster Linie bei Depressionen, dienen. Vor allem sollte mit dieser Studie ein Beitrag geleistet werden, dieses Krankheitsbild besser zu erforschen und neue Behandlungsmethoden zu ermöglichen.

5.2 Methodendiskussion

Zwar helfen die genannten Tests, psychische Störungen besser zu verstehen, jedoch haben die Tiermodelle für Verhaltenstests auch ihre Grenzen. So ist beispielsweise die Erforschung von Gefühlsäußerungen wie Schuld, Traurigkeit und Gedanken an Suizid auf den Menschen begrenzt.

Dessen ungeachtet ist in Bezug auf die Experimente mit *akt3*^{-/-}-Mäusen der Stichprobenumfang als mögliche Verbesserung zu diskutieren.

6. Zusammenfassung

Um einen möglichen Einfluss des Phosphoinositid-3-Kinase(PI3K)-Signalwegs auf psychiatrische Erkrankungen, wie beispielsweise Depressionen und bipolare Störungen, nachzuweisen, wurden mit Akt2- bzw. Akt3-defizienten Mäusen zwei Mausmodelle untersucht. Diese Mäuse wurden in der vorliegenden Arbeit diversen Verhaltenstests unterzogen und mit genetisch unveränderten Wildtyp-Mäusen verglichen. Es handelt sich um Knock-out-Mäuse, bei denen Isoformen der Proteinkinase B, auch unter dem Namen Akt bekannt, genetisch ausgeschaltet wurden. Akt umfasst insgesamt drei nahe verwandte Isoformen, Akt1, Akt2 und Akt3, und ist an einer Vielzahl von molekularbiologischen Prozessen im Körper beteiligt; es seien vor allem die Zellproliferation, die Angiogenese, die Apoptose, die Glukoseaufnahme und die Zahnentwicklung zu nennen. Daher kann eine Dysregulation von Akt unter anderem zu schwerwiegenden Krankheiten, wie z.B. Diabetes, Krebs sowie kardiovaskulären und neurologischen Erkrankungen, führen.

Summa summarum konnte anhand der Analyse der in den Versuchen erzielten Ergebnisse festgestellt werden, dass ein Mangel an den Kinasen Akt2 und Akt3 bei den Tieren zu einem ängstlichen und passiven Phänotyp führt. Dies zeigte sich in einer signifikanten Reduktion der Bewegungsaktivität und einer Vermeidung von offenen und ungeschützten Flächen der *akt2^{-/-}*- und *akt3^{-/-}*-Mäuse in den Versuchen des Offenen Feldes, der Hell-Dunkel-Kammer und des Null-Labyrinths. Dabei ist festzuhalten, dass dieser Effekt in den verschiedenen Tests bei den *akt2^{-/-}*-Mäusen stärker ausfiel als bei den *akt3^{-/-}*-Mäusen. Dieses ängstliche Verhalten kann als Erkrankung aus dem psychiatrischen Formenkreis, insbesondere die der Depression, interpretiert werden.

Demgegenüber konnten in den Experimenten des Wasserlabyrinths und des achtarmigen Irrgartens keine Unterschiede im Vergleich mit den Wildtyp-Mäusen festgestellt werden. Somit konnte kein Nachweis für eine Beteiligung der beiden Isoformen an Gedächtnisleistungen oder räumlichem Erinnerungsvermögen erbracht werden.

Literaturverzeichnis

Abelaira, H. M., Reus, G. Z. und Quevedo, J. (2013). "Animal models as tools to study the pathophysiology of depression." *Revista brasileira de psiquiatria* 35 Suppl 2(S112-20).

Ackermann, T. F., Hortnagl, H., Wolfer, D. P., Colacicco, G., Sohr, R., Lang, F., Hellweg, R. und Lang, U. E. (2008). "Phosphatidylinositide dependent kinase deficiency increases anxiety and decreases GABA and serotonin abundance in the amygdala." *Cell Physiol Biochem* 22(5-6): 735-44.

Ackermann, T. F., Kempe, D. S., Lang, F. und Lang, U. E. (2010). "Hyperactivity and enhanced curiosity of mice expressing PKB/SGK-resistant glycogen synthase kinase-3 (GSK-3)." *Cell Physiol Biochem* 25(6): 775-86.

Alessi, D. R., Andjelkovic, M., Caudwell, B., Cron, P., Morrice, N., Cohen, P. und Hemmings, B. A. (1996). "Mechanism of activation of protein kinase B by insulin and IGF-1." *The EMBO journal* 15(23): 6541-51.

Altomare, D. A. und Testa, J. R. (2005). "Perturbations of the AKT signaling pathway in human cancer." *Oncogene* 24(50): 7455-64.

Amsterdam, J. D., Maislin, G., Winokur, A., Kling, M. und Gold, P. (1987). "Pituitary and adrenocortical responses to the ovine corticotropin releasing hormone in depressed patients and healthy volunteers." *Archives of general psychiatry* 44(9): 775-81.

Aubry, J. M., Schwald, M., Ballmann, E. und Karege, F. (2009). "Early effects of mood stabilizers on the Akt/GSK-3beta signaling pathway and on cell survival and proliferation." *Psychopharmacology* 205(3): 419-29.

Beauchamp, E. M. und Platanias, L. C. (2013). "The evolution of the TOR pathway and its role in cancer." *Oncogene* 32(34): 3923-32.

Beaulieu, J. M., Zhang, X., Rodriguiz, R. M., Sotnikova, T. D., Cools, M. J., Wetsel, W. C., Gainetdinov, R. R. und Caron, M. G. (2008). "Role of GSK3 beta in behavioral abnormalities induced by serotonin deficiency." *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(4): 1333-8.

Bellacosa, A., de Feo, D., Godwin, A. K., Bell, D. W., Cheng, J. Q., Altomare, D. A., Wan, M., Dubeau, L., Scambia, G., Masciullo, V., Ferrandina, G., Benedetti Panici, P., Mancuso, S., Neri, G. und Testa, J. R. (1995). "Molecular alterations of the AKT2 oncogene in ovarian and breast carcinomas." *International journal of cancer Journal international du cancer* 64(4): 280-5.

Bergner, C. L., Smolinsky, A. N., Hart, P. C., Dufour, B. D., Egan, R. J., Laporte, J. L. und Kalueff, A. V. (2010). "Mouse models for studying depression-like states and antidepressant drugs." *Methods in molecular biology* 602(267-82).

Burgering, B. M. und Medema, R. H. (2003). "Decisions on life and death: FOXO Forkhead transcription factors are in command when PKB/Akt is off duty." *Journal of leukocyte biology* 73(6): 689-701.

Calabrese, E. J. (2008). "An assessment of anxiolytic drug screening tests: hormetic dose responses predominate." *Critical reviews in toxicology* 38(6): 489-542.

Calleja, V., Alcor, D., Laguerre, M., Park, J., Vojnovic, B., Hemmings, B. A., Downward, J., Parker, P. J. und Larijani, B. (2007). "Intramolecular and intermolecular interactions of protein kinase B define its activation in vivo." *PLoS biology* 5(4): e95.

Cardone, M. H., Roy, N., Stennicke, H. R., Salvesen, G. S., Franke, T. F., Stanbridge, E., Frisch, S. und Reed, J. C. (1998). "Regulation of cell death protease caspase-9 by phosphorylation." *Science* 282(5392): 1318-21.

Carnero, A. und Paramio, J. M. (2014). "The PTEN/PI3K/AKT Pathway in vivo, Cancer Mouse Models." *Frontiers in oncology* 4(252).

Carracedo, A. und Pandolfi, P. P. (2008). "The PTEN-PI3K pathway: of feedbacks and cross-talks." *Oncogene* 27(41): 5527-41.

Chang, F., Lee, J. T., Navolanic, P. M., Steelman, L. S., Shelton, J. G., Blalock, W. L., Franklin, R. A. und McCubrey, J. A. (2003). "Involvement of PI3K/Akt pathway in cell cycle progression, apoptosis, and neoplastic transformation: a target for cancer chemotherapy." *Leukemia* 17(3): 590-603.

Chavez, J. A., Knotts, T. A., Wang, L. P., Li, G., Dobrowsky, R. T., Florant, G. L. und Summers, S. A. (2003). "A role for ceramide, but not diacylglycerol, in the antagonism of insulin signal transduction by saturated fatty acids." *The Journal of biological chemistry* 278(12): 10297-303.

Chen, S. K., Tvrđik, P., Peden, E., Cho, S., Wu, S., Spangrude, G. und Capecchi, M. R. (2010). "Hematopoietic origin of pathological grooming in Hoxb8 mutant mice." *Cell* 141(5): 775-85.

Chen, W. S., Xu, P. Z., Gottlob, K., Chen, M. L., Sokol, K., Shiyanova, T., Roninson, I., Weng, W., Suzuki, R., Tobe, K., Kadowaki, T. und Hay, N. (2001). "Growth retardation and increased apoptosis in mice with homozygous disruption of the Akt1 gene." *Genes & development* 15(17): 2203-8.

Cheng, J. Q., Godwin, A. K., Bellacosa, A., Taguchi, T., Franke, T. F., Hamilton, T. C., Tsichlis, P. N. und Testa, J. R. (1992). "AKT2, a putative oncogene encoding a member of a subfamily of protein-serine/threonine kinases, is amplified in human ovarian carcinomas." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89(19): 9267-71.

Cheng, J. Q., Ruggeri, B., Klein, W. M., Sonoda, G., Altomare, D. A., Watson, D. K. und Testa, J. R. (1996). "Amplification of AKT2 in human pancreatic cells and inhibition of AKT2 expression and tumorigenicity by antisense RNA." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93(8): 3636-41.

Cho, H., Mu, J., Kim, J. K., Thorvaldsen, J. L., Chu, Q., Crenshaw, E. B., 3rd, Kaestner, K. H., Bartolomei, M. S., Shulman, G. I. und Birnbaum, M. J. (2001). "Insulin resistance and a diabetes mellitus-like syndrome in mice lacking the protein kinase Akt2 (PKB beta)." *Science* 292(5522): 1728-31.

Cho, H., Thorvaldsen, J. L., Chu, Q., Feng, F. und Birnbaum, M. J. (2001). "Akt1/PKBalpha is required for normal growth but dispensable for maintenance of glucose homeostasis in mice." *The Journal of biological chemistry* 276(42): 38349-52.

Cong, L. N., Chen, H., Li, Y., Zhou, L., McGibbon, M. A., Taylor, S. I. und Quon, M. J. (1997). "Physiological role of Akt in insulin-stimulated translocation of GLUT4 in transfected rat adipose cells." *Molecular endocrinology* 11(13): 1881-90.

Cross, D. A., Alessi, D. R., Cohen, P., Andjelkovich, M. und Hemmings, B. A. (1995). "Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B." *Nature* 378(6559): 785-9.

Cross, H. R., Radda, G. K. und Clarke, K. (1995). "The role of Na⁺/K⁺ ATPase activity during low flow ischemia in preventing myocardial injury: a ³¹P, ²³Na and ⁸⁷Rb NMR spectroscopic study." *Magnetic resonance in medicine : official journal of the*

Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine 34(5): 673-85.

Dann, S. G., Selvaraj, A. und Thomas, G. (2007). "mTOR Complex1-S6K1 signaling: at the crossroads of obesity, diabetes and cancer." *Trends Mol Med* 13(6): 252-9.

Datta, S. R., Dudek, H., Tao, X., Masters, S., Fu, H., Gotoh, Y. und Greenberg, M. E. (1997). "Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery." *Cell* 91(2): 231-41.

del Peso, L., Gonzalez-Garcia, M., Page, C., Herrera, R. und Nunez, G. (1997). "Interleukin-3-induced phosphorylation of BAD through the protein kinase Akt." *Science* 278(5338): 687-9.

Deuschle, M., Schweiger, U., Weber, B., Gotthardt, U., Korner, A., Schmider, J., Standhardt, H., Lammers, C. H. und Heuser, I. (1997). "Diurnal activity and pulsatility of the hypothalamus-pituitary-adrenal system in male depressed patients and healthy controls." *J Clin Endocrinol Metab* 82(1): 234-8.

Di Lorenzo, A., Fernandez-Hernando, C., Cirino, G. und Sessa, W. C. (2009). "Akt1 is critical for acute inflammation and histamine-mediated vascular leakage." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106(34): 14552-7.

Dibble, C. C. und Cantley, L. C. (2015). "Regulation of mTORC1 by PI3K signaling." *Trends in cell biology* 25(9): 545-55.

Diez, H., Garrido, J. J. und Wandosell, F. (2012). "Specific roles of Akt iso forms in apoptosis and axon growth regulation in neurons." *PLoS One* 7(4): e32715.

Du, K. und Montminy, M. (1998). "CREB is a regulatory target for the protein kinase Akt/PKB." *The Journal of biological chemistry* 273(49): 32377-9.

Dulawa, S. C., Grandy, D. K., Low, M. J., Paulus, M. P. und Geyer, M. A. (1999). "Dopamine D4 receptor-knock-out mice exhibit reduced exploration of novel stimuli." *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 19(21): 9550-6.

Easton, R. M., Cho, H., Roovers, K., Shineman, D. W., Mizrahi, M., Forman, M. S., Lee, V. M., Szabolcs, M., de Jong, R., Oltersdorf, T., Ludwig, T., Efstratiadis, A. und

Birnbaum, M. J. (2005). "Role for Akt3/protein kinase Bgamma in attainment of normal brain size." *Molecular and cellular biology* 25(5): 1869-78.

Elghazi, L., Rachdi, L., Weiss, A. J., Cras-Meneur, C. und Bernal-Mizrachi, E. (2007). "Regulation of beta-cell mass and function by the Akt/protein kinase B signalling pathway." *Diabetes, obesity & metabolism* 9 Suppl 2(147-57).

Elliott, E., Atlas, R., Lange, A. und Ginzburg, I. (2005). "Brain-derived neurotrophic factor induces a rapid dephosphorylation of tau protein through a PI-3 Kinase signalling mechanism." *Eur J Neurosci* 22(5): 1081-9.

Emamian, E. S., Hall, D., Birnbaum, M. J., Karayiorgou, M. und Gogos, J. A. (2004). "Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3beta signaling in schizophrenia." *Nature genetics* 36(2): 131-7.

Embi, N., Rylatt, D. B. und Cohen, P. (1980). "Glycogen synthase kinase-3 from rabbit skeletal muscle. Separation from cyclic-AMP-dependent protein kinase and phosphorylase kinase." *European journal of biochemistry / FEBS* 107(2): 519-27.

Garofalo, R. S. (2002). "Genetic analysis of insulin signaling in *Drosophila*." *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 13(4): 156-62.

Garofalo, R. S., Orena, S. J., Rafidi, K., Torchia, A. J., Stock, J. L., Hildebrandt, A. L., Coskran, T., Black, S. C., Brees, D. J., Wicks, J. R., McNeish, J. D. und Coleman, K. G. (2003). "Severe diabetes, age-dependent loss of adipose tissue, and mild growth deficiency in mice lacking Akt2/PKB beta." *The Journal of clinical investigation* 112(2): 197-208.

Gould, T. D. und Manji, H. K. (2005). "Glycogen synthase kinase-3: a putative molecular target for lithium mimetic drugs." *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 30(7): 1223-37.

Hanada, M., Feng, J. und Hemmings, B. A. (2004). "Structure, regulation and function of PKB/AKT--a major therapeutic target." *Biochimica et biophysica acta* 1697(1-2): 3-16.

Hauge, C. und Frodin, M. (2006). "RSK and MSK in MAP kinase signalling." *J Cell Sci* 119(Pt 15): 3021-3.

Hay, N. und Sonenberg, N. (2004). "Upstream and downstream of mTOR." *Genes & development* 18(16): 1926-45.

Hoshaw, B. A., Malberg, J. E. und Lucki, I. (2005). "Central administration of IGF-I and BDNF leads to long-lasting antidepressant-like effects." *Brain research* 1037(1-2): 204-8.

Jarskog, L. F., Selinger, E. S., Lieberman, J. A. und Gilmore, J. H. (2004). "Apoptotic proteins in the temporal cortex in schizophrenia: high Bax/Bcl-2 ratio without caspase-3 activation." *Am J Psychiatry* 161(1): 109-15.

Kalueff, A. V. und Murphy, D. L. (2007). "The importance of cognitive phenotypes in experimental modeling of animal anxiety and depression." *Neural plasticity* 2007(52087).

Kathol, R. G., Anton, R., Noyes, R. und Gehris, T. (1989). "Direct comparison of urinary free cortisol excretion in patients with depression and panic disorder." *Biol Psychiatry* 25(7): 873-8.

Katz, R. J., Roth, K. A. und Carroll, B. J. (1981). "Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression." *Neuroscience and biobehavioral reviews* 5(2): 247-51.

Kendler, K. S., Gatz, M., Gardner, C. O. und Pedersen, N. L. (2006). "A Swedish national twin study of lifetime major depression." *Am J Psychiatry* 163(1): 109-14.

Klein, P. S. und Melton, D. A. (1996). "A molecular mechanism for the effect of lithium on development." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93(16): 8455-9.

Kohn, A. D., Kovacina, K. S. und Roth, R. A. (1995). "Insulin stimulates the kinase activity of RAC-PK, a pleckstrin homology domain containing ser/thr kinase." *The EMBO journal* 14(17): 4288-95.

Kos, T., Legutko, B., Danysz, W., Samoriski, G. und Popik, P. (2006). "Enhancement of antidepressant-like effects but not brain-derived neurotrophic factor mRNA expression by the novel N-methyl-D-aspartate receptor antagonist neramexane in mice." *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 318(3): 1128-36.

Lamming, D. W., Ye, L., Sabatini, D. M. und Baur, J. A. (2013). "Rapalogs and mTOR inhibitors as anti-aging therapeutics." *The Journal of clinical investigation* 123(3): 980-9.

Lang, F., Bohmer, C., Palmada, M., Seebohm, G., Strutz-Seebohm, N. und Vallon, V. (2006). "(Patho)physiological significance of the serum- and glucocorticoid-inducible kinase isoforms." *Physiol Rev* 86(4): 1151-78.

Lang, U. E., Hellweg, R., Kalus, P., Bajbouj, M., Lenzen, K. P., Sander, T., Kunz, D. und Gallinat, J. (2005). "Association of a functional BDNF polymorphism and anxiety-related personality traits." *Psychopharmacology* 180(1): 95-9.

Lang, U. E., Jockers-Scherubl, M. C. und Hellweg, R. (2004). "State of the art of the neurotrophin hypothesis in psychiatric disorders: implications and limitations." *Journal of neural transmission* 111(3): 387-411.

Lang, U. E., Puls, I., Muller, D. J., Strutz-Seebohm, N. und Gallinat, J. (2007). "Molecular mechanisms of schizophrenia." *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology* 20(6): 687-702.

Le Marchand-Brustel, Y., Gual, P., Gremeaux, T., Gonzalez, T., Barres, R. und Tanti, J. F. (2003). "Fatty acid-induced insulin resistance: role of insulin receptor substrate 1 serine phosphorylation in the retroregulation of insulin signalling." *Biochemical Society transactions* 31(Pt 6): 1152-6.

Li, D., August, S. und Woulfe, D. S. (2008). "GSK3beta is a negative regulator of platelet function and thrombosis." *Blood* 111(7): 3522-30.

Li, X., Zhu, W., Roh, M. S., Friedman, A. B., Rosborough, K. und Jope, R. S. (2004). "In vivo regulation of glycogen synthase kinase-3beta (GSK3beta) by serotonergic activity in mouse brain." *Neuropsychopharmacology* 29(8): 1426-31.

Li, Z., Jo, J., Jia, J. M., Lo, S. C., Whitcomb, D. J., Jiao, S., Cho, K. und Sheng, M. (2010). "Caspase-3 activation via mitochondria is required for long-term depression and AMPA receptor internalization." *Cell* 141(5): 859-71.

Machado-Vieira, R., Kapczinski, F. und Soares, J. C. (2004). "Perspectives for the development of animal models of bipolar disorder." *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* 28(2): 209-24.

Manning, B. D. und Cantley, L. C. (2007). "AKT/PKB signaling: navigating downstream." *Cell* 129(7): 1261-74.

Mao, Q. Q., Xian, Y. F., Ip, S. P., Tsai, S. H. und Che, C. T. (2010). "Long-term treatment with peony glycosides reverses chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like behavior via increasing expression of neurotrophins in rat brain." *Behavioural brain research* 210(2): 171-7.

Miwa, W., Yasuda, J., Murakami, Y., Yashima, K., Sugano, K., Sekine, T., Kono, A., Egawa, S., Yamaguchi, K., Hayashizaki, Y. und Sekiya, T. (1996). "Isolation of DNA sequences amplified at chromosome 19q13.1-q13.2 including the AKT2 locus in human pancreatic cancer." *Biochemical and biophysical research communications* 225(3): 968-74.

Mohajeri, M. H., Madani, R., Saini, K., Lipp, H. P., Nitsch, R. M. und Wolfer, D. P. (2004). "The impact of genetic background on neurodegeneration and behavior in seized mice." *Genes, brain, and behavior* 3(4): 228-39.

Moore, S. F., Hunter, R. W. und Hers, I. (2011). "mTORC2 protein complex-mediated Akt (Protein Kinase B) Serine 473 Phosphorylation is not required for Akt1 activity in human platelets [corrected]." *The Journal of biological chemistry* 286(28): 24553-60.

Murray, C. J. und Lopez, A. D. (1997). "Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study." *Lancet* 349(9064): 1498-504.

Nakatani, K., Thompson, D. A., Barthel, A., Sakaue, H., Liu, W., Weigel, R. J. und Roth, R. A. (1999). "Up-regulation of Akt3 in estrogen receptor-deficient breast cancers and androgen-independent prostate cancer lines." *The Journal of biological chemistry* 274(31): 21528-32.

Namikawa, K., Honma, M., Abe, K., Takeda, M., Mansur, K., Obata, T., Miwa, A., Okado, H. und Kiyama, H. (2000). "Akt/protein kinase B prevents injury-induced motoneuron death and accelerates axonal regeneration." *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 20(8): 2875-86.

Newton, A. C. (2003). "Regulation of the ABC kinases by phosphorylation: protein kinase C as a paradigm." *Biochem J* 370(Pt 2): 361-71.

Nicholson, K. M. und Anderson, N. G. (2002). "The protein kinase B/Akt signalling pathway in human malignancy." *Cellular signalling* 14(5): 381-95.

Paslakis, G., Blum, W. F. und Deuschle, M. (2012). "Intranasal insulin-like growth factor I (IGF-I) as a plausible future treatment of depression." *Med Hypotheses* 79(2): 222-5.

Peck, G. R., Chavez, J. A., Roach, W. G., Budnik, B. A., Lane, W. S., Karlsson, H. K., Zierath, J. R. und Lienhard, G. E. (2009). "Insulin-stimulated phosphorylation of the Rab GTPase-activating protein TBC1D1 regulates GLUT4 translocation." *The Journal of biological chemistry* 284(44): 30016-23.

Polter, A., Yang, S., Zmijewska, A. A., van Groen, T., Paik, J. H., Depinho, R. A., Peng, S. L., Joje, R. S. und Li, X. (2009). "Forkhead box, class O transcription factors in brain: regulation and behavioral manifestation." *Biol Psychiatry* 65(2): 150-9.

Rachman, S. (2004). "Fear of contamination." *Behaviour research and therapy* 42(11): 1227-55.

Riaz, A., Zeller, K. S. und Johansson, S. (2012). "Receptor-specific mechanisms regulate phosphorylation of AKT at Ser473: role of RICTOR in beta1 integrin-mediated cell survival." *PloS one* 7(2): e32081.

Ries, V., Henchcliffe, C., Kareva, T., Rzhetskaya, M., Bland, R., During, M. J., Kholodilov, N. und Burke, R. E. (2006). "Oncoprotein Akt/PKB induces trophic effects in murine models of Parkinson's disease." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103(49): 18757-62.

Robert Koch Institut und Statistisches Bundesamt (2010). "Gesundheitsberichterstattung des Bundes"

[http://www.gbe-](http://www.gbe-bund.de/gbe10/ergebnisse.prc_tab?fid=13165&suchstring=&query_id=&sprache=D&fund_typ=TXT&methode=&vt=&verwandte=1&page_ret=0&seite=1&p_lfd_nr=2&p_news=&p_sprachkz=D&p_uid=gastd&p_aid=78970459&hlp_nr=2&p_janein=J#KapTabellen%20mit%20Wertenz)

[bund.de/gbe10/ergebnisse.prc_tab?fid=13165&suchstring=&query_id=&sprache=D&fund_typ=TXT&methode=&vt=&verwandte=1&page_ret=0&seite=1&p_lfd_nr=2&p_news=&p_sprachkz=D&p_uid=gastd&p_aid=78970459&hlp_nr=2&p_janein=J#KapTabellen%20mit%20Wertenz](http://www.gbe-bund.de/gbe10/ergebnisse.prc_tab?fid=13165&suchstring=&query_id=&sprache=D&fund_typ=TXT&methode=&vt=&verwandte=1&page_ret=0&seite=1&p_lfd_nr=2&p_news=&p_sprachkz=D&p_uid=gastd&p_aid=78970459&hlp_nr=2&p_janein=J#KapTabellen%20mit%20Wertenz) [Zugriff 29.06.2016]

Romashkova, J. A. und Makarov, S. S. (1999). "NF-kappaB is a target of AKT in anti-apoptotic PDGF signalling." *Nature* 401(6748): 86-90.

Ruggeri, B. A., Huang, L., Wood, M., Cheng, J. Q. und Testa, J. R. (1998). "Amplification and overexpression of the AKT2 oncogene in a subset of human pancreatic ductal adenocarcinomas." *Molecular carcinogenesis* 21(2): 81-6.

Ryves, W. J. und Harwood, A. J. (2001). "Lithium inhibits glycogen synthase kinase-3 by competition for magnesium." *Biochem Biophys Res Commun* 280(3): 720-5.

Sarbassov, D. D., Guertin, D. A., Ali, S. M. und Sabatini, D. M. (2005). "Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex." *Science* 307(5712): 1098-101.

Schmitz-Peiffer, C., Craig, D. L. und Biden, T. J. (1999). "Ceramide generation is sufficient to account for the inhibition of the insulin-stimulated PKB pathway in C2C12 skeletal muscle cells pretreated with palmitate." *The Journal of biological chemistry* 274(34): 24202-10.

Sen, S., Duman, R. und Sanacora, G. (2008). "Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications." *Biol Psychiatry* 64(6): 527-32.

Shaw, M., Cohen, P. und Alessi, D. R. (1997). "Further evidence that the inhibition of glycogen synthase kinase-3beta by IGF-1 is mediated by PDK1/PKB-induced phosphorylation of Ser-9 and not by dephosphorylation of Tyr-216." *FEBS letters* 416(3): 307-11.

Shepherd, J. K., Grewal, S. S., Fletcher, A., Bill, D. J. und Dourish, C. T. (1994). "Behavioural and pharmacological characterisation of the elevated "zero-maze" as an animal model of anxiety." *Psychopharmacology* 116(1): 56-64.

Shiojima, I., Sato, K., Izumiya, Y., Schiekofer, S., Ito, M., Liao, R., Colucci, W. S. und Walsh, K. (2005). "Disruption of coordinated cardiac hypertrophy and angiogenesis contributes to the transition to heart failure." *The Journal of clinical investigation* 115(8): 2108-18.

Shiojima, I. und Walsh, K. (2002). "Role of Akt signaling in vascular homeostasis and angiogenesis." *Circulation research* 90(12): 1243-50.

Sim, K., Chua, T. H., Chan, Y. H., Mahendran, R. und Chong, S. A. (2006). "Psychiatric comorbidity in first episode schizophrenia: a 2 year, longitudinal outcome study." *J Psychiatr Res* 40(7): 656-63.

Siuciak, J. A., Lewis, D. R., Wiegand, S. J. und Lindsay, R. M. (1997). "Antidepressant-like effect of brain-derived neurotrophic factor (BDNF)." *Pharmacol Biochem Behav* 56(1): 131-7.

Song, G., Ouyang, G. und Bao, S. (2005). "The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival." *Journal of cellular and molecular medicine* 9(1): 59-71.

Staal, S. P. (1987). "Molecular cloning of the akt oncogene and its human homologues AKT1 and AKT2: amplification of AKT1 in a primary human gastric adenocarcinoma." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 84(14): 5034-7.

Steru, L., Chermat, R., Thierry, B. und Simon, P. (1985). "The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice." *Psychopharmacology* 85(3): 367-70.

Stocker, H. und Hafen, E. (2000). "Genetic control of cell size." *Current opinion in genetics & development* 10(5): 529-35.

Strekalova, T., Spanagel, R., Bartsch, D., Henn, F. A. und Gass, P. (2004). "Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration." *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 29(11): 2007-17.

Takeda, A., Osaki, M., Adachi, K., Honjo, S. und Ito, H. (2004). "Role of the phosphatidylinositol 3'-kinase-Akt signal pathway in the proliferation of human pancreatic ductal carcinoma cell lines." *Pancreas* 28(3): 353-8.

Tschopp, O., Yang, Z. Z., Brodbeck, D., Dummler, B. A., Hemmings-Mieszczak, M., Watanabe, T., Michaelis, T., Frahm, J. und Hemmings, B. A. (2005). "Essential role of protein kinase B gamma (PKB gamma/Akt3) in postnatal brain development but not in glucose homeostasis." *Development* 132(13): 2943-54.

Ubbenhorst, A., Striebich, S., Lang, F. und Lang, U. E. (2011). "Exploring the relationship between vitamin D and basic personality traits." *Psychopharmacology* 215(4): 733-7.

Viale-Bouroncle, S., Klingelhoffer, C., Ettl, T. und Morscheck, C. (2015). "The AKT signaling pathway sustains the osteogenic differentiation in human dental follicle cells." *Molecular and cellular biochemistry* 406(1-2): 199-204.

Vincent, E. E., Elder, D. J., Thomas, E. C., Phillips, L., Morgan, C., Pawade, J., Sohail, M., May, M. T., Hetzel, M. R. und Tavaré, J. M. (2011). "Akt phosphorylation on Thr308 but not on Ser473 correlates with Akt protein kinase activity in human non-small cell lung cancer." *British journal of cancer* 104(11): 1755-61.

Wang, J. M., Chao, J. R., Chen, W., Kuo, M. L., Yen, J. J. und Yang-Yen, H. F. (1999). "The antiapoptotic gene *mcl-1* is up-regulated by the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway through a transcription factor complex containing CREB." *Molecular and cellular biology* 19(9): 6195-206.

Whiteman, E. L., Cho, H. und Birnbaum, M. J. (2002). "Role of Akt/protein kinase B in metabolism." *Trends Endocrinol Metab* 13(10): 444-51.

WHO (2012). "Depressionen in Europa: Fakten und Zahlen" <http://www.euro.who.int/de/health-topics/noncommunicable-diseases/pages/news/news/2012/10/depression-in-europe/depression-in-europe-facts-and-figures> [Zugriff: 29.06.2016]

Yang, G., Murashige, D. S., Humphrey, S. J. und James, D. E. (2015). "A Positive Feedback Loop between Akt and mTORC2 via SIN1 Phosphorylation." *Cell reports* 12(6): 937-43.

Yang, Z. Z., Tschopp, O., Hemmings-Mieszczak, M., Feng, J., Brodbeck, D., Perentes, E. und Hemmings, B. A. (2003). "Protein kinase B alpha/Akt1 regulates placental development and fetal growth." *The Journal of biological chemistry* 278(34): 32124-31.

Young, E. A., Kotun, J., Haskett, R. F., Grunhaus, L., Greden, J. F., Watson, S. J. und Akil, H. (1993). "Dissociation between pituitary and adrenal suppression to dexamethasone in depression." *Archives of general psychiatry* 50(5): 395-403.

Zhang, Q., Liu, G., Wu, Y., Sha, H., Zhang, P. und Jia, J. (2011). "BDNF promotes EGF-induced proliferation and migration of human fetal neural stem/progenitor cells via the PI3K/Akt pathway." *Molecules* 16(12): 10146-56.

Veröffentlichung

Teile der vorliegenden Dissertation wurde bereits in folgender Publikation veröffentlicht:

Leibrock, C., Ackermann, T. F., Hierlmeier, M., Lang, F., Borgwardt, S. und Lang, U. E. (2013). "Akt2 deficiency is associated with anxiety and depressive behavior in mice." *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology* 32(3): 766-77.

Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde im Institut der Physiologie I in Tübingen unter Betreuung von Prof. Dr. med. Florian Lang durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Christina Leibrock, PhD Studentin.

Die Studien mit Akt2 Knockout-Mäusen wurden zusammen mit Christina Leibrock und mir durchgeführt. Die Verhaltenstests mit Akt3 Knockout-Mäusen wurden hingegen ausschließlich von mir durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte eigenständig durch mich.

Ich versichere, dass Manuskript selbstständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den 21.12.2016

Danksagung

Abschließend möchte ich mich bei den Personen bedanken, die mich bei meiner Arbeit unterstützt haben.

Herrn Professor Dr. Florian Lang danke ich besonderes für das Angebot und die Möglichkeit unter seiner Leitung im Physiologischen Institut der Eberhard Karls Universität Tübingen zu promovieren. Dies ist eine große Ehre für mich.

Außerdem möchte ich dem ganzen Team des „Mouse Phenotyping Lab“ der Physiologie I in Tübingen für die Einführung in die Welt der Wissenschaft und die tatkräftige Unterstützung danken.

Danken möchte ich zudem meiner Schwester Dr. Barbara Raddatz, PhD, die vor allem mit ihrer großen Erfahrung in der wissenschaftlichen Forschung immer wieder hilfreiche Ratschläge bei der Anfertigung meiner Arbeit beisteuerte.

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Frau Sophie Hierlmeier, die mich während meiner Promotionszeit immer wieder unterstützte und neu motivierte, den Weg zu Ende zu gehen. Sie war und wird immer mein seelischer Rückhalt bleiben.

Schlussendlich möchte ich mich aus ganzem Herzen bei meinen lieben Eltern Anna Maria und Dr. Heinrich Hierlmeier bedanken und ihnen meine Doktorarbeit widmen. Mit ihrer unermüdlichen Unterstützung war es mir möglich, diese Hürde in meinem Leben erfolgreich zu meistern.

Allen ein herzliches „Vergelt's Gott“