

eMed Alkoholabhängigkeit
Eine systemorientierte Herangehensweise

SP5: Zentrale Ressource IV

Tiermodell der Alkoholabhängigkeit B (Mathematische Modellierung)

Förderperiode 2014 - 2016

Schlussbericht

Antragsteller: Ruprecht-Karls Universität Heidelberg

Projektleiter: Dr. Franziska Matthäus

Förderkennzeichen: 01ZX1311C

I. Kurzdarstellung

1. Aufgabenstellung

Im Rahmen dieses Projektes sollte ein mathematisches Modell zur Beschreibung und Analyse von Trinkverhalten im Tierversuch weiterentwickelt werden, und zur Beschreibung von Trinkmustern genutzt werden. Weitere Ziele beinhalteten die Kategorisierung der Tiere in abhängige und nicht-abhängige Tiere, sowie das Clustering in Gruppen mit ähnlichem Trinkverhalten und die Charakterisierung der Muster. Mit Hilfe dieses Ansatzes sollten Datensätze aus verschiedenen Drinkometer-Experimenten analysiert werden, unter anderem auch das Trinkverhalten nach Medikation.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das Projekt wurde in enger Zusammenarbeit mit mit Partnern (Valentina Vengeliene) am ZI Mannheim durchgeführt. Im Rahmen dieser Kooperation standen zeitlich hochaufgelöste Daten aus einem speziell entwickelten Tiermodell zur Verfügung, in dem die Tiere (Ratten) freien Zugang zu Wasser und verschiedenen alkoholischen Lösungen (5, 10, 20%) hatten. Die hohe zeitliche Auflösung, zusammen mit dem multivariaten Charakter der Zeitreihen, bietet dabei eine besondere Herausforderung für die Identifikation und Modellierung der Trinkmuster. Allerdings konnte hier auf vorhergehende Arbeiten aufgebaut werden, in denen ein Ansatz zur stochastischen Modellierung und Kategorisierung entwickelt wurde. Zudem standen aus einem vorherigen Projekt Daten und Analyseergebnisse zum Abgleich mit den neuen Daten zur Verfügung.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Ursprünglicher Arbeitsplan (siehe Antrag):

Arbeitsschritte in 12-Montats-Blöcken	-12	-24	-36
WP3. Kalibrierung des Ansatzes zur Klassifizierung der Trinker-Typen von Ratten	M	M	M
WP3. Verifizierung des Modells und des Kriteriums zur Identifikation der Abhängigkeit	M		
WP3. Klassifizierung und Charakterisierung der Trinkmuster von Ratten unter Medikation		M	M
WP3. Erweiterung des Modells für Mäuse	M		M
WP3: Klassifikation and Charakterisierung des Trinkverhaltens von humanisierten Mäusen unter Medikation		M	M

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand

Die automatische Erfassung der aufgenommenen Trinkmengen im Long-term alcohol self-administration-Protokoll wurde in der Arbeitsgruppe von R. Spanagel am ZI entwickelt, eine etablierte Methode, die sehr lange und hoch aufgelöste Zeitreihen des Wasser- und Alkoholkonsums liefert [1]. In diesem experimentellen Ansatz haben Ratten freien Zugang zu 5%-iger, 10%-iger und 20%-iger Ethanolösung, sowie Wasser für mehrere Wochen. Im Anschluss erfolgt ein zweiwöchiger Alkoholentzug. Über die aufgenommene Alkoholmenge in den ersten Tagen nach der Entzugsphase wird der Entzugseffekt (alcohol deprivation effect, ADE) gemessen. Zusätzlich werden dabei in einzelnen

Kontrollgruppen die Alkohollösungen mit Quinine versetzt, da dessen bitterer Geschmack für Ratten normalerweise abstossend wirkt. In den in diesem Projekt vorliegenden Daten lagen auch Daten vor in denen Ratten mit Nalmefene [2] behandelt wurden.

Für die Auswertung der Trinkdaten wurde bereits ein modellgestützter Ansatz entwickelt, der die Beschreibung, Kategorisierung und Charakterisierung von Trinkmustern erlaubt [3]. Hierbei kommen generalisierte lineare Modelle und multinomiale logistische Regression zum Einsatz um die Daten zu beschreiben. Mit Hilfe des Akaike Informationskriteriums wird eine Modellselektion durchgeführt. Basierend auf diesen Modellen können die Trinkmuster anschliessend über einen Expectation-Maximization-Algorithmus in verschiedene Cluster aufgeteilt werden. Zusätzlich wurde eine neue Methode entwickelt, um in diesem speziellen Setup mit mehreren alkoholischen Lösungen, und teilweise unter Quinine-Zugabe, Abhängigkeit einzelner Tiere allein auf Basis des Trinkverhaltens zu identifizieren [4].

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Zusammenarbeit innerhalb des Konsortiums:

SP5: Bereitstellung der Daten zum Trinkverhalten im Tierversuch (für Teil A)

Referenzen:

[1] Vengeliene V, Noori HR, Spanagel R., The use of a novel Drinkometer system for assessing pharmacological treatment effects on ethanol consumption in rats, *Alcohol Clin Exp Res.* 37 (Suppl 1): E322-8, 2013.

[2] F. Paille & H. Martini, Nalmefene: a new approach to the treatment of alcohol dependence, *Subst Abuse Rehabil.* 5: 87-94, 2014.

[3] L. Villarín Pildaín, Alcohol drinking pattern analysis - an in silico tool to model and predict addictive behaviors, PhD thesis, 2012.

[4] L. Villarín Pildaín, V. Vengeliene, F. Matthäus, New measurement criteria for studying alcohol drinking and relapse in rodents, *In Silico Pharmacology* 1:13, 2013.

II. Eingehende Darstellung

1. Erzielte Ergebnisse

Mit der in der AG Matthäus entwickelten Methodik zum Zeitreihen-Clustering können die Versuchstiere in verschiedene Trinktypen klassifiziert werden. Der Ansatz über die Beschreibung der stochastischen Zeitreihen mittels generalisierter linearer Modelle bezieht dabei alle dynamischen Charakteristiken des Trinkverhaltens in die Kategorisierung ein. Die verschiedenen Cluster unterscheiden sich in der Trinkdynamik und Zusammensetzung der aufgenommenen Lösungen. In bisherigen Analysen konnte festgestellt werden, dass die Unterschiede im Trinkverhalten der Gruppen zum Teil durch unterschiedliche Lösungspräferenz erklärt werden können. Bei den nun vorliegenden Datensätzen wurde zusätzlich besonders auf die Dynamik der Aktivitäts- und Ruhephasen fokussiert, da eine gestörte Schlaf-Wach-Rhythmik ein typisches Zeichen von Suchtverhalten darstellt.

Zeitreihenclustering und Datenstatistik für Quinine-Experiment

Das Zeitreihenclustering des Baseline-Trinkverhaltens ergab eine Unterteilung der Tiergruppe in drei Trinktypen. Hierbei zeigten die Tiere im Cluster 1 eine Präferenz der 20%-Lösung, sowie kontinuierlichen Trinkphasen in der aktiven Phase und nur wenige Trinkevents in der inaktiven Phase. Tiere des zweiten Clusters waren durch kontinuierlichen Trinkphasen in der aktiven und inaktiven Phase gekennzeichnet. Sie zeigten eine Präferenz der 5 & 10%-Lösungen, nahmen dafür aber deutlich weniger Wasser auf als Tiere der anderen Cluster. Dies bestätigt vorherige Befunde, dass Tiere mit Präferenz für 5%-ige Ethanollösung durch entsprechenden Konsum ihren Wasserbedarf decken und kaum oder nur wenig reines Wasser aufnehmen. Dies muss in der Analyse der aufgenommenen Alkoholmenge durch entsprechende bereinigte Maße berücksichtigt werden [Villarín 2013].

Das dritte Cluster enthält Tiere mit Präferenz für 10%-ige Ethanollösung. In diesem Cluster war die zirkadiane Trinkrhythmik durch einen starkem Peak der Trinkaktivität zum Ende der aktiven Phase gekennzeichnet. Die Anzahl Tiere pro Cluster lag in der Baseline bei 17 (Cluster 1), 11 (Cluster 2) und 18 (Cluster 3).

Effekt von Quinine auf den ADE-Effekt

In der Kontrollgruppe ohne Quinine-Zugabe erhöhte sich die Anzahl der Trinkereignisse (nur alkoholische Lösungen) in der AD-Phase in der aktiven Phase um das 2.9-fache er, und in der inaktiven Phase um das 4.6-fache. Bei Zugabe von Quinine erhöhte sich die Anzahl der Trinkereignisse im Vergleich zur Baseline ebenfalls, allerdings in geringerem Maße: die Anzahl der Trinkereignisse erhöhte sich gegenüber der Baseline in der aktiven Phase auf das Doppelte, in der inaktiven Phase um den Faktor. In der Kontrollgruppe ohne Quininezugabe zeigten die Tiere eine starke Reduktion der Wasseraufnahme in den ersten Tagen nach der Entzugsphase. Hier reduzierte sich die Anzahl der Trinkereignisse insgesamt auf 50% in der aktiven und auf weniger als 30% in inaktiven Phase. Durch entsprechenden Konsum alkoholischer Lösungen war die absolute Wasseraufnahme im Vergleich zur Baseline allerdings nicht signifikant reduziert. Bei Quininezugabe konnte keine Reduktion der Trinkereignisse festgestellt werden.

Zeitreihenclustering und Datenstatistik für Nalmefen-Experiment

Zeitreihen-Clustering für die Baseline-Daten der später mit Nalmefen behandelten Ratten resultierte in einer Aufteilung in vier Gruppen. Durch die in diesem Experiment geringere Anzahl an Tieren wurde jedes Cluster allerdings nur durch 2-5 Tiere repräsentiert. Somit haben hier die mittleren Trinkdynamiken und deren Statistiken wenig Aussagekraft.

Im Mittel erhöhte sich in der Kontrollgruppe die Anzahl der Trinkereignisse (nur alkoholische Lösungen) in den ersten Tagen nach der Entzugsphase im Vergleich zur Baseline auf das Doppelte in der aktiven Phase und auf das 4-fache in der inaktiven Phase. In der Gruppe der mit Nalmefen behandelten Ratten erhöhte sich die Anzahl der Trinkereignisse ebenfalls, aber etwas geringfügiger. Hier lag der Faktor bei 1.7 für die aktive Phase und bei 3 für die inaktive Phase. In diesem Experiment reduzierten die Versuchstiere im Mittel in den ersten Tagen nach der Entzugsphase ihre Wasseraufnahme (absolute Wasseraufnahme, inklusive der Anteile aus den alkoholischen Lösungen) stark (Reduktion um 75.4% in der AD-Phase ohne Nalmefen, 62.7% mit Nalmefen).

Der Vergleich der Datensätze zeigte dass sich das Verhalten der beiden Kontrollgruppen nach der Entzugsphase stark unterschied (in den aufgenommenen Mengen der alkoholischen Lösungen und vor allem im Wasser-Absolutkonsum. Dies reduziert auch die Vergleichbarkeit der Experimente insgesamt.

Zeitreihenclustering und Datenstatistik für naive Ratten

Für einen weiteren Datensatz (erste drei Zyklen Baseline/ADE naiver Ratten) mit höherer Zeitauflösung (2-Minuten statt 5-Minuten) bestätigte das Zeitreihen-Clustering Ergebnisse

aus vorherigen Projekten. Hier resultierte das Clustering in 4 Trinktypen deren Lösungspräferenz und Aufnahmemenge sich unterschieden (Cluster 1 & 2 mit geringer Alkoholaufnahme (besonders Cluster 2). Cluster 3 höherer Konsum, besonders 5 und 10%-ige Lösung. Cluster 4 hohe Aufnahme von 5 und 20%-iger Lösung, geringer Wasserkonsum). Es zeigte sich aber vor allem das klassische Trinkprofil naïver Ratten mit starker Wasserpräferenz und geringer Aufnahme alkoholischer Lösungen.

2. Voraussichtlicher Nutzen, Verwertbarkeit der Ergebnisse im Sinne des Verwertungsplans

In diesem Teilprojekt wurde ein genereller Ansatz zur Kategorisierung von multivariaten Zeitreihen weiterentwickelt und validiert, der nicht nur verschiedene Muster im Trinkverhalten in diesem Experiment identifizieren kann, sondern ein breites Anwendungsspektrum findet. Das Verfahren kann erlaubt u.a. in der Bestimmung der Effizienz von medikativen Therapien im Tierversuch detailliertere Einsichten.

3. Während der Durchführung bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet bei anderen Stellen

Während der Durchführung des Projektes sind keine Fortschritte auf dem Gebiet der Zeitreihen-basierten Charakterisierung des Trinkverhaltens bekannt geworden.

4. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen

Erfolgte Veröffentlichungen

L. Villarín Pildaín, V. Vengeliene, **F. Matthäus**, New measurement criteria for studying alcohol drinking and relapse in rodents, *In Silico Pharmacology* 1:13, 2013.

R. Spanagel, D. Durstewitz, A. Hansson, A. Heinz, F. Kiefer, G. Köhr, **F. Matthäus**, M.M. Nöthen, H.R. Noori, K. Obermayer, M. Rietschel, P. Schloss, H. Scholz, G. Schumann, M. Smolka, W. Sommer, V. Vengeliene, H. Walter, W. Wurst, U.S. Zimmermann, S. Stringer, Y. Smits, E.M. Derks, A systems medicine research approach for studying alcohol addiction, *Addiction Biology* 18(6):883 - 896, 2013.

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart	
3a. Titel des Berichts eMed: Alkoholabhängigkeit - Eine systemorientierte Herangehensweise		
3b. Titel der Publikation		
4a. Autoren des Berichts (Name, Vorname(n)) Franziska Matthäus, Vineet Kumar, Valentina Vengeliene		5. Abschlussdatum des Vorhabens
4b. Autoren der Publikation (Name, Vorname(n))		6. Veröffentlichungsdatum
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg		7. Form der Publikation
13. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn		9. Ber. Nr. Durchführende Institution
		10. Förderkennzeichen *)
		11a. Seitenzahl Bericht
		11b. Seitenzahl Publikation
12. Literaturangaben		14. Tabellen
15. Abbildungen		
16. Zusätzliche Angaben		
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)		
18. Kurzfassung Ziel des Vorhabens war die Datenanalyse und stochastische Modellierung von Trinkmustern in einem Tiermodell für Alkoholismus. Die Datenerhebung erfolgte durch Kooperationspartner (SP5) am ZI Mannheim mit Hilfe eines automatischen Drinkometers. Auf der Basis datengestützter Modellierung erfolgte eine Kategorisierung der Tiere in verschiedene Trinker-Typen, sowie eine Charakterisierung des Trinkverhaltens der verschiedenen Typen. Für diese Charakterisierung wurden die vorhandenen hochaufgelösten multinomialen Zeitreihen über generalisierte lineare Modelle und logistische Regression modelliert. Die Modellselktion erfolgte mit Hilfe des Akaike-Informations-Kriteriums. Für die Klassifizierung (Clustering) verwendeten wir einen Expectation Maximization Algorithmus. Kategorisierung und Charakterisierung wurden für naive Ratten durchgeführt, für Deprivationsphasen mit Quinine-versetzten Alkohollösungen, sowie für Nalmefen-behandelte Tiere.		
19. Schlagwörter Stochastische Modellierung, multinomiale Zeitreihenanalyse, Alkoholsucht		
20. Verlag		21. Preis

*) Auf das Förderkennzeichen des BMBF soll auch in der Veröffentlichung hingewiesen werden.

Document Control Sheet

1. ISBN or ISSN	2. Type of Report
3a. Report Title eMed: Alcohol addiction – a systems-oriented approach	
3b. Title of Publication	
4a. Author(s) of the Report (Family Name, First Name(s)) Franziska Matthäus, Vineet Kumar, Valentina Vengeliene	5. End of Project
4b. Author(s) of the Publication (Family Name, First Name(s))	6. Publication Date
8. Performing Organization(s) (Name, Address) Ruprecht Karls Universität Heidelberg	7. Form of Publication
13. Sponsoring Agency (Name, Address) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	9. Originator's Report No.
	10. Reference No.
	11a. No. of Pages Report
	11b. No. of Pages Publication
	12. No. of References
	14. No. of Tables
	15. No. of Figures
16. Supplementary Notes	
17. Presented at (Title, Place, Date)	
18. Abstract The goal of the project was the data analysis and stochastic modeling of drinking pattern in an animal model of alcohol addiction. Data were collected by collaboration partners at the Central Institute for Mental Health in Mannheim using an automated drinkometer. On the base of data-driven modelling we categorized animals into different drinking types and provided a characterization of the drinking behavior of these types. Hereby, the multinomial time series of high temporal resolution were described using generalized linear models and logistic regression. We used the Akaike information criterion for model selection, and expectation maximization for cluster selection. Categorization and classification were performed on different data sets, including alcohol consumption time series of naive rats, alcohol deprivation phases involving quinine-adulterated alcohol solutions, as well as nalmefene-treated animals.	
19. Keywords Stochastic mathematical model, multinomial time series analysis, alcohol addiction	
20. Publisher	21. Price