



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Maus=Maus? Analyse der Effekte perinataler Stressoren bei der Generierung und Zucht von Labormäusen

Autor: Sandra Lerch
Institut / Klinik: Interfakultäre Biomedizinische Forschungseinrichtung Heidelberg
Doktormutter: Priv.-Doz. Dr. S. Chourbaji

Hintergrund: In tierexperimentellen Ansätzen ist der am häufigsten eingesetzte Modellorganismus, mit einem Anteil von 61%, die Labormaus. Der Einsatz der Maus als Versuchstier ist aufgrund einfacher Haltungsmöglichkeiten, des effizienten Generierungszeitraums und der Manipulationsmöglichkeiten im Genom von großem Wert für die wissenschaftliche Gemeinschaft. Eine große Variabilität an Inzuchtstämmen steht zur Verfügung, um humane Krankheitsbilder in Tiermodellen abzubilden. Der Stamm C57BL/6N ist der mit am häufigsten eingesetzte Inzuchtstamm in der tierexperimentellen Forschung, weshalb dieser Mausstamm auch in der vorliegenden Dissertation verwendet wurde. Der Stamm NMRI wurde als Ammenmutter und als einer der Rezipientenstämmen im Embryotransfer verwendet und war somit genetisch nicht in den Nachkommen vertreten. Das Read-out der Nachkommen bezog sich somit ausschließlich auf den C57BL/6N Stamm.

Hochstandardisierte Bedingungen in Bezug auf Haltung und Hygiene von Versuchstieren definieren den Hintergrund für wissenschaftliche Studien, um somit valide und reproduzierbare Forschungsergebnisse zu gewährleisten. Zuchtbedingungen wird hinsichtlich ihrer Beeinflussung bislang allerdings wenig Beachtung geschenkt, obwohl gerade Störungen in der perinatalen Phase großen Einfluss auf adulte Nachkommen haben können.

Methoden: Da die Zucht eine unerlässliche Maßnahme bei der Generierung von speziellen Mauslinien ist, wurden verschiedene Zuchtbedingungen, wie sie in Tierhaltungen routinemäßig eingesetzt werden, experimentell unter Standardbedingungen simuliert, und zum einen das maternale Verhalten und zum anderen die Auswirkungen auf den emotionalen Phänotyp adulter Nachkommen untersucht.

Die untersuchten perinatalen (Stress) Bedingungen beinhalteten:

- **Olfaktorische Einflüsse:** Fäzesexposition (fremder Mäuseböcke) tragender (präpartale Stressexposition) und laktierender C57BL/6-Mäusemütter (postpartale Stressexposition)
- **Verpaarungsalter:** C57BL/6-Muttertiere wurden zum Zeitpunkt von 16 Wochen und zu einem Zeitpunkt von 30 Wochen erneut verpaart
- **Dauerverpaarungen (DVP):** synchrone Trächtigkeit & Aufzucht von C57BL/6-Muttertieren durch die permanente Vatertierexposition
- **Ammenaufzuchten:** Unterlegen fremder C57BL/6 Würfe zu Ammenmüttern eines In- (C57BL/6) und Auszuchtstamms (NMRI)
- **Embryotransfer (ET):** Transfer von C57BL/6 Zweizellen in einen In- (C57BL/6) und Auszuchtstamm (NMRI), sowie in einem Präexperiment die Analyse der Auswirkungen des operativen Eingriffs per se an C57BL/6-Muttertieren

Alle Stress-Gruppen wurden jeweils mit einer spezifischen Kontrollgruppe verglichen, um die Effekte adressierter Faktoren zu detektieren.

Maternales Verhalten (Exploration, Nestbau, Eintrageverhalten) wurde während der Trächtigkeit und Aufzucht analysiert. Die Nachkommen wurden im Alter von acht Wochen in einer Testbatterie auf Veränderungen in Exploration, Ängstlichkeit, Sozialverhalten, depressionsähnlichem Verhalten und emotionalem Lernen getestet. Finale Blutproben wurden auf das Stresshormon Corticosteron analysiert. Für die Mütter wurden die Ergebnisse mittels ein-, für die Nachkommen mittels einer zweifaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) analysiert.

Ergebnisse:

Olfaktorische Einflüsse:

- *Mütter:* Präpartal gestresste Mütter wiesen eine gesteigerte Nestbauqualität auf. Somit konnte kein beeinträchtigttes maternales Verhalten durch diesen Stressor festgestellt werden.
- *Jungtiere:* Die pränatale Stressexposition beeinträchtigte eher Männchen in ihrer Ängstlichkeit, während Weibchen infolge der postnatalen Stressexposition ängstlicher waren. **Olfaktorische Einflüsse wirkten sich geschlechts- und zeitabhängig auf die Ängstlichkeit der Jungtiere aus.**

Verpaarungsalter:

- *Mütter:* Muttertiere zeigten im Alter von 30 Wochen überwiegend verstärktes Nestbauverhalten.
- *Jungtiere:* Männliche Nachkommen jüngerer Mütter (16 Wochen) waren sozial aktiver als Weibchen dieser Mütter. Männliche Nachkommen älterer Mutter zeigten sich im Nestbau tendenziell beeinträchtigt. **Der Einsatz erfahrener Mütter, die jedoch ein Alter von ca. 16 Wochen nicht überschreiten scheinen einen Phänotyp zur Folge zu haben, der ein stabiles bekanntes Verhaltensmuster aufweist.**

Dauerverpaarungen:

- *Mütter:* DVP Muttertiere zeigten ein gesteigertes Nestbauverhalten und damit kein beeinträchtigttes maternales Verhalten.
- *Jungtiere:* Nachkommen aus DVP bauten weniger intensiv an ihren Nestern und waren ängstlicher als die Kontrolltiere. Zusätzlich wiesen weibliche Nachkommen aus DVP depressionsähnliches Verhalten auf. **Die Konditionen der DVP scheinen somit den Verhaltensphänotyp der Nachkommen nachhaltig zu beeinträchtigen.**

Ammenaufzuchten:

- *Mütter:* Ammenmütter zeigten reduziertes Explorationsverhalten im Vergleich zu Kontrollmüttern (leibliche Mütter). Stammvergleiche zwischen Ammenmüttern wiesen auf eine erhöhte Exploration in NMRI Ammenmüttern und stärkeren Nestbau in C57BL/6 Ammenmüttern hin.
- *Jungtiere:* Nachkommen, die durch Ammenmütter aufgezogen wurden, zeigten im Vergleich zu Kontrolltieren reduzierten Nestbau und depressionsähnliches Verhalten. Stammvergleiche wiesen auf ein gesteigertes Explorationsverhalten und erhöhte Emotionalität in Weibchen und auf reduzierten Nestbau und reduzierte Emotionalität in Männchen hin, die durch Ammen des Stammes NMRI aufgezogen wurden. **Ammenaufzuchten scheinen per se einen veränderten Phänotyp zu induzieren. Verschiedene Stämme von Ammen scheinen die Nachkommen auf geschlechtsspezifische Weise zusätzlich zu beeinflussen.**

Embryotransfer:

- *Mütter:* Es ergaben sich keine signifikanten Verhaltensänderungen durch den operativen Eingriff per se. Kontrollmütter erwiesen sich mehrheitlich als bessere Nestbauer. Stammvergleiche deuten auf eine erhöhte Exploration der NMRI Rezipienten hin, dafür ergab sich eine erhöhte mütterliche Fürsorge der C57BL/6 Rezipienten.
- *Jungtiere:* Es ergaben sich erhöhte Stresshormonlevel weiblicher Nachkommen durch den operativen Eingriff per se. Erhöhte Soziabilität zeigte sich in weiblichen ET-Nachkommen. Stammvergleiche ergaben auch ein gesteigertes soziales Interesse weiblicher Nachkommen beider Rezipientenmütter und reduziertes männlicher Nachkommen. **Es konnte durch den ET per se kein benachteiligter Phänotyp dargestellt werden. Der Stamm der Rezipientenmutter scheint den Phänotyp aber geschlechtsspezifisch zu beeinflussen.**

Zusammenfassung: Schlussfolgernd wird deutlich, dass Zuchtbedingungen einen veränderten Phänotyp generieren können und sich dieser auch individuell im Geschlecht widerspiegeln kann. Ammenaufzuchten und Dauerverpaarungen generierten die ausgeprägtesten Veränderungen in der Emotionalität adulter Nachkommen. Unter Berücksichtigung dessen, dass Labormäuse als Modellorganismus für spezifische Krankheiten fungieren wird klar, dass zuchtbedingt veränderte Phänotypen Versuchsergebnisse beeinflussen können und dadurch, je nach Art der Fragestellung, entsprechend Artefakte generiert werden können. Diesbezüglich ergibt sich aus dieser Arbeit die Empfehlung, bei der Arbeit mit Tieren genauer auf perinatale Einflüsse zu achten, um somit valide und reproduzierbare Forschungsergebnisse zu gewährleisten - auch im Sinne verminderten Einsatzes von Versuchstieren, als Teil des 3R Konzepts.