

Analyse der Informationsverarbeitung in CHL1-defizienten Mäusen mittels metabolischer Markierung, Expressionsstudien der Immediate-Early-Gene c-fos und arg3.1/arc sowie verhaltensbiologischer Tests

Abstract

The L1-family member CHL1 (Close Homolog of L1) belongs to the Ig-superfamily of neural cell recognition molecules. Deletion of CHL1 in mice leads to abnormal axonal connections in the olfactory bulb and hippocampus. The first behavioral analysis showed differences, which may reflect altered information processing, possibly novel versus familiar, in CHL1-deficient mice. The aim of the present study was to determine if alterations in the neuronal network detected in CHL1-deficient mice influence brain information processing in these animals. Therefore the activity of different limbic and neocortical areas after stimulation with a novel, familiar or neutral taste was analyzed using different markers. 2-DG as a marker for metabolic activity revealed no general differences in the activation of analyzed brain areas between wild type and CHL1-deficient animals. In contrast, the stimulation of wild type mice with a novel taste (novelty) leads to a significant higher expression of the IEG c-fos, a transcription factor, and arg3.1/arc, an effector gene, than exposure to a neutral taste. Similar elevated levels of c-fos and arg3.1/arc in CHL1-deficient mice could be induced not only by a new taste but also by a familiar one. This effect was most prominent in amygdala and cingulate cortices. Similar representation of new and familiar stimuli in novelty-processing areas of CHL1-deficient mice could result in wrong perception of the novel/familiar dimension of the stimuli. Further behavioral analysis using open field/hole board and odor familiarization tests could not detect any impairment in novelty-detection or familiarization in the absence of CHL1. A classical fear-conditioning test showed that the general function of amygdala and hippocampus is normal as well. However, the altered behavior of CHL1-deficient animals in these experiments could indicate an incorrect processing of information leading to an altered behavior for instance due to fearful situations. In the second part of this work, the use of loxP-Cre-recombinase systems for generation of CHL1-deficient mice was investigated using different molecular biological, biochemical and immunohistochemical methods. It was shown that the mutation of the CHL1-gene similar to the conventional gene targeting strategy results in a reduction of CHL1 expression in the brain of loxP-CMV-Cre-mice. This in turn leads to similar altered axonal projections in the hippocampus and olfactory bulb as in conventional CHL1-deficient animals. In summary this work supports the theory that CHL1 is involved in the correct establishment of neuronal networks and that the absence of this molecule leads to errors in axonal projections and connections. It was shown for the first time that morphological abnormalities in the neuronal network of animals correlate with alterations of cellular activity which could in turn influence information processing and behavioral reaction to special stimuli.

Zusammenfassung

Das Molekül CHL1 (Close Homolog of L1) gehört zur L1-Familie der Ig-Superfamilie neuraler Zellerkennungsmoleküle. Die Deletion von CHL1 in der Maus führte im Hippocampus und im olfaktorischen Bulbus zu Fehlern in der axonalen Verschaltung. Erste verhaltensbiologische Analysen konnten bei CHL1-defizienten Tieren Unterschiede im Verhalten aufzeigen, die auf eine veränderte Informationsverarbeitung schließen lassen. Ziel der vorliegenden Arbeit war es herauszufinden, ob das fehlerhafte neuronale Netzwerk CHL1-defizienter Tiere Prozesse der Informationsverarbeitung im Gehirn beeinflusst. Zur Überprüfung dieser Theorie wurde die Aktivität verschiedener limbischer und neokortikaler Areale CHL1-defizienter Tiere nach Stimulation mit einem neuen, vertrauten oder neutralen Geschmack untersucht. Als Aktivitätsmarker dienten neben 2-Deoxyglukose die IEGs c-fos, ein modulatorischer Transkriptionsfaktor, und arg3.1/arc, ein Effektor-Gen. Mit 2DG, einem Marker für metabolische Aktivität, konnten keine generellen Unterschiede in der Aktivierung von Hirnarealen durch geschmackliche Stimulation zwischen Wildtypen und CHL1-defizienten Tieren gefunden werden. Im Gegensatz dazu führte die Stimulation von Wildtypen mit einer neuen Lösung (Novelty) im Vergleich zu einer neutralen Lösung zu einer signifikant erhöhten Expression der IEGs c-fos und arg3.1/arc. Ähnlich erhöhte Expressionslevel konnten in bestimmten Hirnarealen CHL1-defizienter Tiere sowohl durch eine neue als auch eine vertraute Lösung induziert werden. Am deutlichsten wurde dieser Effekt in der Amygdala und den cingulären Kortizes. Diese gleichförmige Repräsentation neuer und vertrauter Stimuli in Arealen des Novelty-verarbeitenden Netzwerkes CHL1-defizienter Tiere deuten auf eine gestörte Erkennung dieser Stimuli hin. Weitere verhaltensbiologische Untersuchungen zur Novelty-Detektion und Familiarisierung mittels Offenfeld-Lochbrett-Test und Geruchs-Kennenlern-Test ließen dagegen keine Beeinträchtigung dieser Prozesse in Abwesenheit von CHL1 erkennen. Die Überprüfung der Funktion von Hippocampus und Amygdala durch eine klassische Angst-Konditionierung ergaben keine Hinweise auf eine grundsätzliche Störung dieser Areale. CHL1-defiziente Tiere zeigten in den genannten Tests allerdings Veränderungen im Verhalten, die darauf hindeuten, daß CHL1-defiziente Tiere Informationen nicht korrekt verarbeiten können und zum Beispiel auf angstvolle Situationen in veränderter Weise reagieren. Im zweiten Teil der Arbeit wurde untersucht, ob auch die Verwendung eines loxP-Cre-Rekombinase-Systems zu einer CHL1-Defizienz führt. Durch molekularbiologische, proteinbiochemische und immunhistochemische Methoden konnte gezeigt werden, daß eine zum konventionellen CHL1-knock-out äquivalente Mutation im CHL1-Gen zu einer Reduktion des Proteins im Gehirn von loxP-CMV-Cre-Tieren führte und vergleichbare axonale Projektionsfehler im Hippocampus und im olfaktorischen Bulbus auftraten. Durch die vorliegenden Ergebnisse wird die Theorie erhärtet, daß CHL1 an der korrekten Ausbildung des neuronalen Netzwerkes beteiligt ist und das permanente Fehlen des Moleküls zu axonalen Projektionsfehlern führt. Zudem konnte erstmalig gezeigt werden, daß morphologische Veränderungen im neuronalen Netzwerk mit Veränderungen von Informationsverarbeitungsprozessen auf molekularer Ebene korrelieren, was die Verhaltensantwort von Tieren auf bestimmte Reize beeinflussen kann.