

Neuropharmakologische und anatomische Untersuchungen zu Lernprozessen der
Katalepsie-Sensitivierung

Dissertation

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Eberhard Karls Universität Tübingen
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
(Dr. rer. Nat.)

vorgelegt von
Katrín Riedinger
aus Düren

Tübingen
2014

Tag der mündlichen Qualifikation: 18.11.2014

Dekan: Prof. Dr. W. Rosenstiel

1. Berichterstatter: Professor Dr. Hanspeter Mallot
2. Berichterstatter: Professor Dr. Peter Pilz

Danksagung

Nach dem unerwarteten Tod von Professor Werner Schmidt war die Fertigstellung dieser Dissertation nur möglich, da Herr Professor Mallot die Funktion als kommissarischer Leiter der Neuropharmakologie übernommen hat. Hierfür und für die Übernahme des Erstgutachtens möchte ich mich herzlich bedanken.

Ebenfalls gilt mein besonderer Dank Herrn Professor Pilz für die Übernahme des Zweitgutachtens und den konstruktiven Besprechungen zu einigen statistischen Fragestellungen.

Bei Herrn Dr. Andreas von Ameln-Mayerhofer möchte ich mich bedanken, da er unsere Abteilung trotz auftretender Schwierigkeiten im Sinne von Professor Werner Schmidt weitergeführt hat. Auch für all die wertvollen Diskussionen, die meinen Blick oftmals auf neue Ideen gelenkt haben.

Sehr herzlich möchte ich mich bei Herrn Dr. Waldmann bedanken, der mich nicht nur in seiner Tätigkeit als Hausarzt in den letzten Jahren engagiert unterstützt hat, sondern mir auch in der Endphase dieser Arbeit durch konstruktive Kritik und Rückmeldung eine große Hilfe war.

Den ehemaligen Mitgliedern der Abteilung Neuropharmakologie möchte ich für die einzigartige Arbeitsatmosphäre und die tollen Freundschaften bedanken, die neben den legendären Kochabenden und vielen Unternehmungen vor allem durch gegenseitige Unterstützung in allen Lebenslagen entstanden sind - und hoffentlich auch durch den ein oder anderen Ortswechsel nicht abreißen. Danke an: Nadine, Katrin, Sonja, Rüdiger, Chrissy, Carrie und Micha.

Meinen Freunden Evamaria, Kirsten, Agnes sowie meiner Schwester Silke danke ich, dass sie an mich geglaubt haben, und mir auch dann den nötigen Rückhalt gaben, wenn ich selbst ins Hadern gekommen bin. Jenny, tack så mycket för vånskap, för känsla vara hemma såväl i goda som i dåliga tider – jag hoppa allting kommer att bli bra.

Ich bin dankbar dafür, dass Professor Werner Schmidt mir das Thema dieser Arbeit überlassen hat - für all die fachlichen Diskussionen, interessanten Gespräche und seine Betreuung zu Beginn der Arbeit. Ich werde nie vergessen „die Boxhandschuhe“ immer wieder anzuziehen.

Dem SFB 550 (Teilprojekt C14) sowie der Landesgraduiertenförderung danke ich für eine Teilfinanzierung während meiner Doktorarbeit. Meinen derzeitigen Kolleginnen in Esslingen für ihr Verständnis dafür, wie wichtig mir neben dem Job die Fertigstellung dieser Arbeit war.

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht

Publikationen

A Neurocomputational Account of Context-Dependent Catalepsy Sensitization Induced by Haloperidol.

Psychopharmacology (Berl). 2009 Jun;204(2):265-77.

Wiecki TV, Riedinger K, von Ameln-Mayerhofer A, Schmidt WJ, Frank MJ.

The role of NMDA and AMPA/Kainate receptors in the consolidation of catalepsy sensitization.

Behav Brain Res. 2011 Mar 17;218(1):194-9.

Riedinger K., Kulak A., Schmidt W.J.†, von Ameln-Mayerhofer A.

Posterpräsentationen

2007 Tagung der EBPS (European behavioural pharmacology society) in Tübingen

The non-competitive NMDA receptor antagonist MK-801 influences the consolidation of catalepsy sensitization.

Riedinger K., Schmidt W.J.†

2009 Internationale ADPD (Alzheimer's Conference/ Parkinson's Conference) in Prag

Investigations of the context dependency of catalepsy-sensitization in a rat model of Parkinson pathology.

Riedinger K., von Ameln-Mayerhofer A.

„Unabhängig von meinem Willen und unabhängig voneinander verengten und erweiterten sich meine Pupillen. Schlagartig war ich kaum noch imstande, einen Fuß vor den anderen zu setzen. Mir war, als hätte ich Schuhe aus Blei an den Füßen. [.....] Panisch und desorientiert, habe ich mich einfach auf einen freien Platz gesetzt, mein Pillendöschen aus der Hosentasche gefischt und sofort eine sehr große Dosis L-Dopa genommen. [...] Die bunte Schar derer, die auf der Bank schon lange saßen, hatten meinen, aus offenkundiger Not erfolgten Überfall schweigend zur Kenntnis genommen. Meine zitternden Hände beim Gebrauch des Pillendöschens waren Kommentar genug. [...] überdies war ihre Aufmerksamkeit gebunden durch einen Musiker [...] um den sich - am anderen Ende der langen Bank- bereits eine kleine Schar von Passanten gebildet hat. [...] Überall auf der Welt gibt es Musiken, die uns das Gewicht einer aufgestauten Trauer spüren lassen und uns für einen Augenblick davon befreien. Die Erinnerung an diesen Abend, der so schwierig begann und so gut endete, wird für immer verknüpft sein mit der Musik [...].“

Aus „Mein Leben mit Parkinson“ (Dubiel 2008)

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	8
Zusammenfassung.....	10
I Einleitung.....	12
1. Einführung des Terminus der Katalepsie-Sensitivierung.....	12
2. Grundlagen.....	14
2.1. Morbus Parkinson.....	14
2.1.1. Prävalenz, Diagnose und Symptome.....	14
2.1.2. Therapiemöglichkeiten.....	17
2.2. Basalganglien.....	19
2.2.1. Lokalisation und Transmitter basierte Anatomie der Basalganglien.....	19
2.2.2. Die direkte („Go“-) und indirekte („NoGo“-Bahn) Projektion.....	22
2.3. Dopamin.....	24
2.3.1. Entdeckung, Metabolismus von Dopamin und das mesencephale Dopaminsystem.....	24
2.3.2. Modulation der „Go“- und „NoGo“- Bahn durch Dopamin.....	25
2.3.3. Ungleichgewicht der „Go“ und „NoGo“ Bahn bei der Parkinson-Erkrankung und Dopaminrezeptor-Blockade im Katalepsiemodell.....	26
2.4. Gedächtnisbildung.....	27
2.4.1. Konsolidierung- der Übergang vom Kurzzeit ins Langzeitgedächtnis.....	27
2.5. Glutamat.....	30
2.5.1. biochemische Einordnung und Metabolismus des Neurotransmitters Glutamat.....	30
2.5.2. Glutamatrezeptoren.....	30
2.6. Kontextabhängigkeit.....	36
2.6.1. Bestandsaufnahme zur Kontextabhängigkeit bei Lern- und insbesondere Sensitivierungsprozessen.....	36
2.6.2. Komponenten des Kontextes.....	38
2.6.3. Lokalisation Kontext-abhängiger Lernprozesse.....	41
2.6.4. Die mögliche Involvierung von Serotonin bei der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung.....	48
3. Zielsetzung der Arbeit.....	50
4. Einschränkungen.....	51
II. Material und Methoden.....	53
5.1. Allgemeine Beschreibung.....	53
5.1.1. Tiere und Haltungsbedingungen.....	53
5.1.2. Auslösen der Katalepsie durch das Neuroleptikum Haloperidol.....	53
5.1.3. Messung der Katalepsistärke.....	53
5.2. Darstellung der einzelnen Projekte.....	54
5.2.1. Projekt I.....	54
Untersuchungen zur Rolle der Glutamatrezeptoren bei der Konsolidierung der Katalepsie-Sensitivierung.....	54
5.2.2. Projekt IIa1.....	56
Einfluss diskreter Hinweisreize auf den Verlauf der Katalepsie-Sensitivierung.....	56
5.2.3. Projekt IIa2.....	59
Auswirkungen täglicher Kontext-Veränderungen und einer Sensitivierung in gewohnter Umgebung auf die Entwicklung und Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung.....	59
5.2.4. Projekt IIa3.....	63
Untersuchung des Novelty Effektes bei der Kontextabhängigkeit der Katalepsie Sensitivierung.....	63
5.2.5. Projekt IIb1.....	64
Anatomische Untersuchungen zur Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung.....	64
5.2.6. Projekt IIb2.....	74
Untersuchung zur Auswirkung einer serotonergen Läsion im präfrontalen Kortex in Bezug auf die Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung.....	74
III Ergebnisse.....	86
6.1. Projekt I.....	86
Untersuchungen zur Rolle der Glutamatrezeptoren bei der Konsolidierung der Katalepsie-Sensitivierung.....	86
6.1.1. Experiment 1.....	86
6.1.2. Experiment 2.....	90
Projekt IIa1.....	91
Einfluss diskreter Hinweisreize auf den Verlauf der Katalepsie-Sensitivierung.....	91

Projekt IIa2.....	93
Auswirkungen täglicher Kontext-Veränderungen und einer Sensitivierung in gewohnter Umgebung auf die Entwicklung und Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung.....	93
Projekt IIa3.....	95
Untersuchung des Novelty Effektes bei der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung.....	95
Projekt IIb1.....	97
Anatomische Untersuchungen zur Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung.....	97
Projekt IIb 2.....	105
Untersuchung zur Auswirkung einer serotonergen Läsion im präfrontalen Kortex in Bezug auf die Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung.....	105
IV Diskussion.....	118
7.1. Projekt I.....	118
Untersuchungen zur Rolle der Glutamatrezeptoren bei der Konsolidierung der Katalepsie-Sensitivierung.....	118
7.2. Projekt IIa1.....	121
Untersuchungen zum Einfluss diskreter Hinweisreize auf den Verlauf der Katalepsie-Sensitivierung.....	121
7.3. Projekt IIa2.....	129
Auswirkungen täglicher Kontext-Veränderungen und einer Sensitivierung in gewohnter Umgebung auf die Entwicklung und Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung.....	129
7.4. Projekt IIa3.....	133
Untersuchung des Novelty Effektes bei der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung.....	133
7.5. Projekt IIb1.....	139
Anatomische Untersuchungen zur Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung.....	139
7.6. Projekt IIb2.....	148
Untersuchung zur Auswirkung einer serotonergen Läsion im präfrontalen Kortex in Bezug auf die Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung.....	148
8. Schlussfolgerung und Ausblick.....	175
Literatur.....	178

Abkürzungsverzeichnis

3-MT	3-Methoxytyramin
5,7-DHT	5,7-Dihydroxytryptamin
5-HIAA	5-Hydroxyindolessigsäure
5-HT	Serotonin
6OHDA	6-Hydroxydopamin
a	anterior
A ₁	A ₁ ähnlicher Adenosinrezeptor
AcH	Acetylcholin
AI	agranulär insulär
AMPA	α-Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolepropionsäure
AP	anterior posterior
ATP	Adenosin-Tri-Phosphat
BA	basolateral
BLA	basolaterale Amygdala
BM	basomedial
C	Caudate
CA	Ammonshorn-Felder
Ca ²⁺	Calcium-Ionen
Cg	cingulär
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CPu	Caudatoputamen
DA	Dopamin
D ₁ , D ₂	dopaminerge D ₁ ähnliche Rezeptoren, D ₂ ähnliche Rezeptoren
DG	Gyrus dentatus
DHBA	Dihydroxybenzylaminehydrobromid
dHipp	dorsaler Hippocampus
DOPAC	3,4-Dihydroxyphenylelessigsäure
EC	entorhinaler Kortex
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EP	entopedunculärer Nucleus
FG	Frischgewicht
GABA	Gamma (γ)-Aminobuttersäure
G _i	Subfamilie der Guanin-Nukleotid-bindenden Proteine mit inhibierender Wirkung
Glu	Glutamat
Go	bioinformatische Bezeichnung der direkten dorsalen Basalganglienschleife
GPe	Globus pallidus pars externa
GPI	Globus pallidus pars interna
G _s	Subfamilie der Guanin-Nukleotid-bindenden Proteine mit stimulierender Wirkung
GYKI52466	1-(p-Aminophenyl)-4-Methyl-7,8-Methylenedioxy-5H-2,3-Benzodiazepin Hydrochlorid
HPA	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
HVA	Homovanillinsäure

i.p.	intraperitoneal
IN	Interneurone
K ⁺	Kalium-Ionen
KA	kortikale Amygdala
L/LA	lateral
L-DOPA	L-3,4-Dihydroxyphenylalanin
LTD	Langzeitdepression
LTP	Langzeitpotenzierung
M ₄	M ₄ ähnlicher Muskarinrezeptor
MAO	Monoaminoxidasen
MB	Metaboliten
MeCN	Acetonitril
MetOH	Methanol
MK801	Dizocilpin
MSN	Medium Spiny Neurone
Na ⁺	Natrium-Ionen
NAcc	Nucleus accumbens
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NMDAR	N-Methyl-D-Aspartat Rezeptor
NoGo	bioinformatische Bezeichnung der indirekten dorsalen Basalganglienschleife
NT	Neurotransmitter
OF	orbito frontal
OSA	Natrium-octan-1-Sulfonat
oTu	olfaktorischer Tuberkel
p	posterior
PBS	Phosphatpuffer
PFC	präfrontaler Kortex
PPN	pedunculopontiner Kern
PrL	prälimbisch
Pu	Putamen
s.c.	subcutan
SNc	Substantia nigra pars compacta
snMNS	striatonigrale Medium Spiny Neurone
SNr	Substantia nigra pars reticulate
spMNS	striatopallidale Medium Spiny Neurone
STh	subthalamischer Nucleus
SV	Schleifenvolumen
TO	Turnover
V	ventral
vHipp	ventraler Hippocampus
VP	ventrales Pallidum
ZA	zentromediale Amygdala

Zusammenfassung

Der kontextabhängige Lernprozess der Katalepsie-Sensitivierung bildet die progressive Verschlechterung zweier motorischer Parkinson-Symptome (Akinese und Rigor) nach. Das Verständnis der im Katalepsie-Sensitivierungs-Modell erlernten Progression dieser Parkinson-Symptome beherbergt ein großes Potential für neue Therapieansätze. Sowohl die Entwicklung dieses Lernprozesses, als auch dessen Kontextabhängigkeit wurden in der vorliegenden Arbeit untersucht. Bezogen auf die Entwicklung der Katalepsie-Sensitivierung führte die post-Test Gabe des NMDA-Rezeptor-Antagonisten MK801 und des AMPA/Kainat-Rezeptor-Antagonisten GYKI52466 in **Projekt I** zu einer Verzögerung der Katalepsie-Sensitivierung. In **Projekt IIa1** ist untersucht worden, ob die Veränderung einzelner Sinnesmodalitäten (Hinweisreizwechsel) bereits ausreicht, um nach erfolgter Katalepsie-Sensitivierung einen Kontext-bedingten Abfall der Abstiegslatenz auszulösen. Die Ergebnisse dieses Projektes lassen vermuten, dass die Salienz eines einzelnen Hinweisreizes ausschlaggebend für das Maß der Hinweisreizwechsel-induzierten Katalepsistärke ist. Das Projekt IIa1 gibt ausserdem Anlass zu der Annahme, dass es im Rahmen der Katalepsie-Sensitivierung bei der Darbietung veränderter Hinweisreize/Kontexte zur Verschiebung der Salienzen einzelner Hinweisreize/Kontexte kommen kann und die hier täglich dargebotene Testapparatur als solche bei künftigen Versuchsplanungen als Hinweisreiz-Faktor mit einbezogen werden sollte. Die Ergebnisse des **Projektes IIa2** zeigten, dass eine moderate Zunahme an Kontext-Veränderungen (ein täglicher Kontextwechsel) den Sensitivierungsprozess der Katalepsie beeinträchtigen. Durch Habituation an einen Kontext B vor einem Sensitivierungsexperiment wurde im **Projekt IIa3** überprüft, ob durch den im Anschluss an die Sensitivierung (in Kontext A) erneut dargebotenen Kontext B der vermutete Novelty-Effekt reduziert werden kann. Die dadurch erwartete Reduzierung einer verminderten Abstiegslatenz konnte jedoch nicht gezeigt werden. Bevor nun die dem Projekt IIa3 zugrunde liegende Novelty-Hypothese verworfen wurde, sollte die Stabilität der Habituation auf verhaltens- und molekularbiologischer Ebene überprüft werden. Um die Lokalisation der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung zu untersuchen, wurden im **Projekt IIb1** Chinolinat-Läsionen im präfrontalen Kortex und im Hippocampus durchgeführt. Zudem wurde in einem Vorversuch getestet, ob die Chinolinat-Behandlung der Amygdala zur Beeinträchtigung der Kontextabhängigkeit führt. Die Ergebnisse dieses Projektes lassen vermuten, dass insbesondere der agranulär insuläre Anteil des PFC eine moderate Rolle bei der Kontextabhängigkeit einzunehmen scheint. Außerdem

lieferte das Projekt deutliche Hinweise darauf, dass der dorsale Hippocampus in die Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung involviert sein könnte. Der Vorversuch zur Chinolinat-Behandlung in der Amygdala spricht hingegen nicht für eine Beteiligung dieser Region am untersuchten Lernparadigma. Dieser Vorversuch konnte allerdings nicht klären, ob die Beteiligung eines Stress-/ Angst-auslösenden Hinweisreizes zum gleichen Ergebnis führen würde. Im **Projekt IIb2** wurde schließlich der prälimbische PFC mit serotonergen Neurotoxin 5,7-DHT behandelt, um zu testen, ob eine derartige Behandlung Einfluss auf die Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung hat. Die Ergebnisse des Projektes IIb2 sprechen eher gegen die Beteiligung des Neurotransmitters Serotonin im prälimbischen präfrontalen Kortex an der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung. Die an den Verhaltensversuch anschließende HPLC-Analyse der Serotonin- und Dopaminmenge in verschiedenen Gehirnarealen lassen darauf schließen, dass es lohnenswert wäre, insbesondere den Nucleus accumbens in zukünftige Untersuchungen zur Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung mit einzubeziehen. Interessant war zudem, dass die Stärke der Katalepsie im Verhaltensversuch negativ mit der gemessenen Dopaminmenge im Nucleus accumbens korreliert. Dieses Ergebnis lässt vermuten, dass die Region, die bereits bei der Psychostimulanzien-induzierten Sensitivierung involviert ist, auch im Rahmen der Katalepsie-Sensitivierung eine Rolle spielen könnte.

I Einleitung

1. Einführung des Terminus der Katalepsie-Sensitivierung

Katalepsie-Sensitivierung; ein Modell zur progressiven Verschlechterung der Parkinson-Symptomatik.

Im Tiermodell der Katalepsie-Sensitivierung beschreibt der Begriff der **Katalepsie** ein lang anhaltendes Verharren in einer ungewöhnlichen Körperhaltung, bei gleichzeitiger Unfähigkeit, sich aus solch einer Haltung heraus zu bewegen. Beim Menschen werden Katalepsie-ähnliche Symptome unter unterschiedlichsten pathologischen Bedingungen beobachtet. So gelten sie beispielsweise als Teil-Symptome der sogenannten Katatonie¹ (Fink et al., 2010; Hildebrandt et al., 1997; Rajagopal, 2007) und treten im Zusammenhang mit Hirnschäden auf, bei denen die Basalganglien in besonderem Maß involviert sind (Schallert et al., 1978). Bei der neurodegenerativen Parkinson-Erkrankung sind die Basalganglien in ihrer Funktionalität stark beeinträchtigt. Betroffene Patienten zeigen unter anderem Muskelversteifung (Rigor) und eine Verlangsamung und Abnahme der allgemeinen Beweglichkeit (Akinese). Diese motorischen Teil-Symptome der Parkinson-Erkrankung werden im Tiermodell der experimentell induzierten Katalepsie (bei Nagern) authentisch nachgebildet (Frank und Schmidt, 2003; Kretschmer, 1994; Sanberg et al., 1988; Trevitt et al., 2009b). Die Bezeichnung **Sensitivierung** definiert im allgemeinen substanzabhängige Lernvorgänge, welche durch andauernd fortschreitende Intensivierung eines bestimmten Verhaltens charakterisiert werden (Tzschentke und Schmidt, 2000a). Die Sensitivierung spielt eine wichtige Rolle im Entstehungsprozess verschiedener psychiatrischer Entitäten, wie z.B. Suchterkrankungen und Schizophrenie (Schmidt und Beninger, 2006). Im Tiermodell führen Sensitivierungs-Prozesse, die durch die tägliche Verabreichung von Psychostimulanzien wie Amphetamin und Kokain (indirekte Dopamin-Agonisten), oder direkten Dopaminrezeptor-Agonisten induziert werden, zu einer progressiven Aktivitätssteigerung der Tiere (Anagnostaras und Robinson, 1996) (*Abbildung 1 links*). Mit der **Katalepsie-Sensitivierung** wird im Gegensatz zur Psychostimulanz-induzierten Sensitivierung eine Lernform beschrieben, die zu einer Abnahme der Bewegungsfähigkeit führt. Anders formuliert: zu einer Zunahme der oben beschriebenen Parkinson-Symptomatik (Rigor und Akinese) (Srinivasan und Schmidt, 2004).

¹ einem Syndrom mit verändertem motorischem Verhalten welches oftmals auch als Begleiterscheinung bei Erkrankungen wie Schizophrenie oder manischen Depressionen beobachtet wird.

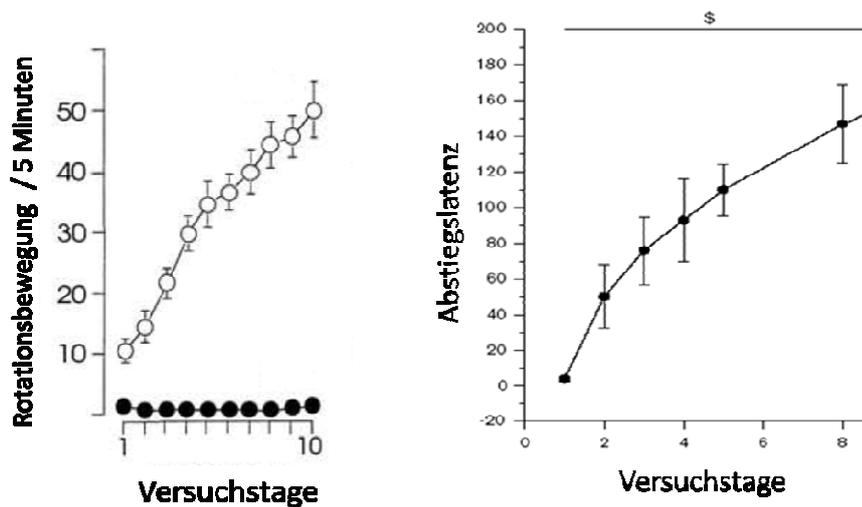


Abbildung 1 Sensitivierung

Links: Psychostimulanz-induzierte Sensitivierung nach (Anagnostaras und Robinson, 1996). Nigrostriatal, unilateral (mit 6-OHDA) lädierte Ratten, denen 3mg/kg Körpergewicht Amphetamin verabreicht wurde (leere Kreise), zeigen ein progressiv ansteigendes Rotationsverhalten gegenüber der Kontrollgruppe die eine isotonische Kochsalzlösung erhielt (schwarz gefüllte Kreise). *Rechts:* Haloperidol-induzierte Katalapsie-Sensitivierung nach (Klein und Schmidt, 2003) als Maß der Katalapsie gilt die Abstiegslatenz [s] aus einer ungewohnten Körperhaltung heraus.

Ausgelöst werden kann die Katalapsie-Sensitivierung im Tiermodell durch die tägliche Verabreichung von Dopaminrezeptor-Antagonisten (wie beispielsweise dem Neuroleptikum Haloperidol) und einem nachfolgend durchgeführten Verhaltenstest (Abbildung 1 rechts). Eine Parallele zur Psychostimulanz-induzierten Sensitivierung ist die starke **Kontextabhängigkeit** der Katalapsie-Sensitivierung. Bei kontextabhängigen Lernprozessen reaktiviert die erneute Darbietung des Kontextes dadurch, dass zuvor ein bestimmter Lernprozess stattgefunden hat, den dort gebildeten Gedächtnisinhalt (Hupbach et al., 2008). Umgekehrt führt dieses Phänomen dazu, dass gelerntes Verhalten genau in dem Kontext maximal ausgeprägt wird, in welchem es erlernt wurde. Unter pathologischen Bedingungen hat eine Reaktivierung des Gelernten durch einen bestimmten Kontext entsprechend fatale Auswirkungen (Janak und Chaudhri, 2010; Thewissen et al., 2005). Bislang ist unklar, welche Mechanismen dem Lernprozess der Katalapsie-Sensitivierung zu Grunde liegen und weshalb er, ähnlich wie die Suchtmittel-induzierte Sensitivierung, stark kontextabhängig ist (Badiani et al., 1995; Klein und Schmidt, 2003). In Hinblick auf die bislang unaufhaltsam fortschreitende klinische Verschlechterung der Parkinson-Symptomatik liegt eine hohe Relevanz in dem Vorhaben, den Lernprozess der Katalapsie-Sensitivierung und ihre Kontextabhängigkeit besser zu verstehen. Das Verständnis solch eines Lernprozesses könnte die Basis bilden, um wenigstens der lernbedingten Progression der Parkinson-Symptomatik entgegen zu wirken.

2. Grundlagen

2.1. Morbus Parkinson

2.1.1. Prävalenz, Diagnose und Symptome

Mit steigender Lebenserwartung gewinnt die Kenntnis über die vorwiegend im höheren Lebensalter auftretende Erkrankung an Bedeutung. Es wird geschätzt, dass weltweit 6,3 Millionen Menschen an Morbus Parkinson erkrankt sind. Betroffen sind vor allem über 60-Jährige, jedoch wird die Diagnose in einem von 10 Fällen bereits vor dem fünfzigsten Lebensjahr gestellt. In Europa sind 1,2 Millionen Menschen erkrankt; circa 260.000 davon in Deutschland². Bei dieser progredient verlaufenden chronischen Erkrankung führt die Degeneration von vor allem **dopaminergen Neuronen** zum charakteristischen Krankheitsbild. Betroffen sind insbesondere die Neurone der Substantia nigra pars compacta (SNc), einer Gehirnregion, welche die Basalganglien durch ihre nigrostriatale Projektion dopaminerg innerviert. Die klinische Symptomatik der Parkinson-Erkrankung zeigt sich erst dann, wenn bereits ca. 70-80% dieser dopaminergen Neurone degeneriert sind (Dunnett und Bjorklund, 1999; Lachenmayer et al., 2011; Marsden, 1990). Mit verschiedenen diagnostischen Verfahren (Ultraschall, Magnet Resonanz Tomographie) (Bartova et al., 2010; Behnke et al., 2010; Berg, 2007, 2011; Hutchinson und Raff, 2000; Mehnert et al., 2010), können Veränderungen in der nigrostriatalen Gehirnregion bereits zu Lebzeiten nachgewiesen werden. Postmortale Untersuchungen zeigen zytoplasmatische Einschlüsse, die sogenannten Lewy-Körperchen, besonders stark ausgeprägt in den degenerierten Neuronen der Substantia nigra (Gibb und Lees, 1988). Es handelt sich dabei um Ablagerungen des Alpha-Synukleins, einem Protein, das aufgrund der Fehlfunktion des Chaperon-Proteasom-Systems nicht abgebaut werden kann (Bungeroth et al., 2014; Goedert, 2001)³. Bisher ist jedoch noch nicht geklärt, ob die Aggregation nicht abgebauter Alpha-Synuklein Proteine zu einer Degeneration der Neurone beiträgt, oder ob sie protektive Eigenschaften haben (Chandra et al., 2005; Gerlach et al., 2007; Lozano und Kalia, 2006). Die Ätiologie der Parkinson-Erkrankung (resp. des idiopathischen Parkinson Syndroms) ist im Gegensatz zu sekundären Parkinson-Symptomen, die durch Medikamente (Montastruc et al., 1994), Traumata (Wong und Hazrati, 2013), oder andere externe Einflüsse wie beispielsweise

² Quelle: Webseite: www.epda.eu.com, European Parkinson's disease association.

³ Normalerweise werden Proteinmoleküle zum Erwerb ihrer biologischen Funktionalität durch Chaperone korrekt gefaltet. Verläuft diese Faltung fehlerhaft, wird über das so genannte Parkin ein Ubiquitinmolekül an das Protein angeheftet, welches somit zum Abbau markiert ist. Zum Abbau markierte Proteine werden schließlich mit Hilfe der Proteasome zu Aminosäurebausteinen degradiert. Sowohl eine Mutation des Gens welches das Alpha-Synuklein kodiert, als auch eine Mutation im Gen welches für das Parkin kodiert, können zur Störung des Abbaumechanismus von Alpha-Synuklein führen (Gerlach et al., 2007; Lozano und Kalia, 2006).

Umwelttoxine (Abdulwahid Arif und Ahmad Khan, 2010) auftreten können, unbekannt. Man geht von multifaktoriellen Ursachen aus, zu denen Defekte innerhalb der Mitochondrien, oxidativer Stress, die Toxizität von Glutamat, genetische Faktoren, sowie Apoptose zählen könnten (Blandini et al., 2000). Die Symptome der Parkinson-Erkrankung (Tabelle 1) werden in der Literatur ausführlich beschrieben (Davie, 2008; Herting et al., 2008; Herting et al., 2007; Jankovic, 2008; Meara, 1994).

Motorische Symptome	Nicht-motorische Symptome
<p>Kardinalsymptome Tremor Bradykinesie Rigor instabile Körperhaltung</p> <p>Weitere motorische Symptome Im Kopfbereich: Hypomimie (starre Mimik) Dysarthrie (Sprachstörungen) Dysphagie (Schluckstörungen) Sialorrhoe (abnormer Speichelfluss)</p> <p>bei der Fortbewegung/ Bewegungsabläufen: verminderte Armschwingung schlurfender Gang Festination Kamptokormia (unwillkürliche Beugung des Rumpfes nach vorn) Mikrografie</p>	<p>Kognitive Störungen Bradyphrenie (verlangsamte geistige Funktion) Wortfindungsstörungen</p> <p>Depressionen Apathie Anhedonie (Freudlosigkeit) Müdigkeit</p> <p>Sensorische Beeinträchtigungen Geruchsinnesstörungen, Geschmacks- Störungen, Schmerzen in Schulter und Rücken Parästhesie (unangenehme Empfindung in den Gliedern)</p> <p>Dysautonomie Orthostatische Hypotension (Schwindelgefühl beim Aufrichten) Konstipation (Verstopfung) Blasendysfunktion sexuelle Dysfunktion abnormale Schweißausbrüche Seborrhö (vermehrte dermale Fettabsonderung) Gewichtsverlust Schlafstörungen</p>

Tabelle 1 Symptome der Parkinsonerkrankung

In der vorliegenden Tabelle wurden die Parkinson-Symptome in motorische (linke Spalte) und nicht-motorische Symptome (rechte Spalte) untergliedert. (Zur Definition der Festination: Bewegung mit gebeugtem Oberkörper beginnend, versucht der Patient mit schnellen Schritten den Oberkörper „einzuholen“). Verändert nach (Jankovic, 2008), zudem wurden die Quelle ⁴ sowie (Reichel et al., 2001) herangezogen.

Da die Basalganglien an der Regulation motorischer Abläufe beteiligt sind, führt ein Verlust ihrer dopaminergen Afferenzen dazu, dass betroffene Patienten besonders motorisch beeinträchtigt sind. Dabei treten die motorischen Symptome in der Regel in einer Körperseite dominanter auf. Es handelt sich bei den erwähnten motorischen Beeinträchtigungen vor allem um drei **Kardinal-Symptome**: Muskelzittern (Tremor), Muskelversteifung (Rigor) und Bewegungsunfähigkeit (Akinese). Hinzu kommen eine Verlangsamung der Willkürbewegungen (Bradykinesie), sowie posturale Instabilität (weitere motorische Symptome der Parkinson-Erkrankung sind Tabelle 1 zu entnehmen). Hoehn und Yahr gliedern den progressiven Verlauf der motorischen Parkinson-Symptomatik in ein fünfstufiges (klinisch anerkanntes) System; dieses dient in der Praxis zur Einteilung der Patienten in unterschiedliche Pflegestufen (Hilker, 2007; Hoehn und

⁴ Quelle: Webseite: Kompetenznetz-Parkinson (www.Kompetenznetz-Parkinson.de, 2001-2011 - Marburg)

Yahr, 1967; Lachenmayer et al., 2011). Neben motorischen Symptomen wird die Lebensqualität der Betroffenen auch durch **nicht-motorische Symptome** maßgeblich beeinträchtigt (Blandini et al., 2000; Jankovic, 2008; Park und Stacy, 2009; Patel et al., 2014). Zu den nicht-motorischen Symptomen, (Tabelle 1) zählen relativ früh auftretende Geruchssinnsstörungen (Haehner et al., 2007; Herting et al., 2008; Kivity et al., 2009; Moscovitch et al., 2009; Sommer et al., 2004) und andere sensorische Beeinträchtigungen (Bodis-Wollner et al., 1987). Derartige Störungen lassen sich dadurch erklären, dass es vor der Neurodegeneration der SNc bereits zu Dysfunktionen in sensorischen Gehirnarealen kommt. Ein geläufiges Schema von Braak unterteilt die Erkrankung bezüglich der Neurodegeneration bzw. dem Auftreten der Lewy-Körperchen in sechs unterschiedliche Stadien, stellt somit dar, weshalb derartige Sinnesstörungen entstehen, bevor motorische Kardinal-Symptome bei Parkinson-Patienten auftreten (Braak et al., 2003; Braak et al., 2004; Prediger, 2010)⁵. Desweiteren finden sich neuropsychiatrische und kognitive Störungen wie beispielsweise Depressionen (Karceski, 2007; McDonald et al., 2003; Ravina et al., 2007) und Demenz (Caballol et al., 2007; Herting et al., 2007; Merims und Freedman, 2008) im Krankheitsverlauf. Eine mit der Erkrankung assoziierte Demenz ist von anderen klinischen oder lediglich altersbedingten Beeinträchtigungen abzugrenzen. James Parkinson beschrieb erstmals im Jahr 1817 in seinem „Essay on the Shaking Palsy“ die Symptomatik der später nach ihm benannten Erkrankung. In seinen Ausführungen ging er davon aus, dass die Sinne und der Intellekt unbeeinträchtigt blieben („the senses and intellects being uninjured“ aus Parkinson 1817, erneut veröffentlicht im Jahre 2002) (Gerlach et al., 2007; Parkinson, 2002). Spätere Studien haben jedoch aufgezeigt, dass es eine Parkinson-spezifische Demenz (engl.: *Parkinson's disease dementia* (PDD)) gibt, die sich von anderen Demenzerkrankungen abgrenzen lässt (Tsuboi et al., 2007). Neben Gedächtniseinbußen kommt es bei der Parkinson-Erkrankung vermutlich auch zu den bereits erwähnten Lernprozessen, die für eine Verschlechterung der motorischen Symptomatik verantwortlich gemacht werden. Während ausführlich über die Beeinträchtigung des Gedächtnisses bei der Parkinson-Erkrankung berichtet worden ist (Caballol et al., 2007; Dubois und Pillon, 1997; Lees und Smith, 1983), zeigen andere Studien die Möglichkeit auf, dass bestimmte Lernprozesse auch verstärkt werden können. So wird angenommen, dass nicht therapierte Parkinson-Patienten aufgrund ihres veränderten Dopamin-Gehaltes im Gehirn bei Lernaufgaben, die mit einem negativen Verstärker (Bestrafung) gekoppelt sind besser abschneiden, als bei Lernaufgaben die mit einem positiven

⁵ Nach diesem Schema ist der Bulbus olfactorius bereits in der ersten Erkrankungsphase beeinträchtigt, während die SNc erst in der dritten Phase in Mitleidenschaft gezogen wird (Braak et al., 2003; Braak et al., 2004; Prediger, 2010; Thal et al., 2004).

Verstärker (Belohnung) assoziiert sind (Frank et al., 2004; Moustafa et al., 2008) und dass dieser Zusammenhang insbesondere für Patienten mit einem linksseitigen Einsetzen der Symptomatik zu vereinbaren ist (Maril et al., 2013).

2.1.2. Therapiemöglichkeiten

Das Striatum stellt die Eingangstruktur der Basalganglien, und somit Zielstruktur der nigrostriatalen Projektion dar. Im Hinblick auf die Degeneration der SNc und die dadurch verminderte dopaminerge Projektion zum Striatum sind zahlreiche gängige Therapieformen darauf ausgelegt, den durch die Degeneration zustande kommenden **Dopamin-Verlust zu kompensieren**. Da der Neurotransmitter Dopamin die Blut-Hirn-Schranke nicht überwinden kann, greift man auf den direkten Dopamin-Vorläufer L-3,4-Dihydroxyphenylalanin (Levodopa, L-DOPA) zurück (Gerlach et al., 2007). Dieser wird, zur Verminderung unerwünschte Arzneimittel-Wirkungen, in Kombination mit dem peripher wirkendem DOPA-Decarboxylasehemmer verabreicht (Gerlach et al., 2007; Hilker, 2007). Auch wenn L-DOPA zu den effektivsten pharmazeutischen Behandlungskonzepten der Parkinsontherapie zählt, geht eine langjährige Anwendung (ab circa 5 Jahren bei 30-40% der Patienten (Hilker, 2007)) mit unfreiwilligen Bewegungen, sogenannten Dyskinesien und weiteren Nebenwirkungen⁶ einher. Zur Vermeidung der L-DOPA-induzierten Dyskinesien wurde nach weiteren therapeutischen Angriffspunkten gesucht (Johnson et al., 2009). So werden Dopamin-Agonisten sowie den Dopamin-Abbau hemmende Substanzen (wie Catechol-O-Methyltransferase-(COMT-) und Monoaminoxidase- (MAO-) Hemmer) verwendet (Gerlach et al., 2007; Hilker, 2007). Aufgrund der Innervierung des Striatums durch **weitere Transmittersysteme** (Abbildung 2) wurden zudem Dopamin-unabhängige Therapieformen entwickelt. Zu nennen sind hier anticholinerge Substanzen⁷ und Glutamatrezeptor-Antagonisten. Bei Versagen der nicht-invasiven Therapiemethoden kommt bei einigen Patienten die Tiefenhirnstimulation zum Einsatz (Hilker, 2007; Okun und Foote, 2010). Bei diesem Verfahren werden entweder dem Globus pallidus pars interna oder dem Subthalamischen Nucleus hochfrequente elektrische Impulse, über implantierte Elektroden verabreicht (Lozano und Kalia, 2006). Dieses Verfahren dient der reversiblen Hemmung der genannten Strukturen, da diese unter Dopamin-Mangel jeweils Überaktivität zeigen. Die Erforschung einer Stammzellentherapie bei der Parkinson-

⁶ vermutet werden Entzündungsreaktionen und Störungen im Metabolismus der Biothiole (Cystein, Homocystein und Glutathion) (Dorszewska et al., 2014)

⁷ Der therapeutische Ansatzpunkt durch anticholinergen Substanzen ist die Hemmung einer Überaktivität von cholinergen Interneuronen des Striatums. Diese Überaktivität entsteht durch die fehlende dopaminerge Hemmung, der cholinergen Interneurone während der Parkinson-Erkrankung. Diese Hemmung wird vor der Degeneration der dopaminergen Strukturen vor allem über die inhibitorischen D2-Rezeptoren (innerhalb der cholinergen Interneurone) vermittelt (vgl. Abbildung 2) (DeBoer et al., 1996).

Erkrankung hat bislang noch zu keinem anwendbaren Therapie-Verfahren geführt (Dantuma et al., 2010; Kim et al., 2002; Lindvall et al., 2004), jedoch sind neuere Studien bezüglich der Kultivierung und Transplantation dopaminspezifischer Stammzellen vielversprechend (Fan et al., 2013; Kohn Cordeiro et al., 2014; Sundberg et al., 2013).

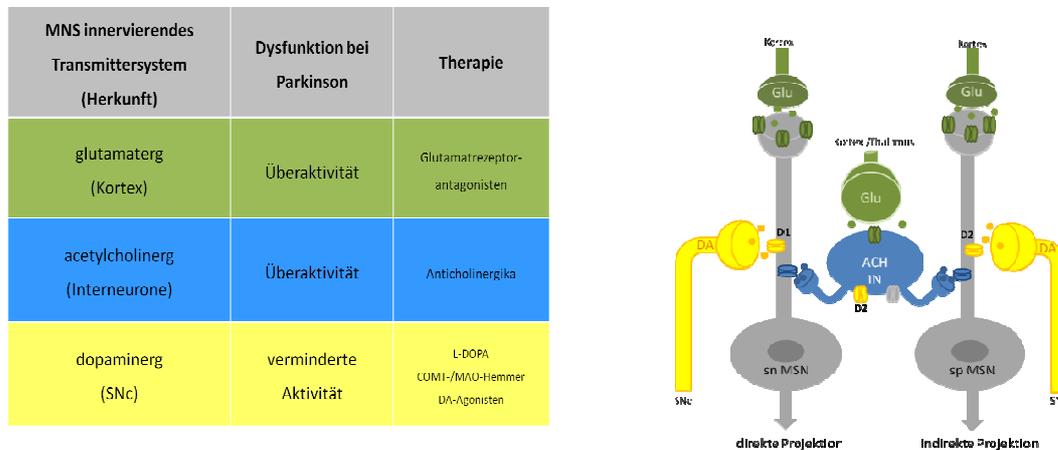


Abbildung 2 Transmitter-basierte Therapieformen der Parkinsonerkrankung

Link: tabellarische Zusammenfassung der Transmitter-basierte Therapieformen. Rechts: Schematische Darstellung der striatonigralen (sn) und striatopallidalen (sp) medium Spiny Neurone (MNS) (grau) des Striatums und eine vereinfachte Darstellung deren Innervierungen und abgehenden Projektionen verändert nach (Calabresi et al., 2000; Centonze et al., 1999; DeBoer et al., 1996; Tepper und Bolam, 2004) Gezeigt sind die glutamatergen (Glu) Projektionen aus dem Kortex zu den MNSs, die dopaminergen Projektionen (DA) aus der Substantia nigra pars compacta (SNc), und die acetylcholinergen (ACH) Interneurone (IN), die ihrerseits glutamaterg (aus dem Kortex und dem Thalamus), dopaminerg (aus der Substantia nigra) und GABAerg innerviert werden (Tepper und Bolam, 2004) Die Rezeptoren sind schematisch als ein Bündel stiftförmiger Strukturen dargestellt, die Neurotransmitter sind in der entsprechenden Farbe durch Punkte symbolisiert. Dabei sind dopaminerge Rezeptoren/ Dopamin gelb dargestellt, glutamaterge Rezeptoren/ Glutamat grün dargestellt, cholinerge Rezeptoren/ Acetylcholin blau dargestellt und GABAerge Rezeptoren grau dargestellt.

2.1.2.1. Glutamatrezeptorantagonisten bei der Parkinson-Therapie

In der vorliegenden Arbeit werden Glutamatrezeptorantagonisten bei den Untersuchungen zur Entwicklung der Katalapsie-Sensitivierung verwendet. Im Rahmen der Parkinson-Therapie kommen sie bereits zum Einsatz, da eine Überaktivität von Glutamatrezeptoren zur sogenannten **Exzitotoxizität** führt (Ankarcona et al., 1995; Morales et al., 2013). Bei diesem zytotoxischen Effekt führt eine überschießende Glutamat-Stimulation zu einem Anstieg der intrazellulären Kalzium-Ionen-Konzentration, welche wiederum Signaltransduktionskaskaden sowie zytoplasmatische und Zellkerngebundene Ereignisse hervorrufen, die schließlich eine toxischen Degeneration der betroffenen Zellen auslösen (Mark et al., 2001). Glutamatrezeptoren sind unter anderem in der SNc lokalisiert. Dies legt die bisher nicht bestätigte Vermutung nahe, dass eine Überaktivität von Glutamat im Rahmen der Parkinson-Erkrankung in dieser

Region zur neuronalen Degeneration beiträgt (Mark et al., 2001; Morales et al., 2013)⁸. Ein vielversprechender Kandidat für den Einsatz von Glutamatrezeptor-Antagonisten in der Parkinson-Therapie, ist neben dem Amantadin⁹ das Memantin, welches als potenter, nicht-kompetitiver NMDA-Rezeptor-Antagonist, Gegenstand weiterer Untersuchungen ist (Rabey et al., 1992; Varanese et al., 2010). Amantadin kann bereits in frühen Krankheits-Stadien und bei milden Verlaufsformen eingesetzt werden (Baas, 1999; Hilker, 2007). Memantin wird bei anderen, in höherem Lebensalter auftretenden Erkrankungen, eingesetzt (Tariot et al., 2004). Budipidin, ein weiterer NMDA-Rezeptor-Antagonist, wird bereits in der Parkinson-Therapie verwendet (Block und Kosinski, 2001).

2.2. Basalganglien

2.2.1. Lokalisation und Transmitter basierte Anatomie der Basalganglien

Die Basalganglien lassen sich in den extrapyramidalmotorischen Anteil des motorischen Systems eingliedern. Sie sind durch neuronale Feedback-Schleifen über den Thalamus mit den motorischen Regionen des Kortex verknüpft (Doya, 2000). Bevor eine willkürliche Bewegung (wie die erste aktive Bewegung der Tiere aus der kataleptischen Körperhaltung heraus) durch ein im Rückenmark lokalisiertes Netzwerk (Goulding, 2009) initiiert wird, kann der in den supraspinalen Arealen entworfene Bewegungsplan durch das extrapyramidale System moduliert werden. Funktionell werden die Basalganglien in eine ventrale und dorsale Schleife eingeteilt (Haber et al., 2005; Nakano, 2000). Namensgebend bei dieser Unterteilung ist insbesondere die ventrale, beziehungsweise dorsale Lage ihrer Anteile, die in die entsprechenden Schleifen involviert sind. Während die ventrale Basalganglienschleife eine wichtige Rolle bei Belohnung, Verstärkung und Suchtverhalten einnimmt (Camara et al., 2009; Wolf, 2002) und innerhalb des limbischen Schaltkreises organisiert ist (Roth und Dicke, 2006), wird der **dorsalen**

⁸ Die glutamaterge Exzitotoxizität wird zudem als Ursache bei der multiplen Sklerose und der amyotrophen Lateralsklerose diskutiert (Doble, 1999; Pitt et al., 2000; Shaw und Ince, 1997). An dieser Stelle sei erwähnt, dass das in der Lebensmittelindustrie verwendete Mono-Natrium-Glutamat, welches nach oraler Aufnahme im Darm in Alanin und in der Leber zu Glucose und Laktat verstoffwechselt wird (Bhattacharya et al., 2011; Garattini, 2000) in Hinblick auf die neuronale Exzitotoxizität Gegenstand wissenschaftlicher Diskussionen ist. Während eine frühe Studie von Lucas und Newhouse (Lucas und Newhouse, 1957) bei Mäusen gezeigt haben das subcutane Glutamatinjektionen toxische Effekte auf die Retina haben und nachfolgende Studien vor allem bei jungen Mäusen degenerative Prozesse im Hypothalamus gefunden haben (Garattini, 2000; Olney und Ho, 1970), hält die Senatskommission zur Beurteilung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Lebensmitteln (SKLM) einen kausalen Zusammenhang zwischen neurodegenerativen Erkrankungen und oral aufgenommenem Glutamat für unwahrscheinlich (Eisenbrand, 2005). Die SKLM formulierte Bedenkenlosigkeit des Glutamatverzehr, durch eine funktionelle Bluthirnschranke (die den Übertritt des Glutamats aus dem Plasma verhindert). Untersucht werden sollte laut SKLM dennoch, ob „bei Personen mit eingeschränkter Darm-Funktion, z.B. bei entzündlichen Darmerkrankungen, oder bei Lebererkrankungen wie Hepatitis nach Glutamat-Verzehr höhere Plasmaspiegel auftreten als bei Gesunden“ (Eisenbrand, 2005). Die Autorin Eid hat in ihrer Arbeit bezüglich der Begründung der SKLM, zum bedenkenlosen Glutamat-Verzehr, trotz wissenschaftlicher Belege, aufgrund der Nähe der SKLM zu wirtschaftlichen Interessen Skepsis geäußert (Eid, 2009).

⁹ Bei Amantadin handelt es sich um ein antivirales Influenza-Medikament, dessen therapeutischer Effekt innerhalb der Parkinson-Erkrankung im Jahre 1968 zufällig entdeckt wurde (Stanicová et al., 2001). Bis in die achtziger Jahre des 20. Jahrhunderts wurde Amantadin als Dopamin-mimetische Substanz eingestuft (Danysz et al., 1997). Erst später wurde bekannt, dass Amantadin auch in der Lage ist Serotonin-aktivierte Ionen-Kanäle, sowie Ionen-Kanäle der nicotinergen Acetylcholinrezeptoren und des glutamatergen NMDA Rezeptors (insbesondere im Globus pallidus pars interna (Baas, 1999)) zu blockieren (Stanicová et al., 2001).

Basalganglienschleife die **Kontrolle der Bewegung** zugeschrieben (Haber et al., 2005; Kreitzer und Malenka, 2008). Aus diesem Grund wird letztere im vorliegenden Abschnitt genauer beschrieben. Als subkortikale Kernregion durchziehen die Basalganglien im Gehirn, sowohl das Telencephalon (Großhirn), das Diencephalon (Zwischenhirn) als auch das Mesencephalon (Mittelhirn) (Albin et al., 1992; Albin et al., 1989) (Abbildung 3).

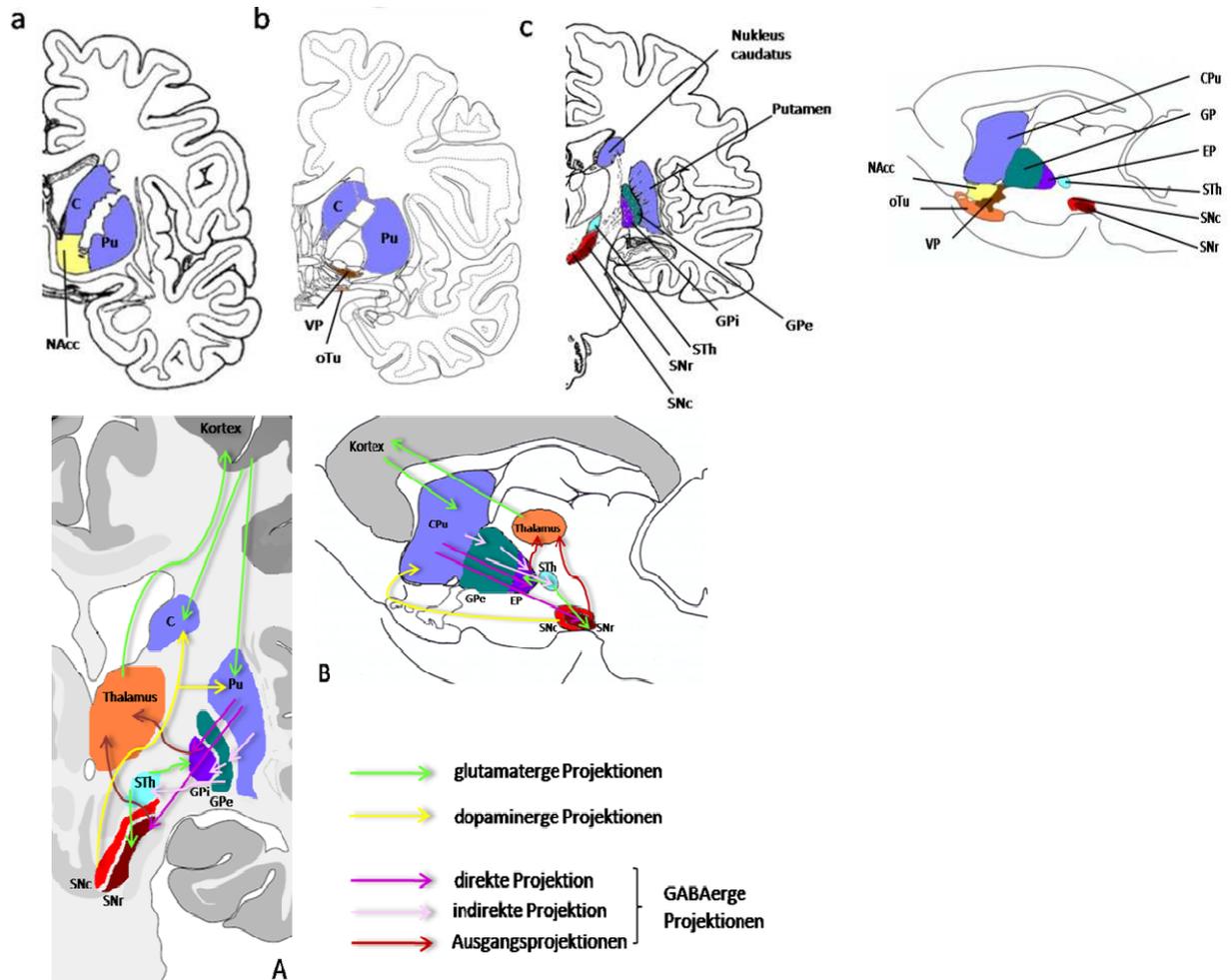


Abbildung 3 Anatomische Lage der Basalganglien und der direkten und indirekten dorsalen Basalganglienschleife

Die oberen Abbildungen dienen der Lageorientierung der anatomischen Strukturen der BG im Gehirn des Menschen (oben links a-c) und der Ratte (oben rechts) und sind aus diesem Grund ohne metrische Größenskalisierung angegeben. Die transversalen unilaterale gezeigten Schnittebenen des menschlichen Gehirns sind von rostral nach caudal sortiert (a-c). Abkürzungen, Nucleus caudatus (C), Putamen (Pu), Nucleus accumbens (NAcc), ventrales Pallidum (VP), olfaktorischer Tuberkel (oTu), Globus Pallidus pars externa (GPe) und pars interna (GPi), subthalamischer Nucleus (STh), Substantia nigra pars compacta (SNc) und pars reticulata (SNr). Verändert nach (DeArmond et al., 1989; Kandel et al., 1995; Mai et al., 1998; Pinel und Boucsein, 2001). Die sagittale Schnittebene des Rattengehirns beinhaltet folgende zusätzliche Abkürzungen: Caudateoputamen (CPU), entopedunculärer Nucleus (EP), verändert nach (Cheung und Cardinal, 2005; Paxinos, 1994; Paxinos und Watson, 1997). Die untere Darstellung der direkten und indirekten Basalganglienschleife ist unilaterale in einer transversalen Schnittebene für das menschliche Gehirn (A) (verändert nach (Breakefield et al., 2008)) und (B) in sagittaler Schnittebene für das Rattengehirn (verändert nach (Paxinos, 1994)) angegeben. Abkürzungen: CPU, Caudatoputamen; C, Caudate; Pu, Putamen; STh, Subthalamischer Nucleus; GP, Globus pallidus, -i, pars interna, -e, pars externa; SN, Substantia nigra, -c, pars compacta; -r, pars reticulata, EP, entopedunculäre Nucleus. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden die Efferenzen die (in A) vom Nucleus caudatus zu denselben Zielstrukturen verlaufen wie ausgehenden vom Putamen weg gelassen.

Zu den telencephalen Strukturen zählt die Eingangsstruktur der Basalganglien, das **Striatum**, welches sich wiederum aus einem dorsal gelegenen Anteil (dorsaler Nucleus caudatus und Putamen), sowie dem ventral gelegenen Anteil zusammensetzt. Letzterer besteht vornehmlich aus dem Nucleus accumbens (NAcc) (Pritzel et al., 2003). Bei Primaten und katzenartigen Säugern werden Caudate und Putamen durch die Fasern der Capsula interna getrennt; bei anderen Säugern (z.B. Nagern) sind beide Strukturen zu einer einzelnen, dem Caudatoputamen, verschmolzen (*Abbildung 3*) (Albin et al., 1989; Smeets et al., 2000)¹⁰. Das Striatum wird **glutamaterg** aus dem Isokortex und dem intralaminaren Nucleus des Thalamus innerviert. **Dopaminerge** Projektionen erreichen den dorsalen Anteil des Striatums aus der SNc (Massey und Bashir, 2007; Parent und Hazrati, 1995) und **serotonerge** (Mori et al., 1985; Steinbusch, 1981) aus den Fasern den dorsalen Raphé Kernen (Blomeley und Bracci, 2005; Bonsi et al., 2007). Zudem erhält das Striatum exzitatorische Eingänge aus limbischen Strukturen (insbesondere aus der Amygdala) (Albin et al., 1992; Albin et al., 1989; Hauber, 1998). Das dorsale Striatum selbst besteht vor allem aus Projektionsneuronen, den GABAergen **Medium Spiny Neuronen** (MSNs). Die MSNs werden in mindestens zwei Subtypen unterteilt: die striatonigralen und die striatopallidalen MSNs. Die striatonigralen MSNs exprimieren in hohem Maße dopaminerge **D₁-Rezeptoren** (Fuxe et al., 2012), während die striatopallidalen MSNs vor allem dopaminerge **D₂-Rezeptoren** exprimieren (Tozzi et al., 2011)¹¹. Die diencephalen Strukturen der Basalganglien bilden zum einen der Subthalamische Nucleus (**STh**) und zum anderen der Globus pallidus. Der Globus pallidus setzt sich bei Primaten dorsal aus dem internen Anteil, dem Globus pallidus pars interna (**GPI**) (bei Nagern dem entopedunculärem Nucleus (**EP**)) und dem externen Globus pallidus (**GPe**) (der bei Nagern analog als Globus pallidus (**GP**) bezeichnet wird) und ventral aus dem ventralen Pallidum (VP) zusammen (Albin et al., 1989). Der mesencephale Teil der Basalganglien wird durch die Substantia nigra pars compacta (**SNc**) und pars reticulata (**SNr**) repräsentiert (Albin et al., 1989)¹². Die Hauptausgangsstrukturen der dorsalen Basalganglienschleife bilden der GPI, (beziehungsweise dessen Pendant bei Nagern, dem EP) und die SNr. Beide Strukturen projizieren GABAerg zu dem ventro-anterioren, ventro-lateralen sowie medio-dorsalen Anteil des Thalamus (Albin et al., 1989; Schmidt, 2006), der seinerseits durch seine Rückprojektion zum Kortex die Basalganglienschleife „schließt“ (gezeigt in der *Abbildung 3*).

¹⁰ Zudem wird das olfaktorische Tuberkel, welches eine telencephale Struktur darstellt, zum Striatum (insbesondere zum ventralen Anteil) gezählt (Joel und Weiner, 2000).

¹¹ Neben den dopaminergen D₁-Rezeptoren werden auf den striatonigralen MSNs zudem Adenosin- A₁ und muscarinerge M₄ Rezeptoren exprimiert (Fuxe et al., 2012). Die striatopallidalen MSNs enthalten Enkephalin (Fuxe et al., 2012) und exprimieren neben den dopaminerge D₂-Rezeptoren auch Adenosin-A_{2A}, sowie muscarinerge M₁-Rezeptoren (Kuroiwa et al., 2012).

¹² Einige Autoren zählen darüber hinaus auch den pedunculopontinen Kern zum Kernkomplex der Basalganglien (Jenner, 2008).

Da die striatonigralen MSNs direkt über GABAerge Bahnen zu den Hauptausgangsstrukturen projizieren, bezeichnet man die von ihnen ausgehende Projektion auch als **direkte** Basalganglienschleife. Die striatopallidalen MSNs stellen durch ihre indirekte Projektion zu den Ausgangsstrukturen über den GPe, beziehungsweise dessen GABAerge Afferenzen zum STh, den Eingang in den **indirekten** Anteil der dorsalen Basalganglienschleife dar (Kreitzer und Malenka, 2008; Trevitt et al., 2009a)¹³.

2.2.2. Die direkte („Go“-) und indirekte („NoGo“-Bahn) Projektion

Die direkten und indirekten dorsalen Basalganglienschleifen unterscheiden sich nicht nur durch ihr neuronales Verschaltungsmuster, sie werden auch auf funktioneller Ebene differenziert betrachtet. Dies wird offensichtlich, wenn man zunächst die oben beschriebene dopaminerge Projektion aus der SNc zu den striatonigralen und den striatopallidalen MSNs außer Acht lässt (**Abbildung 4**). Durch den glutamatergen Eingang aus dem Kortex in das Striatum werden innerhalb der direkten Bahn bei dieser Betrachtung sowohl die SNr, als auch der GPi, durch die nachfolgenden GABAergen Afferenzen gehemmt, GABAerge Efferenzen zum Thalamus werden gehemmt und dieser disinhibiert. Der Thalamus entsendet glutamaterge Projektionen zum präfrontalen Kortex, sowie zum supplementär motorischen Areal und ist somit an der Initiierung bestimmter Bewegungen beteiligt. Die direkte Bahn wird (insbesondere bei neuronalen Verschaltungsmodellen in der Bioinformatik) auch als **„Go“-Bahn** beschrieben (**Abbildung 4 A**) (Frank, 2005; Frank et al., 2007; Wiecki und Frank, 2010). In dieser Bezeichnung spiegelt sich die modulatorische Rolle der Basalganglien wieder, **gewünschte Bewegungen**, beziehungsweise ihre Initiierung, zu fördern (Gurney et al., 2001; Mink, 1996, 2003; Mink und Thach, 1993). Führt man die Betrachtung ohne den modulatorischen Einfluß von Dopamin bei der indirekten Bahn (**Abbildung 4 B**) fort, so verhält es sich mit deren Innervierung des Thalamus umgekehrt: Innerhalb der indirekten Bahn führt die GABAerge Hemmung des GPe zu einer weniger stark ausgeprägten Hemmung des GPi (oder EP) sowie des STh. Somit kann die letztgenannte Struktur

¹³Neben den glutamatergen Neuronen die vom STh ausgehend zu den beiden Hauptausgangsstrukturen projizieren (Albin et al., 1989; Meissner et al., 2004) und den restlichen GABAergen Projektionen findet man innerhalb der Basalganglien noch eine Minderheit weiterer striataler Neurone, die sogenannten Interneurone (nicht gezeigt in der **Abbildung 3**). Von diesen Interneuronen wurden bisher vier Subtypen identifiziert (Centonze et al., 1999; Kawaguchi et al., 1995). Zwei dieser Subtypen (parvalbumin- und calretinin- haltige Zellen) sind GABAerg, während die verbleibenden zwei Interneurontypen die Hauptquelle für Acetylcholin bzw. Stickstoffmonoxid (NO) darstellen (Centonze et al., 1999). Letztere (Stickstoffmonoxid haltigen Interneurone, die zudem Somatostatin, Neuropeptid Y als auch Calbindin enthalten sind vermutlich auch GABAerg (Fuxe et al., 2012; Kawaguchi et al., 1995).

sowohl die SNr als auch den GPi selber durch glutamaterge Projektionen erregen, was gemeinsam mit der zuvor beschriebenen weniger stark ausgeprägten Hemmung des GPi insgesamt zu einer verstärkten Hemmung des Thalamus führt. Entsprechend bezeichnet man die indirekte Bahn auch als „**NoGo**“-**Bahn** (Frank, 2005; Frank et al., 2007; Wiecki und Frank, 2010).

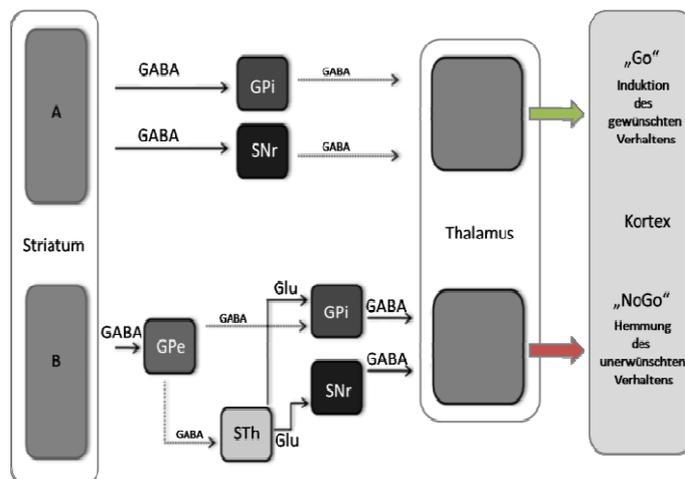


Abbildung 4 Initiierung kompetitiver Verhalten durch die „Go“- und „NoGo“-Bahn

Die modulierenden dopaminergen Afferenzen wurden in dieser Abbildung nicht mit einbezogen. Die „Go“-Bahn ist unter A, die „NoGo“-Bahn unter B dargestellt. Der grüne „Go“-Pfeil (in A) symbolisiert den glutamatergen Ausgang (engl. *Output*) vom disinhibierten Thalamus zum Kortex, während der rote „NoGo“-Pfeil (in B) die Hemmung des Thalamus, innerhalb der indirekten Bahn darstellt, die (bei reiner Betrachtung der glutamatergen Eingängen aus dem Kortex) zu einer Hemmung der thalamokortikalen Rückprojektion führt. Verändert nach (Schmidt, 2006) und in Anlehnung an¹⁴.

Es wird davon ausgegangen, dass die Aktivierung dieser Bahn zur **Unterdrückung unerwünschter Bewegungen** führt, welche mit den gewünschten Bewegungen (die durch die Aktivierung der „Go“-Bahn induziert werden) in einem kompetitiven Zusammenhang stehen (Gurney et al., 2001; Mink, 1996, 2003; Mink und Thach, 1993). Störungen dieser Basalganglienfunktion zeigen sich beispielsweise bei hyperkinetischen Erkrankungen, wo es zur Ausprägung unterschiedlichster unfreiwilliger Bewegungen kommt (wie beispielsweise Chorea, Dystonien und Tics und den L-DOPA induzierte Dyskinesien) (Mink, 1996, 2003; Mink und Thach, 1993). Aber auch im klinischen Zusammenhang mit Schizophrenie, Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätssyndrom, Suchterkrankungen und motorischen Symptomen im Rahmen des Morbus Parkinson wird eine pathologische Veränderung von Lernprozessen diskutiert, die auf einem gestörten Gleichgewicht der Aktivität der „Go“- und „NoGo“-Bahnen zurück zu führen sind (Cools et al., 2006; Frank, 2005, 2008; Frank et al., 2004). Beide Bahnen der dorsalen Basalganglienschleifen werden durch weitere Transmittersysteme beeinflusst und moduliert. Insbesondere Dopamin nimmt hierbei eine wichtige Rolle ein.

¹⁴Quelle: <http://www.dana.org/news/cerebrum/detail.aspx?id=10376>

2.3. Dopamin

2.3.1. Entdeckung, Metabolismus von Dopamin und das mesencephale Dopaminsystem

Der Neurotransmitter Dopamin zählt gemeinsam mit Noradrenalin und Adrenalin zu den Katecholaminen, wobei sowohl Noradrenalin (durch die Dopamin-beta-Hydroxylase) als auch Adrenalin (durch den weiteren Abbau von Noradrenalin mittels der Phenylethanolamin-N-Methyltransferase) aus Dopamin hervorgehen. Die Katecholamine werden gemeinsam mit Serotonin und Histamin in die Gruppe der Monoaminneurotransmitter eingeteilt (Nestler et al., 2001; Siegel et al., 1994). Der schwedische Nobelpreisträger Arvid Carlsson entdeckte 1957 durch seine Versuche an Mäusen und Kaninchen erstmals die *in vivo* Synthese von Dopamin nach der Entleerung von Serotonin und den Katecholaminen durch das Indolalkaloid Reserpin¹⁵ (Carlsson et al., 1957). L-DOPA wird durch die Tyrosinhydroxylase aus L-Tyrosin synthetisiert, während L-DOPA durch die DOPA-Decarboxylase (aromatische Aminosäuredecarboxylase) zu Dopamin decarboxyliert wird (Siegel et al., 1994). Der Abbau von Dopamin erfolgt sowohl durch die MAO, (über 3,4-Dihydroxyphenylacetaldehyd und dessen Abbau durch die Aldehyddehydrogenase (Anderson et al., 2011; Graefe et al., 2011)) zu 3,4-Dihydroxyphenylelessigsäure (**DOPAC**), als auch durch die COMT zu 3-Methoxytyramin (**3-MT**). DOPAC wird durch COMT weiter zur Homovanillinsäure (**HVA**) abgebaut. HVA entsteht zudem durch den Abbau von 3-MT durch die MAO (Graefe et al., 2011; Hevers et al., 2008; Nayak und Henchcliffe, 2008; Nestler et al., 2001). Die Synthese und Freisetzung des mesencephalen Dopamins erfolgt bei Nagern und Primaten aus drei dopaminergen Hauptkernen des Gehirns¹⁶. Einer davon stellt die SNc dar. Durch die in der SNc entspringende **nigrostriatale Bahn** wird der direkte und indirekte Weg der dorsalen Basalganglienschleife moduliert.

¹⁵ Dies gelang, indem er nach der Entleerung der genannten Transmitter eine Injektion des Dopaminvorläufers 3,4-Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA) vornahm und zusätzlich Iproniazid zur Hemmung des Enzyms zum Abbau von Monoamintransmittern (der sogenannten Monoaminoxidase (MAO)) verabreichte. Da die so behandelten Tiere eine Verbesserung der durch die Transmitterentleerung hervorgerufenen Symptome (Augenlidlähmung und dämpfende Wirkung) erfuhren, wurde daraus geschlossen, dass dies durch einen aus dem L-DOPA hervorgegangenen Transmitter bewerkstelligt wurde (Carlsson et al., 1957).

¹⁶ Zu ihnen zählen das Ventral Tegmentale Areal (VTA) (Areal A10 nach (Dahlstrom und Fuxe, 1964), die SNc (Areal A9) sowie das in etwas caudalerer Position liegende retrorubale Feld (Areal A8) (Dahlstrom und Fuxe, 1964; Moore und Bloom, 1978; Nestler et al., 2001; Pralong et al., 2002; Roth et al., 1987). Das VTA projiziert zum präfrontalen Kortex, dem cingulären Kortex, sowie innerhalb der mesolimbischen Projektion zum NAcc (Nestler et al., 2001). Diese Projektion zählt zur ventralen Basalganglienschleife, die, wie bereits erwähnt, maßgeblich an Belohnungsmechanismen sowie dem Suchtverhalten beteiligt ist (Camara et al., 2009; Laviolette und van der Kooy, 2004).

2.3.2. Modulation der „Go“- und „NoGo“- Bahn durch Dopamin

Während die D₁-Rezeptoren der striatonigralen MSNs über die G_s-Proteine gekoppelt sind und ihre Stimulation somit zur Aktivierung der Adenylylcyclase beiträgt, wird diese durch die Stimulation der D₂-Rezeptoren (der striatopallidalen MSNs) beziehungsweise die an sie gekoppelten G_i-Proteine inhibiert (Nestler et al., 2001). Die unterschiedliche postsynaptische Wirkungsweise der beiden Dopaminrezeptoren führt zu einer entsprechend unterschiedlichen Modulation der nachgeschalteten GABAergen, somit hemmenden, Projektion vom Striatum zu den beiden Hauptausgangsstrukturen (GPi und SNr) innerhalb der direkten Bahn, beziehungsweise zum GPe innerhalb der indirekten Bahn (Abbildung 5). Die Aktivierung der D₁-Rezeptoren führt innerhalb der direkten Projektion zu einer verstärkten GABAergen Ausschüttung durch die striatonigralen MNSs, während die Aktivierung der D₂-Rezeptoren innerhalb der indirekten Bahn dazu führt, dass die nachgeschaltete GABAerge striatopallidale Projektion inhibiert wird, somit weniger hemmend auf den GPe einwirken kann. Bei normaler dopaminergener Funktion führt die durch die Aktivierung des direkten Weges ausgelöste Hemmung des GPi und der SNr dazu, dass ihre GABAergen Projektionen zum Thalamus noch stärker geschwächt, der Thalamus somit noch stärker disinhibiert wird. Im Gegensatz dazu bewirkt die Aktivierung der inhibierenden D₂-Rezeptoren einen umgekehrten Effekt auf den Thalamus; im Vergleich zur Aktivierung der indirekten Bahn ohne dopaminergen Einfluss (Abbildung 4 und Abbildung 5) führt die abgeschwächte Hemmung des GPe dazu, dass dieser seinerseits sowohl den ihm nachgeschalteten GPi als auch den STh stärker GABAerg innerviert und somit die Transmitterausschüttung dieser Regionen hemmt. Zum einen wird der GPi, wie bei der direkten Projektion, auch hier in seiner GABAergen Transmission gehemmt, wodurch es zur Disinhibition des Thalamus kommt. Zum anderen wird die glutamaterge Transmission vom STh zu den beiden Hauptausgangsstrukturen (GPi und SNr) gedrosselt, was eine verminderte Aktivierung dieser Strukturen, damit letztendlich eine weniger starke GABAerge Hemmung des Thalamus zur Folge hat. Durch Disinhibition des Thalamus wird der Kortex glutamaterg innerviert und somit die Initiierung von Bewegungsabläufen ausgelöst. Dadurch verschiebt der modulierende Einfluss der dopaminergen Bahn vor allem die „NoGo“-Funktion der indirekten Bahn zugunsten einer Disinhibition des Thalamus, wodurch thalamische Rückprojektionen zum Kortex ermöglicht werden.

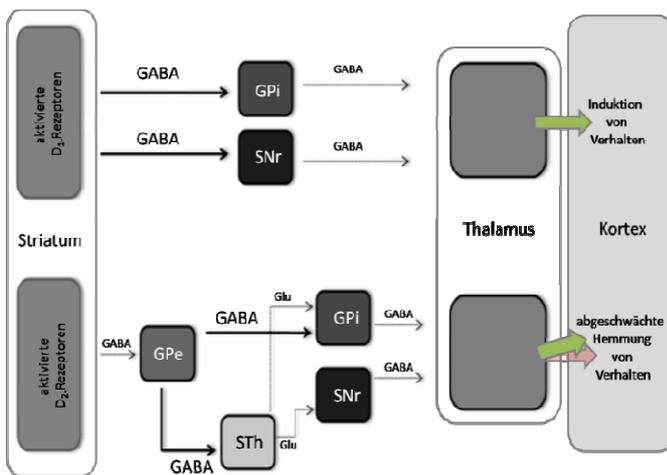


Abbildung 5 Dopaminerge Modulation der "Go" - und "NoGo"-Bahn

Dargestellt sind die „Go“- (oben) und „NoGo“- (unten)- Bahn mit ihren dopaminergen Projektionen aus der SNc. Der obere grüne „Go“-Pfeil symbolisiert den durch die Aktivierung der D₁-Rezeptoren verstärkten glutamatergen thalamokortikalen Output. Die Modulation der indirekten Bahn durch die D₂-Rezeptoren führt zu einer leichten Verschiebung von einem gehemmten Thalamus (hell-roter NoGo Pfeil) zu einem disinhibierten Thalamus (grüner Pfeil über dem hell-roten NoGo Pfeil). Somit vermittelt die „NoGo“- Bahn eine aktivierende thalamokortikale Rückprojektion. Verändert nach (Schmidt, 2006).

Somit kann bei einem funktionierenden dopaminergen System eine erhöhte Dopamin Ausschüttung zur Verstärkung oder dem Auslösen einer bestimmten Bewegung führen; während eine dazu konkurrierende, parallel gebahnte Bewegung durch eine verminderte Dopamin Ausschüttung gehemmt werden kann.

2.3.3. Ungleichgewicht der „Go“ und „NoGo“ Bahn bei der Parkinson-Erkrankung und Dopaminrezeptor-Blockade im Katalapsiemodell

Kommt es zu einer eingeschränkten oder gar fehlenden dopaminergen Innervierung wie bei der Parkinson-Erkrankung oder in entsprechenden Tiermodellen, entfällt die Modulation durch diesen Transmitter (Albin et al., 1989). Die verminderte Dopaminkonzentration an den D₁-Rezeptoren führt innerhalb der direkten Bahn zu einer schwächeren Disinhibition des Thalamus wodurch die Induzierung eines gewünschten Verhaltens („Go“-Wirkung) vermindert wird. Innerhalb der „NoGo“-Bahn führt eine verminderte Dopaminkonzentration dazu, dass die GABAergen Projektionsneurone zwischen dem Striatum und GPe eine gesteigerte Transmitterausschüttung aufweisen (Albin et al., 1989; Schmidt, 2006). Aufgrund des nachfolgenden Verschaltungsmusters bewirkt der Dopaminmangel innerhalb der indirekten Bahn letztendlich die Verschiebung von der abgeschwächten Disinhibition des Thalamus zu dessen Inhibition (Johnson et al., 2009). Die so induzierten Funktionsstörungen der dorsalen Basalganglienschleife erklären das Auftreten der motorischen Symptome Rigor und Akinesie¹⁷. Die bei der Parkinson-Erkrankung auftretende **Überaktivierung der „NoGo“-Bahn** wird im Rahmen des **Katalapsiemodells** imitiert, indem die **D₂-Rezeptoren**, deren Aktivierung

¹⁷Die Ursachen des Tremors scheinen ebenfalls in der Fehlfunktion verschiedener Neurotransmitter zu liegen. So geht man davon aus, dass neben dem Dopaminmangel eine Überaktivität von Acetylcholin, beziehungsweise eine verminderte Aktivität von Adenosin, an der Entstehung dieses Parkinsonsymptoms beteiligt sind (Miwa, 2007; Trevitt et al., 2009a).

normalerweise genau die Überaktivität der „NoGo“-Bahn“ verhindert, **antagonisiert** werden. Hierzu werden **Neuroleptika** wie **Haloperidol** und Fluphenazin aufgrund ihrer Eigenschaft als Dopamin-D₂-Rezeptor-Antagonisten, bei *Rodentia* eingesetzt (Elliott et al., 1990a, b; Gerlach et al., 2007; Lorenc-Koci et al., 1996). In anderen Studien wird die Katalepsie durch die Gabe von direkten D₂-Rezeptorantagonisten wie Racloprid ausgelöst. Auch die Blockade des D₁-Rezeptors, durch die Gabe von D₁-Rezeptorantagonisten wie SCH-23390, wird in Tier-Modellen der Katalepsie eingesetzt (Degos et al., 2005)¹⁸. In der vorliegenden Arbeit wird der D₂-Rezeptor-Antagonist **Haloperidol** im Rattenmodell angewendet. Während die antipsychotische Wirkung von Haloperidol vermutlich über die mesolimbische Bahn vermittelt wird, macht man sich im Katalepsiemodell vor allem die extrapyramidal-motorische Wirkung dieser Substanz innerhalb der nigrostriatalen Bahn zunutze (Wadenberg et al., 2001). Bringt man mit Haloperidol behandelte Tiere in eine für sie ungewohnte Position, zeigen sie vor allem die Symptome des **Rigors** und der **Akinese** (Klemm, 1989; Sanberg, 1980; Sanberg et al., 1988), die im Tiermodell unter dem Begriff **Katalepsie** zusammengefasst werden.

2.4. Gedächtnisbildung

Das täglich verstärkt messbare Verharren der Tiere im Rahmen der **Katalepsie-Sensitivierung** ist als **Lernprozess** anzusehen. Um diesen nach den bisherigen Erkenntnissen einzuordnen, wird in der vorliegenden Arbeit Grundlegendes zur **Gedächtnisbildung** und **Konsolidierung** erläutert.

2.4.1. Konsolidierung- der Übergang vom Kurzzeit ins Langzeitgedächtnis

Lernen beginnt mit der Aufnahme neuer Informationen. Diese Art der Informationsaufnahme wird in der Literatur unter dem Begriff **Akquisition** zusammengefasst (**Abbildung 6**) (Lynch, 2004). Zur Gedächtnisbildung kommt es, wenn neu erworbene Informationen, beziehungsweise Kenntnisse, zeitlichen Bestand haben. Bezüglich der Dauer des Gedächtnisses unterscheidet man zwischen dem **Ultrakurzzeitgedächtnis**¹⁹, dem **Kurzzeitgedächtnis** und dem **Langzeitgedächtnis**

¹⁸ Neben der Gabe von Dopamin-Rezeptor-Antagonisten können auch lokale (uni- oder bilaterale) dopaminerge Läsionen, bevorzugt im Striatum oder in dem medialen frontalen Vorderhirnbündel durchgeführt werden. Das mediale Vorderhirnbündel enthält die nigrostriatale Bahn und somit die dopaminergen Afferenzen die das Striatum aus der Substantia nigra erreichen (Kemmerer et al., 2003). Im Zuge dieser Läsionen wird vorwiegend das Neurotoxin 6-Hydroxydopamin (6-OHDA) verwendet (Schwartz und Huston, 1996; Smith et al., 2002).

¹⁹ Das Ultrakurzzeitgedächtnis, auch sensorisches oder ikonisches Gedächtnis genannt, speichert Sinneseindrücke für circa 100 Millisekunden (Kühnel und Markowitsch, 2009; Thompson, 2001).

(Kühnel und Markowitsch, 2009; Thompson, 2001). Im Vergleich zum Langzeitgedächtnis wird das Kurzzeitgedächtnis durch eine zeitlich kürzere Verfügbarkeit der Inhalte (von einigen Sekunden bis Minuten oder Stunden) (Bailey et al., 1996; Kühnel und Markowitsch, 2009) und eine geringere Speicherkapazität (Cowan, 2001, 2008; Todd und Marois, 2004) abgegrenzt. In der kognitiven Psychologie ist das sogenannte Arbeitsgedächtnis ein gängiges Modell zur aktiven Aneignung von Gedächtnisinhalten (Baddeley, 1996). Es unterscheidet sich dadurch vom eher passiv gebildeten Kurzzeitgedächtnis (Baddeley, 2003; Kühnel und Markowitsch, 2009). Das **Arbeitsgedächtnis** wird auch als eine Art **aktive Verknüpfung** zwischen dem Kurz- und dem Langzeitgedächtnis angesehen (Kühnel und Markowitsch, 2009). Während Informationen die zunächst ins Ultrakurzzeitgedächtnis aufgenommen werden innerhalb kürzester Zeit wieder verloren gehen und nur ein Teil der neu aufgenommenen Information über die Akquisition im Kurzzeitgedächtnis gespeichert wird, umschreibt der Begriff der (synaptischen)²⁰ **Konsolidierung** den Übergang von Gedächtnisinhalten vom **Kurz- ins Langzeitgedächtnis** (Abbildung 6) (Dudai, 2002; Nadel et al., 2007; Pare, 2003). In verhaltenspharmakologischen Versuchen trennt man das Kurzzeitgedächtnis vom Langzeitgedächtnis innerhalb bestimmter Versuchsparadigmen, indem entsprechend unterschiedliche **Zeiträume definiert werden**, in welchen die jeweiligen Gedächtnisformen angelegt sind. Für das Kurzzeitgedächtnis wird eine Zeitspanne festgelegt, die parallel zum Beginn eines Versuchsparadigmas bis zu dessen Ende verläuft. Substanzen, die zur Beeinträchtigung oder Modulation der **Akquisitionsphase** verwendet werden, werden entsprechend entweder vor (engl.: *pre-test-administration*) oder während (engl.: *co-administration*) des Versuchsparadigmas verabreicht. Hingegen werden Substanzen welche die **Konsolidierungsphase** beeinträchtigen sollen, nach (engl.: *post-test-administration*) dem eigentlichen Versuchsparadigma verabreicht, da die Konsolidierungs-Phase definitionsgemäß während dieser Zeit erfolgt (Abel und Lattal, 2001) (Abbildung 6). Auf physiologischer Ebene wurde zwischen der Akquisition und der Konsolidierung erstmals durch die Arbeit von Hebb (1949) (nach (Morris, 1999) unterschieden. Hebb postulierte, dass es bei der Bildung des Kurzzeitgedächtnisses zu einer erhöhten elektrischen Aktivität der betroffenen neuronalen Bahnen kommt, während bei der Bildung des Langzeitgedächtnisses neuronales Wachstum eine Rolle spielt.

²⁰ die synaptische Konsolidierung wird von der systemischen Konsolidierung unterschieden. Bei letzterer handelt es sich um die Umwandlung eines Hippocampus-abhängigen und im Hippocampus akquirierten Gedächtnisinhaltes zu einem Hippocampus-unabhängigen Gedächtnisinhalt (Dudai, 2002; Nadel et al., 2007).

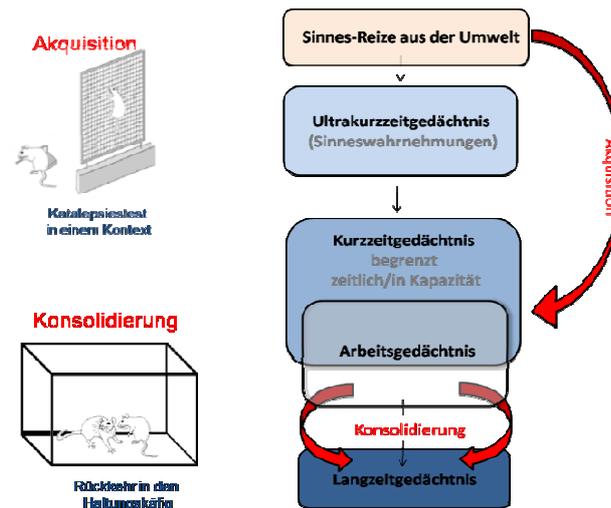


Abbildung 6 Gedächtniskomponenten und experimentelle Einordnung der Akquisition und Konsolidierung

Rechts: Einteilung des Gedächtnisses in zeitlich unterschiedlich begrenzte Gedächtniskomponenten (als abgerundete blau eingefärbte, bzw. transparente Kästen dargestellt) und schematische Darstellung der Akquisition und Konsolidierung des Gedächtnisses (als rote Pfeile dargestellt) (verändert nach (Baddeley, 2003; Kühnel und Markowitsch, 2009). Links: Darstellung der Versuchsphasen der Katalepsie-Sensitivierung in denen die Akquisitionsphase (oben) und Konsolidierungsphase (unten) experimentell festgelegt wurde. Diese Einteilung erfolgt in Anlehnung an (Abel und Lattal, 2001).

Die Hypothese von Hebb bekräftigte sich sowohl bei Invertebraten durch die Untersuchungen von Eric Kandel zum Kiemenrückzugs-Reflex des Kalifornischen Seehasens, *Aplysia californica* (Bailey et al., 1996; Squire und Kandel, 1999), als auch bei Vertebraten durch Untersuchungen von Bliss und Lomo am Hippocampus von Kaninchen (Bliss und Lomo, 1973). Der aus diesen Untersuchungen hervorgegangene Begriff der Langzeitpotenzierung (LTP) beschreibt die langzeitige Steigerung der synaptischen Übertragungseffizienz. Sie kann durch Hemmer der Gen- und Proteinsynthese inhibiert werden (Bailey et al., 1996). Im Gehirn von Säugern wurden neben den Regionen im Hippocampus auch die molekularen Mechanismen der LTP im Kortex, dem Striatum, den Amygdalae, dem Cerebellum, aber auch in spinalen Regionen untersucht (Calabresi et al., 1992; Fox, 2002; Ji et al., 2003; Minichiello, 2009). Man unterscheidet dabei zwischen **NMDA-Rezeptor abhängig** und **NMDA-Rezeptor unabhängig** LTP (Johnston et al., 1992; Kauer und Malenka, 2007). Da NMDA-Rezeptoren eine Subgruppe der Glutamaterezeptoren darstellen, und diese in der vorliegenden Arbeit im Zusammenhang mit der **Konsolidierung** der **Katalepsie-Sensitivierung** untersucht worden sind, folgt nun eine Darstellung des Neurotransmitters Glutamat und der glutamatergen Rezeptoren.

2.5. Glutamat

2.5.1. biochemische Einordnung und Metabolismus des Neurotransmitters Glutamat

Glutamat gehört zusammen mit Aspartat zu den **exzitatorischen Aminosäuren**, die im Gehirn als Neurotransmitter wirken (Krogsgaard-Larsen et al., 1980; Siegel et al., 1994)²¹. Die Hauptquelle für Glutamat im zentralen Nervensystem stellt das endogene α -Ketoglutarat dar, welches aus dem Zitratzyklus hervorgeht (Mark et al., 2001). Bei der Glutamatsynthese transaminiert eine Aminotransferase unter Mitwirkung des Kofaktors Pyridoxal-5-phosphat α -Ketoglutarat, wodurch Glutamat und die α -Ketosäure entstehen (Hevers et al., 2008). Der Abbau von Glutamat erfolgt über die ATP-abhängige Wirkung der Glutaminsynthetase zu Glutamin. Glutamaterge Neurone sowie Glutamatrezeptoren sind im gesamten zentralen Nervensystem, und insbesondere im Vorderhirn stark verbreitet (Segovia et al., 2001).

2.5.2. Glutamatrezeptoren

In der bislang gängigen Einteilung unterschied man zwei große **Glutamat-Rezeptor-Familien** (Abbildung 7), die schnellen aktivierbaren Liganden-gesteuerten Ionenkanäle (**ionotrope Rezeptoren**) und die langsamer wirkenden G-Protein gekoppelten (**metabotropen**) Rezeptoren (Nusser et al., 1994).

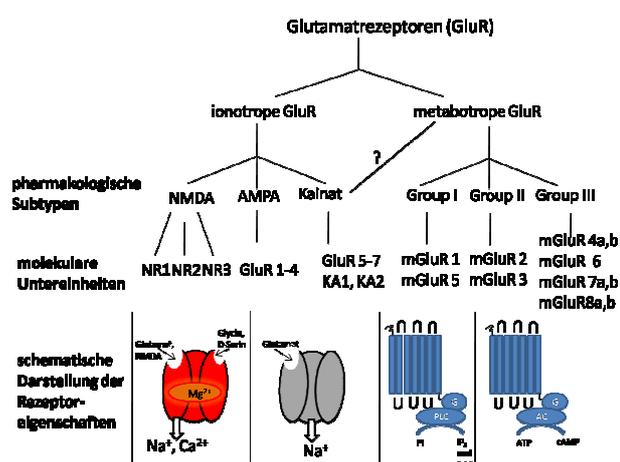


Abbildung 7 Glutamatrezeptoren

Darstellung zur allgemeinen Einteilung der Glutamatrezeptoren (GluR) in metabotrope (mGluR) und die ursprüngliche Einteilung in rein ionotrope (NMDA; AMPA; Kainat) Rezeptoren verändert nach (Watkins und Jane, 2006) und (Block und Kosinski, 2001). Das Fragezeichen zwischen dem Kainat und dem metabotropen GluR steht für Ergebnisse neuerer Studien, die von einer zusätzlichen, noch nicht ganz aufgeklärten metabotropen Wirkungsweise der Kainat-Rezeptoren ausgehen zusammengefasst in (Lerma und Marques, 2013).

Während die Gruppe der **ionotropen** Glutamat-Rezeptoren nochmals in einen **NMDA-Rezeptor** und zwei **nicht-NMDA-Rezeptoren-Gruppen** untergliedert worden ist (Nestler et al., 2001), wurden die **metabotropen** Glutamatrezeptoren in **drei unterschiedliche**

²¹ Hayashi definierte Glutamat erstmals als Neurotransmitter im ZNS der Säugetiere (Hayashi, 1954). Aufgrund der mangelnden Anzahl an Glutamatrezeptorantagonisten blieb dies jedoch zunächst umstritten (Honore et al., 1988; Watkins und Jane, 2006). Die Identifizierung entsprechender Agonisten diente schließlich der Namensgebung der unterschiedlichen Glutamatrezeptoren (Horne und Simmonds, 1989).

Rezeptor-Gruppen (I-III) eingeteilt (Bruno et al., 2001). Neuere Studien gehen davon aus, dass der Kainat-Rezeptor, der bislang zu den ionotropen Rezeptoren gezählt wurde, eine nachgeschaltete Signaltransduktionskaskade aktivieren kann und somit nicht eindeutig als reiner ionotroper Rezeptor betrachtet werden sollte (Lerma und Marques, 2013). Da die ursprünglich als ionotrope Glutamatrezeptoren definierte Gruppe, bestehend aus NMDA und nicht-NMDA-Rezeptoren, in der vorliegenden Arbeit eine übergeordnete Rolle spielt, wird in den folgenden Abschnitten nochmals detailliert auf diese eingegangen.

2.5.2.1. NMDA- und nicht-NMDA-Rezeptoren

2.5.2.1.1. NMDA-Rezeptoren (NMDAR)

Die NMDA-Rezeptoren (NMDARs) setzen sich aus den Untereinheiten NR1, NR2A-D und NR3A-B zusammen (Johnson et al., 2009; Nakazawa et al., 2004)²² und nehmen eine Sonderstellung unter den Glutamatrezeptoren ein: so verfügen NMDARs einerseits neben einer Durchlässigkeit für Na^+ und K^+ über eine hohe Kalzium (**Ca^{2+} -Permeabilität**) (Abbildung 8), andererseits gelangt das Ca^{2+} jedoch nur über einen spannungsabhängigen Mechanismus durch den NMDAR, da dieser, im nicht-depolarisierten Zustand durch **Magnesiumionen blockiert** wird²³.

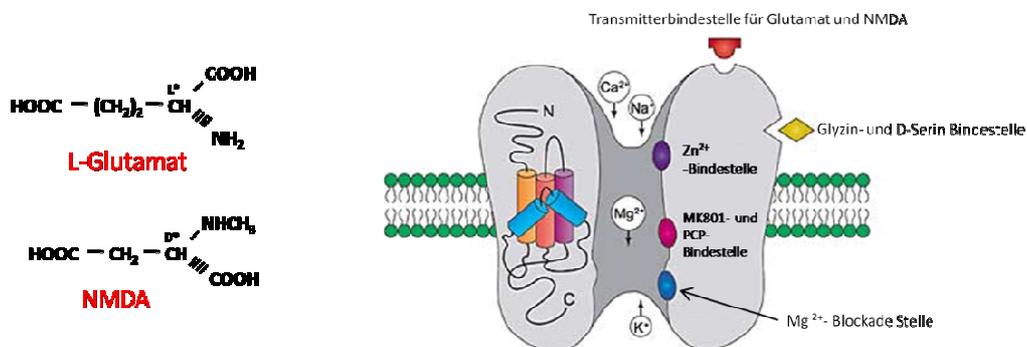


Abbildung 8 Glutamat, NMDA und schematische Darstellung des NMD-Rezeptors

Links: Darstellung der Strukturformeln von L-Glutamat und NMDA nach (Watkins und Olverman, 1987). Rechts: Darstellung eines Modells des NMDA-Rezeptors mit potentiellen Bindestellen für NMDA-Rezeptor-Agonisten, –Antagonisten und –Modulatoren, verändert aus (Smith, 2002). Abkürzungen: psychedelisches Narkosemittel Phencyclidin (PCP), Antikonvulsivum Dizocilpin (MK801).

Ein weiteres Merkmal des NMDAR ist die Glyzinbindestelle. Wird diese durch Glyzin agonisiert, wird die Wirkung des NMDAR potenziert (Johnson und Ascher, 1987). Neben Glyzin bindet auch D-Serin an der Glyzinbindestelle und vermag dadurch die Aktivität

²² Nur in Anwesenheit der NR1 Untereinheit kann es zur Bildung eines funktionellen NMDAR kommen (Nakazawa et al., 2004).

²³ Erstmals gezeigt wurde dies 1984 - (Ascher und Nowak, 2009; Coan und Collingridge, 1985; Nestler et al., 2001).

des NMDAR zu verstärken (Zito und Scheuss, 2009). Ob der Einstrom von Ca^{2+} zu der oben beschriebenen LTP oder zur Langzeitdepression (LTD)²⁴ (Cooke und Bliss, 2006; Ito, 1989) führt, hängt von dem zeitlichen Muster und der Amplitude des Kalziumeinstroms ab (Zito und Scheuss, 2009). Im Gegensatz zu den Kainat- und AMPA- Rezeptoren sind die NMDA- Rezeptoren durch eine längere Öffnungszeit charakterisiert (Block und Kosinski, 2001).

2.5.2.1.2. Kainat- und AMPA- Rezeptoren

Die funktionsfähigen **Kainat**-Rezeptoren bestehen aus einer transmembranen, tetrameren Anordnung der Rezeptoruntereinheiten GluR5-7, KA1 und KA2 (Pinheiro und Mulle, 2006)²⁵. Pharmakologisch wird der Kainat-Rezeptor sowohl von Kainat, AMPA (Abbildung 9) als auch dem Mollusken-Toxin Domoinsäure agonisiert (Kumar et al., 2009; Pinheiro und Mulle, 2006). Aufgrund der im Nervensystem ebenfalls vorkommenden AMPA- Rezeptoren, wird eine vom AMPA -Rezeptor unabhängige Untersuchung des Kainat Rezeptors erschwert.

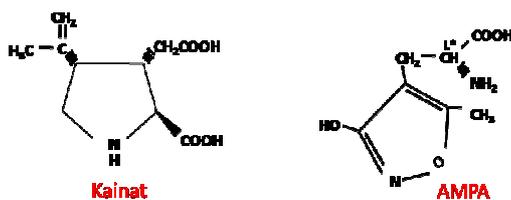


Abbildung 9 Strukturformeln von Kainat, AMPA

Darstellung nach (Watkins und Olverman, 1987)

Hierfür ist die **unspezifische Bindungsaffinität** der bisher identifizierten Agonisten verantwortlich (Pinheiro und Mulle, 2006). Ähnliche pharmakologische Probleme ergeben sich bei der Verwendung von Antagonisten. Kainat-Rezeptoren sind vor allem im Hippocampus lokalisiert (Castillo et al., 1997)²⁶. Der Glutamaterezeptor an dem α -Amino-3-Hydroxy-5-Methylisoxazol-4-Propionsäure (**AMPA**)²⁷ als Agonist wirkt, setzt sich aus verschiedenen Kombinationen von vier Untereinheiten zusammen (**GluR1-4**) (Derkach et al., 2007; Johnson et al., 2009). Eine wichtige Eigenschaft der AMPA Rezeptoren ist,

²⁴ Unter der LTD versteht man die lang anhaltende Abnahme der synaptischen Effizienz

²⁵ Dabei werden die Untereinheiten der Kainat-Rezeptoren durch zwei verschiedene Genfamilien kodiert (Johnson et al., 2009). Die Untereinheiten KA1 und KA2 sind nur in Verbindung mit den Untereinheiten, GluR5, 6 und 7 in der Lage einen funktionstüchtigen Rezeptor zu bilden, während die drei letztgenannten Rezeptor-Untereinheiten hierzu unabhängig von KA1 und KA2 in der Lage sind.

²⁶ Dort werden sie vermutlich über sekundäre Neuromodulatoren, die an ein inhibitorisches G_i/G_o-Protein gekoppelt sind, aktiviert (Cunha et al., 1999; Lourenco et al., 2011).

²⁷ AMPA wurde von Krogsgaard-Larsen und Kollegen identifiziert (Krogsgaard-Larsen et al., 1980). Das zuvor von Shinozaki und Shibuya entdeckte Quisqualat (Shinozaki und Shibuya, 1974), eine exzitatorische Aminosäure im Samen der Rangunschlinger (*Quisqualis indica* L.) ähnelt AMPA in ihrer Wirkung als Agonist am AMPA-Rezeptor. Spätere Untersuchungen haben gezeigt, dass beide Glutamaterezeptor-Agonisten trotz struktureller Unterschiede an der gleichen Rezeptorbindestelle agieren (Horne und Simmonds, 1989). Es wurde gezeigt, dass AMPA an diesem Rezeptor mit einer höheren Effizienz agonisiert (Horne und Simmonds, 1989), weshalb der zunächst als Quisqualat-Rezeptor bezeichnete Glutamat-Rezeptortyp in der späteren Literatur auch als AMPA-Rezeptor bezeichnet wurde (Dewar et al., 1990).

dass sie **ohne GluR2 Untereinheit** eine hohe **Durchlässigkeit für Kalziumionen** aufweisen. Diese Eigenschaft ist vermutlich in der frühen Phase der LTP innerhalb der CA3-CA1 Region des Hippocampus von Bedeutung, in welcher vor allem GluR2 Untereinheiten-freie AMPA Rezeptoren rekrutiert werden (Derkach et al., 2007).

2.5.2.2. Antagonisten der NMDA und AMPA/Kainat Rezeptoren und deren Rolle bei Sensitivierungsprozessen

Wie bereits erwähnt, wird insbesondere der NMDA Rezeptorantagonist Amantadin in der Parkinsontherapie eingesetzt. Aufgrund der häufig gezeigten allgemeinen **Involvierung** von **NMDA** (Danysz et al., 1988; Sanders und Fanselow, 2003) und **AMPA** (Sprengel, 2006; Wiltgen et al., 2010) Rezeptoren in verschiedenen **Lernmechanismen** (Riedel et al., 2003) und speziell bei **Kontext-abhängigen Lern-** (Sanders und Fanselow, 2003; Young et al., 1994) und **Sensitivierungsprozessen** (Ben Mamou et al., 2006; Wolf, 1998), liegt die Vermutung nahe, dass die NMDA und AMPA Rezeptoren auch eine Rolle bei der kontextabhängigen Katalepsie-Sensitivierung spielen. Die **klinische Relevanz** der **Glutamatrezeptorantagonisten** ergibt sich aus der bei ihnen vermuteten Fähigkeit, **pathologische Gedächtnisprozesse** zu **blockieren**. Gezeigt worden ist dies bei Modellen zu Angststörungen und Drogensuchtverhalten (Sadler et al., 2007; Walker und Davis, 2002). Unter natürlichen Bedingungen führen belohnende Reize innerhalb der mesolimbischen Projektion (zwischen dem VTA und dem NAcc) zu einer postsynaptischen Dopaminausschüttung, die sich im Rahmen einer Psychostimulanz-induzierten Sensitivierung hin zu einer übermäßigen Transmission verschiebt (Wolf, 2002). Vor allem bei der Induktion²⁸ dieser Sensitivierung scheinen Prozesse der synaptischen Plastizität, wie die LTP, eine Rolle zu spielen (Wolf, 2002), an denen neben Dopamin (Giordano et al., 2010) auch glutamaterge Mechanismen beteiligt sind. So wird innerhalb des VTA der Einbau von Kalzium-durchlässigen AMPA Rezeptoren, sowie eine Beteiligung des NMDA Rezeptors beobachtet (Argilli et al., 2008; Bellone und Luscher, 2005; Mameli et al., 2007; Stekete und Kalivas, 2011; Ungless et al., 2001). Untersuchungen des ebenfalls am Sensitivierungsprozess beteiligten mPFC zeigen eine

²⁸ In einem Sensitivierungs-Experiment bezeichnet man die Phase, in der eine fragliche Substanz an mehreren, aufeinanderfolgende Tage verabreicht und das sensitivierende Verhalten gemessen wird, als Induktion der Sensitivierung (Thomas et al., 2008). Die Expression der Sensitivierung wird im Tiermodell nach einer Entzugsphase gezeigt. Dabei wird den Versuchstieren eine Dosis, der in der Sensitivierungsphase verwendeten Substanz, erneut verabreicht, wodurch diese das sensitivierte Verhalten abermals zeigen (Thomas et al., 2008). Abhängig von der betrachteten Substanz, unterscheiden sich jedoch die bisher untersuchten Prozesse bezüglich beider Phasen. Hinsichtlich der hirnanatomischen Korrelate der Induktion werden vor allem das VTA die SNc und der mPFC erwähnt (Cador et al., 1999; Kalivas und Stewart, 1991; Kalivas und Weber, 1988; Stekete und Kalivas, 2011; Tzschentke und Schmidt, 2000a; Vanderschuren und Kalivas, 2000). Die Mechanismen der Expression sind vermutlich im Nucleus accumbens lokalisiert (Stekete und Kalivas, 2011; Wolf, 2002). Auch der dorsale Hippocampus scheint bei der Expression der Amphetamin-induzierten Sensitivierung involviert zu sein (Degoulet et al., 2008). Bei der Expression der Sensitivierung wird innerhalb des Nucleus accumbens ein Kalzium-Kanal, Dopamin D₁-Rezeptor-abhängig, aktiviert (Giordano et al., 2010). Ob auch Kalzium-gängige NMDA Rezeptoren bei der Expression involviert sind, ist bisher noch nicht geklärt. Es wird vermutet, dass es während des Übergangs von Induktion zu Expression zu unterschiedlichen Mechanismen kommt, die unter anderem die Langzeitpotenzierung innerhalb des Belohnungssystems modulieren.

reduzierte mGluR Gruppe II Auto-Rezeptor-Aktivität (die sonst an der LTD beteiligt ist), sowie eine reduzierte D₂-Rezeptoraktivität. Beides führt zu einer erhöhten Glutamat-Transmission zum VTA und dem NAcc und ist deswegen wohl auch an der Vermittlung einer LTP innerhalb des mPFC beteiligt (Huang et al., 2007; Steketee und Kalivas, 2011). Demnach spielt die Glutamattransmission eine wichtige Rolle innerhalb der Induktion der Psychostimulanz-induzierten Sensitivierung²⁹. Bisherige Untersuchungen zur Rolle von Glutamatrezeptoren im Rahmen der Katalepsie-Sensitivierung zeigten, dass die NMDA Rezeptorantagonisten D-CPPene, Eliprodil und Ro 25-6981 **keinen Einfluss** auf die Katalepsie-Sensitivierung bei einer Co-administration mit dem Neuroleptikum Haloperidol haben (Lanis und Schmidt, 2001). Um der Rolle von Glutamat innerhalb der Katalepsie-Sensitivierung weiter auf den Grund zu gehen, soll hier die **Wirkung einer post-test Administration von zwei Glutamatrezeptorantagonisten** untersucht werden. Innerhalb des NMDA-Rezeptors ist sowohl eine kompetitive (an der Transmitterbindestelle), als auch eine nicht-kompetitive Hemmung möglich. Der Vorteil nicht-kompetitiver Antagonisten besteht darin, dass selbst eine hohe Freisetzung von endogenen Liganden nicht in der Lage ist, eine durch Antagonisten ausgelöste Hemmung zu überwinden (Vizi et al., 1996). In der vorliegenden Arbeit wird das Antikonvulsivum **Dizocilpin**, das auch unter der Abkürzung **MK801** ([[(5R ,10S)-(+)-5-Methyl-10, 11-dihydro 5Hdibenzo[a, d]zyclohepten-5,10-imine hydrogen maleate)]) bekannt ist (Wong et al., 1986) (Abbildung 10), als **nicht-kompetitiver NMDA Rezeptor-Antagonist** verwendet. MK801 bindet am NMDA-Rezeptor innerhalb des Ionenkanals und wirkt so als Hemmer des geöffneten Ionenkanals (Chen et al., 1992; Urazaev et al., 1998). Für MK801 konnten in der Vergangenheit **antikataleptische Eigenschaften** nachgewiesen werden (Schmidt und Bubser, 1989). Dies ist zu berücksichtigen, wenn man im Versuchsparadigma der Katalepsie-Sensitivierung mit Hilfe von MK801 eine *pre-test-administration* (eine Substanzgabe vor dem Katalepsietest), beziehungsweise eine *co-administration* (eine Gabe mit der Katalepsie-induzierenden Substanz) unternimmt. Wie zuvor beschrieben, zielen die oben genannten Behandlungen darauf ab, die **Akquisitionsphase** zu beeinträchtigen. Hingegen soll die Behandlung mit einer bestimmten Substanz nach dem Katalepsietest (post-test), deren Wirkung auf die Konsolidierungsphase überprüfen. Eine Blockade der Konsolidierung erscheint erstrebenswert, da bereits in anderen Lernparadigmen (wie bei dem Sucht- und

²⁹ Dies wurde auch durch die Hemmung der Sensitivierung nach der Gabe von Glutamatrezeptorantagonisten in der VTA und durch die Läsion ihrer glutamatergen Eingänge aus dem präfrontalen Cortex bekräftigt (Vanderschuren und Kalivas, 2000; Wolf, 2002). Es sei jedoch auch erwähnt, dass für unterschiedliche Substanzen auch unterschiedliche Glutamat-vermittelte Prozesse vorliegen: Bei der Amphetamin-induzierten Sensitivierung sind vermutlich der NMDA Rezeptor (Karler et al., 1990) und der metabotrope Glutamat Rezeptor (Kenny und Markou, 2004; Kim und Vezina, 1998) beteiligt, während der AMPA-Rezeptor-Antagonist NBQX den Prozess der Sensitivierung von Kokain und Amphetamin ebenfalls moduliert, allerdings in jeweils unterschiedlicher Weise hinsichtlich der verabreichten Dosis und des Zeitpunktes der NBQX-Applikation (Behl et al., 2007; Li et al., 1997)

Angstgedächtnis) gezeigt worden ist, dass Extinktion allein nicht ausreicht, um komplexe Gedächtnisvorgänge zu blockieren (Brenhouse und Andersen, 2008; Duvarci et al., 2006; Ledoux et al., 1989; Quirk, 2002). Die Extinktion beschreibt die Bildung einer neuen Assoziation (Chhatwal et al., 2006; LaLumiere et al., 2010), wodurch die ursprüngliche Assoziation (z.B. die der Katalepsie mit dem internen und externen Kontext, der während einem Sensitivierungsprozess vorliegt) nur „überschrieben“, aber nicht „gelöscht“ wird (Dudai und Eisenberg, 2004). Amtage und Schmidt haben für die Katalepsie-Sensitivierung beschrieben, dass der konditionierte Kontext-abhängige Prozess durch **Extinktion** (Auslöschung) reversibel ist, während **eine Kontext-abhängige** sensitivierte **Komponente nicht** durch Extinktion rückgängig gemacht werden kann (Amtage und Schmidt, 2003). Dies lässt darauf schließen, dass es notwendig ist, einen anderen Mechanismus als die Extinktion anzuwenden, um die sensitivierte Komponente, die nachweislich zu einer Steigerung der Katalepsie führt, zu reduzieren.

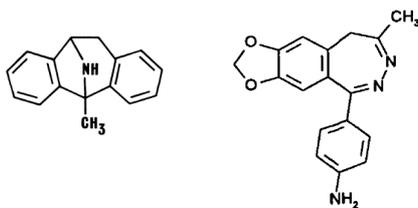


Abbildung 10 MK801 und GYKI52466

Darstellung der Strukturformel des NMDA Rezeptor-Antagonisten MK801 (links) aus (Wong et al., 1986) und Darstellung der Strukturformel des AMPA/ Kainat-Rezeptor-Antagonisten GYKI52466 (rechts) aus (Vizi et al., 1996).

Aus diesem Grund könnte die **Blockade der Entstehung** einer Langzeit-Assoziation hier einen wesentlich **effektiveren Nutzen** haben. Neben der Wirkung von MK801 wird hier auch der Einfluss der post-test Gabe von [1-(p-Aminophenyl)-4-Methyl-7,8-Methylenedioxy-5H-2,3-Benzodiazepin Hydrochlorid] (**GYKI52466**) untersucht. Bei **GYKI52466** handelt es sich um ein 2,3-Benzodiazepin, welches sowohl als Antagonist des **AMPA, als auch des Kainat-Rezeptors** wirkt (Donevan und Rogawski, 1993) (Abbildung 10). Aus diesem Grund wird **GYKI52466** in der vorliegenden Arbeit auch als **AMPA/Kainat-Rezeptor-Antagonist** bezeichnet. Aus einigen Untersuchungen geht hervor, dass GYK52466 eine **höhere Selektivität für AMPA** Rezeptoren als für Kainat-Rezeptoren besitzt (Ouardouz und Durand, 1991; Vizi et al., 1996). GYKI52466 hat eine Muskel-relaxierende Wirkung und besitzt krampflösende Eigenschaften (Vizi et al., 1996). Zwei Studien zeigen allerdings, dass sich die **Haloperidol-induzierte** Katalepsie

nicht signifikant durch GYKI52466 beeinträchtigen lässt (Hauber und Andersen, 1993; Zadow und Schmidt, 1994).

2.6. Kontextabhängigkeit

2.6.1. Bestandsaufnahme zur Kontextabhängigkeit bei Lern- und insbesondere Sensitivierungsprozessen

Bereits im frühen 20. Jahrhundert ist in einigen Studien geprüft worden, ob sich das Wissen über kontextabhängige Lernprozesse dahingehend nutzen lässt, einen **verstärkenden Effekt** bei bestimmten **Lernaufgaben** zu erwirken; ob die Assoziation mit einem gewissen Kontext also zur Verbesserung der Gedächtnisleistung beitragen kann (Morgan, 1996; Reeda, 1931; Smith und Glenberg, 1978). Seit diesen Untersuchungen ist mehrmals gezeigt worden, dass Kontextabhängigkeit bei Lernprozessen dazu führt, dass die Konfrontation mit einem Kontext, in welchem eine bestimmte „Gedächtnisspur“ zuvor gebildet wurde, diese „Spur“ reaktiviert (Hupbach et al., 2008). In der Literatur wird die Kontextabhängigkeit sowohl für deklarative als auch für prozedurale Gedächtnisformen beschrieben (Abrahamse und Verwey, 2008; Godden und Baddeley, 1975; Smeets et al., 2007; Smith und Vela, 2001). Die Kontextabhängigkeit kann auch als spezielle Form der sogenannten **Zustands-Abhängigkeit** (engl.: *state-dependency*) verstanden werden (Archer et al., 1986; Colpaert et al., 1976; Overton, 1964; Smith, 1986; Stark, 1967). Der Begriff der **state-dependency** beschreibt, dass sich ein gelerntes Verhalten schlechter abrufen lässt, wenn sich die Bedingungen oder der Zustand in dem sich das Individuum während der Konditionierung befand, beim Abruf des Gedächtnisses geändert haben, also nicht mehr vorliegen (Jarbe, 1986). Untersuchungen zur Verbesserung von Gedächtnisleistungen durch gezielte Kontextassoziation in Bildungseinrichtungen (Coveney et al., 2013; Miles und Hardman, 1998; Roschelle et al., 2000), stehen einer Reihe von Untersuchungen zur Kehrseite kontextabhängiger Lernprozesse gegenüber. So spielt die Kontextabhängigkeit bei bestimmten **pathologischen Zuständen** und Erkrankungen eine wichtige Rolle und wird im Zusammenhang mit **Angststörungen** (Bouton, 1988; Hobin et al., 2003; Rodriguez et al., 1999), **Essstörungen** (Sansa et al., 2009) und **Drogensucht** (Post et al., 1981; Steketee und Kalivas, 2011; Thewissen et al., 2005) erwähnt. Problematisch ist Kontextabhängigkeit im Rahmen dieser Entitäten insofern, als dass es nach erfolgter Therapie zu einem Rückfall in das pathologische Verhalten kommen kann (Crombag et al., 2002; Janak und Chaudhri, 2010; Meil und See, 1996). Bei der Parkinson-Erkrankung

beschränken sich bisher veröffentlichte Untersuchungen auf kontextabhängige Lernprozesse des **deklarativen Gedächtnisses** (Whiting et al., 2005), Experimente zur **Haltungs-Instabilität** (Brown et al., 2007; Doan et al., 2010), sowie eine Studie zur Kontextabhängigkeit bei **L-DOPA induzierten Nebenwirkungen** (Lane et al., 2011). Keine dieser Publikationen geht **auf die Sensitivierung der Parkinson-Symptomatik** ein. Im Gegensatz zu zahlreichen Untersuchungen zur **Kontextabhängigkeit von Drogen-induzierten Sensitivierungsmechanismen** (Anagnostaras und Robinson, 1996; Bloise et al., 2007; Bossert et al., 2004; Carey, 1986; Drew und Glick, 1988; Hinson und Poulos, 1981; Keller et al., 2002; McDougall et al., 2011; Ohmori et al., 1995; Post et al., 1981; Weiss et al., 1989) gibt es bisher nur eine verhältnismässig geringe Anzahl an Untersuchungen bezüglich der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung (Amtage und Schmidt, 2003; Klein und Schmidt, 2003; Srinivasan und Schmidt, 2004). Gezeigt werden kann die Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung sowohl im (6-OHDA)-Läsionsmodell³⁰, als auch in der durch Neuroleptika induzierten Katalepsie-Sensitivierung (Klein und Schmidt, 2003). Bisher sind bezüglich dieser Kontextabhängigkeit immer noch einige Fragen ungeklärt. Betrachtet man den Kontext der bei der Katalepsie-Sensitivierung offensichtlich mit dem verstärkten Verharren in einer ungewöhnten Körperhaltung assoziiert wird, stellt sich zunächst die Frage, welche Komponenten dieses Kontextes bei der **Assoziation** relevant sind. Der Kontext lässt sich sowohl in **externe** als auch in **interne Komponenten bzw. Hinweisreize untergliedern** (Bower, 1972; Moron et al., 2002). Untersuchungen hinsichtlich der Aufgliederung externer Kontext-Komponenten werden in der vorliegenden Arbeit im Projekt IIa1 durchgeführt. Bezüglich der möglichen Rolle des Neuigkeitswertes eines externen Kontextes wird im Projekt IIa3 ein Versuch zum sogenannten *Novelty-Effekt* durchgeführt. Neben dieser Betrachtung qualitativer Unterschiede der Kontextkomponenten wird in der vorliegenden Arbeit auch auf die Rolle der quantitativen Darbietung des gesamten Kontextes hinsichtlich der Assoziationsstärke eingegangen (Untersuchungen hierzu erfolgen vor allem im Projekt IIa2). Schließlich werden (in den Projekten IIb1 und IIb2) Fragen bearbeitet, welche Gehirnareale bei der Assoziation zwischen dem Kontext und kataleptischen Verhalten involviert sind, beziehungsweise ob weiterführende Aussagen, was die Beteiligung des

³⁰ Das geschieht unabhängig davon ob den Tieren eine niedrige 6-OHDA-Dosis (von 2µg), oder eine hohe 6-OHDA-Dosis (von 6µg) in das mediale Vorderhirnbündel verabreicht wurde (Srinivasan und Schmidt, 2004). Dies sei an dieser Stelle erwähnt, da in der Literatur zwischen dem Phänomen der Sensitivierung und der Toleranz unterschieden wird. Bei der Toleranz, zeigt sich im Gegensatz zur Sensitivierung ein vermindertes Verhalten bei gleichbleibender Substanzgabe (Hyman und Malenka, 2001; Hyman et al., 2006). Laut Literatur hängt es unter anderem vom Verabreichungsmuster der entsprechenden Substanz ab, ob sich entweder eine Toleranz oder eine Sensitivierung bestimmter Verhaltensweisen entwickelt (Hyman und Malenka, 2001; Muller und Seaman, 1979). Auch bei der Haloperidol-induzierten Katalepsie-Sensitivierung wurden beide Lernprozesse beschrieben (Barnes et al., 1990). Es hat sich jedoch gezeigt, dass sich eine Toleranz bei täglicher Haloperidolgabe seltener entwickelt, als eine Sensitivierung (gezeigt wurde dies in einer Dosisstudie von 0.05-5mg/kg) (Barnes et al., 1990).

Neurotransmitters Serotonin angeht, getroffen werden können. Zur Einführung in diese Fragestellungen bezüglich Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung, wird im Folgenden die differenzierte Betrachtung des internen und externen Kontextes dargestellt. Abschließend werden anatomische Korrelate, die in der Literatur im Zusammenhang mit kontextabhängigen Lernprozessen erwähnt und hier untersucht werden, vorgestellt.

2.6.2. Komponenten des Kontextes

2.6.2.1. externer Kontext und Exterozeption

Unter dem externen Kontext versteht man die für ein Tier **mit seinen Sinnen wahrnehmbare Umgebung**, in der es sich befindet. Zur Reizaufnahme des externen Kontextes werden auditorische-, olfaktorische-, gustatorische-, visuelle-, taktile, thermo-, mechano- und noxo- Rezeptoren verwendet. Die bewusste Wahrnehmung der Umgebungseigenschaften erfolgt schließlich durch das **somatosensorische System** (Craig, 2003). Die Wahrnehmung von Reizen aus der Umwelt dient neben der Orientierung eines Organismus im Raum auch der Ortung von Fressfeinden, Nahrungsquellen und Geschlechtspartnern. Je nachdem an welchen Parametern sich ein Individuum bei der Exterozeption orientiert, unterscheidet man zwischen **egozentrischer** und **allozentrischer** Wahrnehmung (Burgess, 2006)³¹.

2.6.2.2. interner Kontext und Interozeption

Der interne Kontext beschreibt den inneren Zustand, der durch die **Interozeption**³² innerhalb des eigenen Organismus wahrgenommen wird. Sie dient der **Aufrechterhaltung der Homöostase** durch die Wahrnehmung der Herz-Kreislauf-Aktivität, der Atmung, des Energie- (Glukosespiegel) und des Flüssigkeitshaushalts (Elektrolyte und Wasserhaushalt) (Craig, 2003). Bei einigen Säugern sind zudem die Repräsentation komplexer **subjektiver Empfindungen** (wie Furcht³³, Angst³⁴, Stress³⁵,

³¹ Unter egozentrischer Orientierung versteht man im Allgemeinen, dass sich ein Individuum bei dieser hauptsächlich auf die eigene Perspektive bezieht (z.B. links oder rechts vom eigenen Körper). Die allozentrischen Orientierung erfolgt anhand von Bezugspunkten innerhalb der Umgebung (z.B. neben einem bestimmten Gegenstand) (Klatzky, 1998).

³² Vaitl (Vaitl, 1996) unterschied zwei verschiedene Formen der Interozeption; die Propriozeption (durch die der Organismus Informationen aus Haut und dem Muskel-Skelett-Apparat erhält), sowie die Viscerozeption (bei der Informationen aus den inneren Organen vermittelt werden). In einer späteren Veröffentlichung wurde die Propriozeption jedoch dem exterozeptiven System zugeordnet (Craig, 2003).

³³ Die **Furcht** beschreibt die Antwort eines Individuums auf eine für dieses als gefahrenvoll wahrgenommene Situation, mit dem Ziel, sich vor genau dieser zu schützen (Rau et al., 2005). Zudem hilft ihm die Furcht vorausschauend durch erlernte Hinweisreize, eine nahende Gefahrensituation zu erfassen und sich an eine Situation anzupassen um einer zukünftigen Gefahr aus dem Weg zu gehen (Panzer et al., 2007).

³⁴ Der Begriff der **Angst** umschreibt im Gegensatz zur Furcht, das anhaltende Gefühl von Befürchtungen ohne dass eine direkte Bedrohung folgt (Panzer et al., 2007).

³⁵ Eine psychologische Definition von **Stress** wurde durch Lazarus 1966 beschrieben und besagt, dass Stress sich dann ereignet, wenn ein Individuum wahrnimmt, dass die externen Anforderungen die an dieses gestellt werden, die von ihm vermuteten Fähigkeiten übersteigen, die ihm zur Verfügung

Freude) und Zustände z.B. Arousal (allgemeiner „Erregungszustand“ eines Tieres, als Maß der Aufmerksamkeit und Wachheit) und Selbstwahrnehmung (insbesondere beim Menschen) in der interozeptiven Wahrnehmung verankert (Craig, 2002; Durlík et al., 2014). Die **interozeptive Wahrnehmung** ist wie auch die Exterozeption überlebenswichtig. So werden Informationen über mögliche Gefahren von **Thalamus** und **Kortex** über neuronale Bahnen an die Amygdalae geleitet (Charney, 2003; Davis, 1997; Panzer et al., 2007). Die mit der Empfindung von **Furcht** in Zusammenhang gebrachte Disinhibition der medial-zentralen (CeM), sowie die Stimulation des Bed Nucleus der Stria Terminalis, die mit dem Gefühl der **Angst** in Verbindung gebracht wird (Charney, 2003; Panzer et al., 2007), führen schließlich (über die Ausschüttung des Corticotropin-releasing Hormone (CRH) durch den paraventriculären Kern des Hypothalamus (Charney, 2003; LeDoux, 2003; Panzer et al., 2007)) zur Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (*engl.: hypothalamus- pituitary- adrenal gland (HPA)*) was unter anderem zu der Freisetzung von Kortisol führt³⁶. Aus physiologischer Sichtweise besteht ein Zusammenhang, zwischen Angst-, Furcht- und **Stress**-Reaktionen, da auch letztere mit der Aktivierung der **HPA-Achse** in Verbindung gebracht werden (Kühnel und Markowitsch, 2009; Sandi, 2004; Selye, 1936; Ströhle, 2003; Tache und Brunnhuber, 2008; Ulrich-Lai und Herman, 2009). Daneben wird die Involvierung des **Sympathikus-Nebennieren-Systems** im Zusammenhang mit Stressreaktionen erwähnt, welches auf Stress mit der Freisetzung von **Adrenalin** aus dem Nebennierenmark und **Noradrenalin** aus dem postganglionären Neuron des Sympathikus reagiert (Cannon, 1932; Kühnel und Markowitsch, 2009; Ströhle, 2003; Ulrich-Lai und Herman, 2009). Durch Freisetzung von Adrenalin und Noradrenalin kommt es zur schnell einsetzenden „Kampf - oder Flucht Reaktion“ (Kappeler, 2005; Silverthorn, 2009) (*engl.: fight or flight reaction*)³⁷. Diese **fight or flight** Reaktion ist eine von zwei möglichen defensiven Verhaltensweisen, die in Antwort auf einen stressbesetzten Reiz erfolgen kann (Crawford und Masterson, 1982; Miki und Yoshimoto, 2010). Sie wird von Miki und Yoshimoto neben dem erstarrenden (*engl.: freezing*) Verhalten erwähnt, welches im Gegensatz zu

stehen, um die Anforderungen zu bewältigen (Avey et al., 2009; Lazarus, 1966). Bereits durch diese Definition wird augenscheinlich, dass sich ein Individuum, neben **nicht gefährlichen** Anforderungen, auch bei solchen **Anforderungen** „gestresst fühlen“ mag, die mit dem oben beschriebenen Gefühl der **Furcht oder der Angst gekoppelt** sind.

³⁶ Das CRH aus dem Hypothalamus bewirkt die Freisetzung des Adrenokortikotropen Hormons (*engl.: adrenocorticotrophic hormon (ACTH)*) aus der anterioren Hypophyse (Charney, 2003; Panzer et al., 2007), welches wiederum die Nebenniere zur Freisetzung des Kortisols anregt (Korte, 2001; Panzer et al., 2007). Interessant für die **Katalepsie-Sensitivierung** ist in diesem Zusammenhang, dass **Gedächtnisprozesse durch Kortisol** beeinträchtigt werden können (Pritzel et al., 2003; Silverthorn, 2009). Die Rückwirkung des Kortisols auf die CeM und den BNST gilt als positive Feedbackschleife, da durch sie eine weitere Freisetzung des Kortisols induziert wird (Panzer et al., 2007). Gehemmt wird die Kortisolfreisetzung hingegen durch die Wirkung des Kortisols selbst, innerhalb zweier negativer Feedbackschleifen; zum einen auf den paraventriculären Kern des Hypothalamus und zum anderen auf den Hippocampus, der schließlich die Freisetzung von ACTH aus der Hypophyse drosselt (Panzer et al., 2007; Schulkin et al., 2005). Die Hauptwirkung des Kortisols besteht jedoch in der Vermeidung einer Unterzuckerung (Hypoglykämie) eines Organismus. Diesbezüglich unterstützt es die Freisetzung von Glucose aus der Leber, verstärkt die Lipolyse zur Bereitstellung von Glycerin und bewirkt, dass die für die Gluconeogenese nötigen Proteine aus der Skelettmuskulatur verfügbar sind (Silverthorn, 2009).

³⁷ Dieses ist unter anderem durch eine erhöhte Herzfrequenz (durch Wirkung der Transmitter an Beta-1- adrenergen Rezeptoren der autorhythmischen Zellen) und gesteigerte Kontraktionskraft des Herzens (positiv inotroper Effekt) (Silverthorn, 2009), der Dilatation (durch die Wirkung an Beta-2 adrenergen Rezeptoren) und Kontraktion von Gefäßen (durch Alpha -1 Rezeptoren), sowie der Hemmung der Magen-Darm-Motilität (ebenfalls über Alpha -1 Rezeptoren) gekennzeichnet (Silbernagl und Despopoulos, 2003)

der *fight or flight* Reaktion dann erfolgt, wenn ein Tier keine genaueren Informationen oder vorangehende Erfahrungen mit einem bestimmten stressbehafteten Reizerlebnis hat (Miki und Yoshimoto, 2010). Im Vergleich zu den physiologischen Reaktionen die während des *fight or flight* Verhaltens vor allem zu einer gesamten Aktivitätssteigerung der Tiere beitragen, scheint das *freezing* Verhalten mit einer verminderten Herzrate (Bradykardie) (Miki und Yoshimoto, 2010; Schadt und Hasser, 1998), erhöhter Aktivität der renalen sympathischen Nerven, sowie einer unveränderten Aktivität der lumbalen sympathischen Nerven, einher zu gehen (Miki und Yoshimoto, 2010). Somit unterscheiden sich beide mögliche Verhaltensreaktionen auf Stress auch auf physiologischer Ebene. Für die kontextabhängige Katalepsie-Sensitivierung ist in diesem Zusammenhang wichtig, dass es durch Angst, Furcht und Stressreaktionen zu Prozessen kommen kann, welche Lernprozesse im Allgemeinen (Silverthorn, 2009) und die Konsolidierung im Speziellen beeinflussen könnten (Diamond et al., 2006; Maroun und Akirav, 2008; Roozendaal, 2003). Die Aufmerksamkeit, Wachheit, sowie der allgemeine Erregungszustand eines Versuchstiers wird mit dem Begriff **Arousal** umschrieben; es handelt sich dabei um einen regulierbaren Zustand (Robbins, 1997)³⁸. Erhöhtes Arousal kann durch unterschiedliche Substanzen und Umgebungszustände bewirkt werden. Bei Kontextwechsel eines Experiments zur kontextabhängigen Katalepsie-Sensitivierung könnten Stress und Furcht oder Angst zu einem erhöhten Arousal und somit einer erhöhten Motorik führen. Die interozeptive Wahrnehmung kann jedoch auch durch einen externen neuen Kontext moduliert werden, der eine Veränderung von nicht-anxiogenen Komponenten beinhaltet – es kommt zum sogenannten **Novelty-Effekt** der insbesondere durch die aktive Erkundung einer neuen Umgebung charakterisiert wird (King und Williams, 2009). Somit ist auch ein Novelty-Effekt im Rahmen des früheren Abstieges aus der Katalepsie-Apparatur bei der Darbietung eines neuen Kontextes denkbar. Für die Ausprägungsstärke einer Novelty-induzierten Mobilitätssteigerung gibt es bei *Rodentia* Unterschiede die sowohl von dem Alter der Tiere abhängen (Stansfield und Kirstein, 2006), als auch davon, ob es sich um eine bestimmte Zuchtlinie oder einen Wildtyp handelt (Oosthuizen et al., 2013). Ein Novelty-induziertes Explorationsverhalten wird insbesondere bei Tieren beobachtet, die bei Verhaltensmessungen zur Angst und depressivem Verhalten eine geringere Ausprägung zeigen und eine höhere Resilienz gegenüber negativer Auswirkung

³⁸ Die Erhöhung des Arousal wird unter anderem durch den **Locus ceruleus**, einer lateralen Teil-Region der retikulären Formation, vermittelt. Zudem scheint der **mediale Anteil der retikulären Formation** ebenfalls zur Steigerung der Aufmerksamkeit beizutragen. An einer Dämpfung der Aufmerksamkeit scheinen hingegen die **Raphé-Kerne** beteiligt zu sein (Roth, 1999; Steriade, 1996). Die **bewusste Aufmerksamkeitssteigerung** wird erst durch die aufsteigende Projektion der genannten Regionen der retikulären Formation über den Thalamus in den **Kortex** erreicht (Steriade, 1996). Dabei spielt **Noradrenalin** eine wichtige Rolle (Okamura et al., 2011). Zudem scheinen das Hypocretin und Orexin, so wie das Neuropeptid S eine Bedeutung bei der Arousal-Regulation einzunehmen (Reinscheid et al., 2005).

postnataler Trennung vom Muttertier hatten (Clinton et al., 2014). Mit der Gewöhnung bzw. Habituation an eine Umgebung sinkt der Novelty-Effekt (Giovannini et al., 2001). Die in diesem Kapitel erläuterten Begriffe sind durch reine Verhaltensmessungen nicht eindeutig voneinander abzugrenzen, sie gehen teilweise ineinander über. So kann ein neuer, biologisch nicht-relevanter (bzgl. Fressfeinde, Nahrungssuche und Fortpflanzung) Kontext bei Tieren Furcht-, Stressreaktionen und ein erhöhtes Arousal auslösen (Giovannini et al., 2001). Arousal kann auch unabhängig vom Novelty-Effekt auftreten³⁹. Interessant ist deshalb der Aspekt, dass neben den oben erwähnten physiologischen Veränderungen die mit Angst, Furcht und Stress einhergehen, auch der Novelty-Effekt auf physiologischer Ebene durch eine Veränderung der Neurotransmission charakterisiert wird. Der Novelty-Effekt wird neben einem Anstieg von Acetylcholin in Kortex und Hippocampus (Giovannini et al., 2001; Inglis und Fibiger, 1995) auch mit einer Erhöhung der Dopaminmenge im Nucleus Accumbens in Verbindung gebracht (Legault und Wise, 2001).

2.6.3. Lokalisation Kontext-abhängiger Lernprozesse

Die wichtigsten und nachfolgend beschriebenen Strukturen, die mit Kontext-Lernen in Verbindung gebracht werden sind zum einen der dem sechsschichtigen Isokortex zugehörige **präfrontale Kortex** (Fogelson et al., 2009; Lissek und Gunturkun, 2005), zum anderen die dem Allokokortex zugehörigen Strukturen **Hippocampus** (Matus-Amat et al., 2004; Rainecki et al., 2010; Smith und Mizumori, 2006a) und die **Amygdalae** (Calandreau et al., 2005; Hobin et al., 2003; Laurent et al., 2008).

2.6.3.1. Präfrontaler Kortex

2.6.3.1.1. Anatomie

Der präfrontale Kortex (engl.: *prefrontal cortex* (PFC)) von Primaten lässt sich anatomisch von sonstigen Kortexregionen abgrenzen, da er **Afferenzen** aus dem mediodorsalen Kern des Thalamus erhält. Er wird in eine **dorsolaterale, mediale** und **orbitale Region** untergliedert (Fuster, 1997; Uylings et al., 2003). Entgegen der klassischen Ansicht (Brodman, 1909; Ongur und Price, 2000), nach welcher Nager nicht über einen mit dem der Primaten vergleichbaren PFC verfügen, ist im Lauf der letzten zwei Jahrhunderte ein zum PFC der Primaten äquivalenter Bereich innerhalb des Ratten-

³⁹ Diese Form von Arousal wurde z.B. durch eine zentrale Injektion des Neuropeptid S initiiert (Reinscheid et al., 2005).

Gehirns identifiziert worden (Uylings et al., 2003)⁴⁰. Eine aus der anatomischen Forschung hervorgegangene Nomenklatur hat zunächst drei unterschiedliche Gebiete im Ratten-Gehirn, welche dem PFC zuzuordnen sind, beschrieben; den **cingulären (Cg) Kortex**, den **agranulären insulären (AI) Kortex** sowie den **orbitofrontalen Kortex (OF)** (Paxinos, 1994). Während es nachträglich noch Änderungen an der Nomenklatur des cingulären Kortex gab, wurde der agranulär insuläre Kortex in eine dorsale, ventrale und posteriore Region unterteilt; der orbitofrontale in eine ventrale, ventrolaterale und laterale Region (Ongur und Price, 2000; Paxinos, 1994).

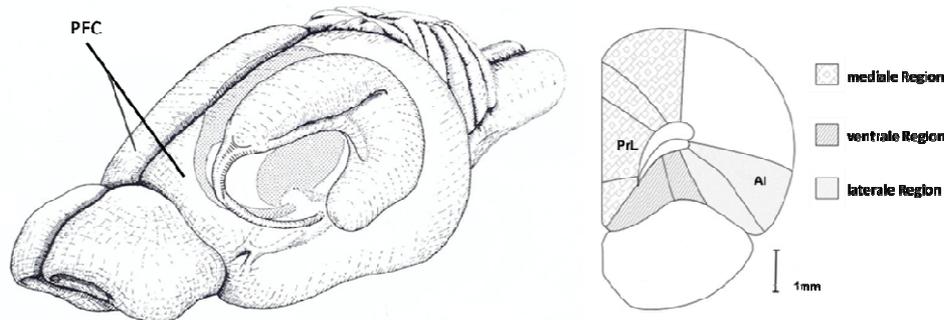


Abbildung 11 der präfrontale Kortex

schematische Darstellung Lokalisation des präfrontalen Kortex (PFC) im Rattengehirn (links) und eines unilateralen, coronaren Gehirnschnittes einer Ratte (verändert nach (Cheung und Cardinal, 2005; Dalley et al., 2004). Der PFC ist in dieser Darstellung in eine mediale, ventrale und laterale Region untergliedert. Der in der vorliegenden Arbeit untersuchte prälimbische (PrL-) PFC befindet sich in der medialen Region und der agranulär insuläre (AI-) Anteil in der lateralen Region.

Die ursprüngliche Bezeichnung des cingulären Kortex, der die ventrale cinguläre Region (Cg1), die anteriore cinguläre Region (Cg2) und die prälimbische Region (Cg3) umfasst, wird in späteren Publikationen durch die Beschreibung des **medialen PFC** ersetzt. Dieser umfasst neben den ursprünglichen Regionen Cg1, Cg2 und Cg3 noch den infralimbischen Kortex und die mediale präzentrale Region (zuvor als frontale Region 1, Fr1 bezeichnet) (Ongur und Price, 2000). Eine weitere Nomenklatur ist in Anlehnung an die Lokalisation der einzelnen Unterregionen entstanden (**Abbildung 11**); sie umfasst die **mediale Region** (welche weitestgehend dem zuvor beschriebenen medialen PFC entspricht und auch den medialen orbitalen Kortex einschliesst), die **ventrale Region** (die weitestgehend der zuvor dargestellten Einteilung des orbitofrontalen Kortex, exklusive des medial orbitalen und des lateral orbitalen Anteils entspricht) und die **laterale Region** (die neben dem lateralen Anteil des orbitofrontalen Kortex vor allem die

⁴⁰ Rose und Woolsey schenken bei Ihren anatomischen Experimenten zur Kategorisierung eines zum PFC korrelierenden Bereichs vor allem dem orbito-frontalen-Kortex Beachtung und konzentrierten sich in ihren Untersuchungen an *Leporidae* (Hasen) besonders auf jene Kortex-Regionen, die mit dem mediodorsalen Thalamus in neuronaler Verbindung stehen (Ongur und Price, 2000; Rose und Woolsey, 1948; Uylings et al., 2003). Später wurde der PFC aufgrund zusätzlicher Kriterien bei *Rodentia* definiert. Nach Uylings et al 2003, handelt es sich dabei um folgende Kriterien: das Muster von spezifischen Verbindungen und die Dichte dieser Verbindungen, funktionelle (z.B. elektrophysiologische) Eigenschaften, Präsenz und Verteilung von neuroaktiven Substanzen, bzw. Neurotransmittern und die embryonale Entwicklung (Uylings et al., 2003).

Regionen des bisher beschriebenen agranulär insulären Kortex umfasst) des PFC (nach Dalley et al., 2004).

2.6.3.1.2. Kontext und PFC

Über den PFC werden externe Umwelt-Informationen (externer Kontext) und interne Zustände (interner Kontext) eines Organismus vermittelt, um in einem gegebenen Kontext ein adäquates Verhalten zu induzieren (Lissek und Gunturkun, 2005). Menschen mit einer **PFC Läsion** haben demnach **Schwierigkeiten bei Kontext-bezogenen** Aufgaben (Fogelson et al., 2009). Bemerkenswert ist zudem eine Studie, deren Ergebnisse auf einen **modulatorischen Einfluss** des PFC auf später beschriebene, hippocampale **Platzzellen** schließen lassen (Kyd und Bilkey, 2003). In der vorliegenden Arbeit wird der **agranulär insuläre** sowie der **prälimbische** PFC untersucht. Es liegen bereits Publikationen vor, welche vor allem diesen PFC-Regionen eine Rolle bei **kontextabhängigen Prozessen** zusprechen: so zeigen Ratten deren **medialer PFC** (dem der prälimbische Kortex zugeordnet wird) lädiert war, Einschränkungen bei assoziativen Lernprozessen, dem sogenannten Reversal Lern-Paradigma⁴¹ (Lumpp, 2006; McDonald et al., 2007). Ein gesundes Tier lernt eine veränderte Strategie in einem neuen Kontext besser als in dem Kontext, in welchem zuvor eine ursprüngliche Strategie erlernt wurde. Dies geht vermutlich auf das Phänomen der **latenten Inhibition**⁴² zurück (Cole et al., 1996; McDonald et al., 2007). Auch scheint dieser Effekt durch die **Läsion des medialen PFC** bei Ratten **abgeschwächt** zu sein (McDonald et al., 2007). Zudem ist die Funktion des prälimbischen PFC im Kontext-abhängigen Angstlernen involviert (Kim et al., 2013). In einer weiteren Studie wird gezeigt, dass sich sowohl Läsionen im prälimbischen Kortex, als auch Läsionen im dorsalen agranulären Kortex bei Ratten auf die **Hinweisreizbedingte** Kokain Selbstverabreichung auswirkt (Di Pietro et al., 2006)⁴³. Der agranulär insuläre Kortex scheint zudem bei der Naloxon-induzierten konditionierten Platzaversion⁴⁴, nicht jedoch bei der Morphin-induzierten konditionierten Platzpräferenz eine Rolle zu spielen (Li et al., 2013).

⁴¹ Bei dem Reversal Lern-Paradigma beim Menschen wird zunächst in einer ersten Lernphase eine von zwei alternativen Strategien belohnt. Nach dieser Lernphase kehrt sich die Zuordnung der Belohnung, ohne das Wissen des Probanden, auf die andere Strategie um (nach (Lumpp, 2006).

⁴² Die latente Inhibition beschreibt die Blockade des Erlernens einer neuen Aufgabe, in einem Kontext, indem zuvor bereits eine andere Aufgabe gelernt wurde (nach (Cole et al., 1996).

⁴³ Dabei beeinträchtigte die Läsion im prälimbischen Kortex eher die Aufrechterhaltung der Konditionierung auf Licht-Geräusch bedingten Hinweisreize, während Läsionen des dorsal agranulären Kortex eher die Aufrechterhaltung der Konditionierung auf Licht-Geruchs bezogene Hinweisreize stört (Di Pietro et al., 2006).

⁴⁴ Wenn im Rahmen eines Platzkonditionierungs-Experimentes Versuchstiere lernen, einen Raum mit einer wirksamen Substanz zu assoziieren und einen anderen mit der wirkungslosen Träger-Substanz, so ergibt sich eine konditionierte Platzaversion, wenn die Tiere nach der Konditionierungsphase den mit der wirksamen Substanz assoziierten Raum vermeiden (Prus et al., 2009).

2.6.3.2. Hippocampus

2.6.3.2.1. Lage und Anatomie

Die hippocampale Formation bei Ratten erstreckt sich „C-förmig“ vom septalen Nucleus des basalen Vorderhirns rostradorsal über und hinter das Diencephalon und caudoventral bis zum Beginn des Temporallobus (Paxinos, 1994) (Abbildung 12). Hingegen liegt der humane Hippocampus aufgrund der **Hemisphären-Rotation**, die innerhalb der embryogenetischen Entwicklung stattfindet, im Temporallappen (Trepel, 2008).

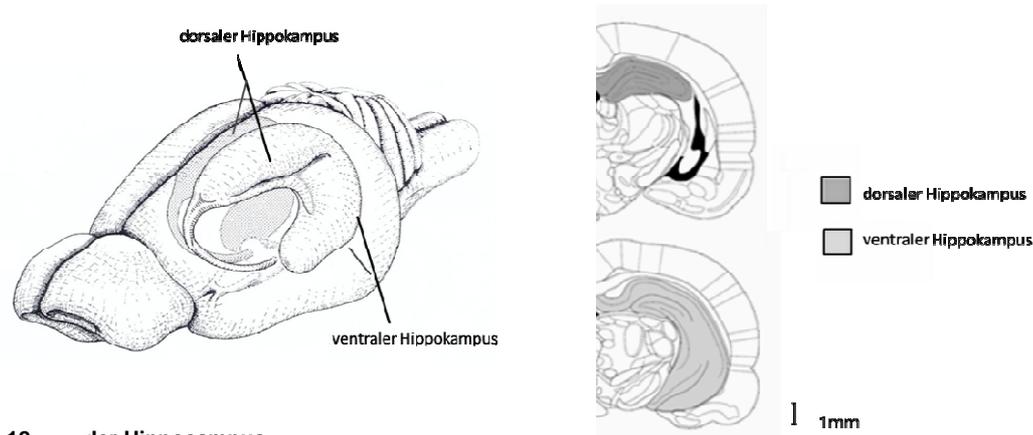


Abbildung 12 der Hippocampus

Schematische Darstellung der Lage des Hippocampus im Ratten-Gehirn (links) und coronare, unilaterale Schnitte durch den linken Teil des Hippocampus (verändert nach (Amaral und Witter, 1995; Cheung und Cardinal, 2005; Paxinos und Watson, 1997) und Paxinos

Trotz unterschiedlicher Lage im Gehirn, lässt sich der **Hippocampus** (auch Hippocampus proper), **zusammengesetzt** aus den **Ammonshorn-Feldern** (*engl.: cornu ammonis* (CA) **CA1**, **CA2** und **CA3**) sowohl beim Menschen, nicht-humanen Primaten, als auch bei Ratten mit anderen Strukturen in die sogenannte **Hippocampusformation eingliedern** (Nakazawa et al., 2004; Paxinos, 1994). Zur Hippocampusformation zählen außerdem der **Gyrus dentatus** (*engl.: dentate gyrus* (DG)), das **Subiculum**, das **Prä-** und **Parasubiculum** sowie der **entorhinale Kortex** (EC) (Paxinos, 1994). Der neuronale Eingang in die Hippocampusformation verläuft über Sternzellen, die von der zweiten kortikalen Schicht des EC ausgehen und zu den granulären Zellen des DG projizieren, der **perforanten Bahn** (*engl.: perforant pathway*) (Nakazawa et al., 2004; Paxinos, 1994). Der dreischichtige DG⁴⁵ innerviert die pyramidalen CA3 Zellen ausgehend von seiner granulären Zellschicht, bei dieser Projektion handelt es sich um die hippocampalen **Moosfasern** (Paxinos, 1994). Die sogenannten **Schaffer-Kollateralen** führen schließlich von den pyramidalen **CA3** zu den pyramidalen **CA1** Zellen. Letztere

⁴⁵ Bestehend aus einer molekularen, granulären und polymorphen Zellschicht (Paxinos, 1994).

projizieren schließlich zum **Subiculum** und gemeinsam mit Projektionen aus diesem in tiefere Schichten (III, IV und V) des **EC**. Der EC erhält zudem Projektionen aus dem Prä- und Parasubiculum (Nakazawa et al., 2004; Paxinos, 1994). Der **CA2** Region des Hippocampus wird in der Literatur weniger Beachtung geschenkt, was damit zusammenhängen könnte, dass sich in dieser, zwischen der CA1- und CA3- liegende Region, keine LTP induzieren lässt (Zhao et al., 2007).

2.6.3.2.2. Hippocampus und Kontextlernen

Der Rolle des Hippocampus bei Lernprozessen ist in der Literatur seit Beschreibung des Falles H.M.⁴⁶ große Beachtung geschenkt worden (King et al., 2004; Russell et al., 2006; Scoville und Milner, 1957, 2000). Der Hippocampus liefert einen großen Beitrag bei der Bildung des deklarativen und laut Tulving insbesondere des **episodischen** (Tulving und Markowitsch, 1998) Gedächtnisses (auch erwähnt in (Izquierdo et al., 2006). Während Wood und Kollegen bei Ableitungen von hippocampalen Neuronen zu dem Schluss kamen, dass diese **verschiedene Typen** des episodischen Gedächtnisses kodieren (Wood et al., 2000), führten ähnliche Untersuchungen von Hölscher und Kollegen zu der Annahme, dass die bei Ihren Einzelzelleitungen gezeigten Zellen, eher für die **Assoziation zwischen ego- und allozentrischer räumlicher Information** kodieren, statt für das episodische Gedächtnis (Holscher et al., 2004). Eine Sonderform des deklarativen Gedächtnisses ist laut Nakazawa und Kollegen das **räumliche Lernen**, bei dem sich die Erinnerung an einen bestimmten Ort bzw. der Zuordnung eines Objektes an einen bestimmten Ort manifestiert (Nakazawa et al., 2004). Smith und Mizumori gehen eher von einer Kodierung des **generellen Kontextes** durch den Hippocampus aus (Smith und Mizumori, 2006a). Dass der Hippocampus am räumlichen Lernen beteiligt ist, lassen bereits frühe Studien vermuten. Sie zeigen, dass einige **hippocampale Neurone** besonders dann **aktiv** sind, wenn Versuchstiere ihre **Umwelt erkunden** (O'Keefe und Dostrovsky, 1971). Eine zytologische Studie von Fox und Ranck (Fox und Ranck, 1975) ist bei der Identifikation der in Frage kommenden Zellen, später als „**Platzzellen**“ bezeichnet, von Bedeutung. Darin ist gezeigt worden, dass derartige „Platzzellen“, in Form **simultan aktiver Zellpopulationen** den Aufenthaltsort eines Tieres an einer bestimmten Stelle im Raum angeben (Eichenbaum, 1993; Wilson und McNaughton, 1993) und dann „verstummen“ wenn diese Stelle verlassen wird (Nakazawa et al.,

⁴⁶ Ein 1957 von Scoville und Milner beschriebener Patientenfall, bei dem die bilaterale Resektion des Hippocampus zum Verlust des Kurzzeitgedächtnisses führte (King et al., 2004; Russell et al., 2006; Schmolck et al., 2002; Scoville und Milner, 1957, 2000) .

2004)⁴⁷. Penner und Mizumori fassen in Ihrer Publikation Untersuchungen zusammen, bei denen hippocampalen Platzzellen auf visuelle, auditorische, olfaktorische und somatosensorische Hinweisreize hin aktiviert werden (Penner und Mizumori, 2012). Zudem erwähnen sie eine vorhergehende Arbeit von Smith und Mizumori, welche zeigte, dass hippocampale Platzzellen auch sensitiv bei Veränderungen innerhalb von Belohnungsaufgaben reagieren, die in zwei unterschiedlichen Kontexten durchgeführt werden (Smith und Mizumori, 2006b). Bei der „räumlichen Version“ des Morris Water Maze⁴⁸ und anderen räumlichen Versuchsparadigmen konnte eine Beteiligung des Hippocampus gezeigt werden (Mumby et al., 2002; Nakazawa et al., 2004; Oler et al., 2008; Smith und Mizumori, 2006a). Da bestimmte Komponenten in der Umgebung eines Versuchsaufbaus den **externen Kontext** repräsentieren und hippocampalen Platzzellen die Funktion zugeschrieben wird genau diese Komponenten durch verschiedene Feuermuster zu entkodieren, war es naheliegend, die Involvierung des Hippocampus bei kontextabhängigen Lernaufgaben zu überprüfen. So wird gezeigt, dass der Hippocampus bei der **Assoziation** eines generellen externen **Kontextes** (bei der Ratte beispielsweise ihr Haltungskäfig oder die räumliche Umgebung) mit einer **Substanz** im Rahmen des Suchtverhaltens eine Rolle zu spielen scheint (Wolf, 2002). Weitere Untersuchungsergebnisse zeigen den Zusammenhang zwischen einem funktionellen Hippocampus und kontextuellem Angstlernen (Anagnostaras et al., 1999; Maren et al., 1997; Maren und Hobin, 2007). In der vorliegenden Arbeit werden der **dorsale** und der **ventrale Hippocampus** auf ihre Beteiligung bei der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung untersucht, da deren Beteiligung an Navigations- und Lernprozessen auch bereits anderweitig beschrieben wird (Howland et al., 2008; Zhang et al., 2004).

2.6.3.3. Amygdalae

2.6.3.3.1. Lage und Anatomie

Die Amygdalae liegen innerhalb des medialen Temporallappens und grenzen ventrolateral an das Striatum an (Roth und Dicke, 2006; Sah et al., 2003). Ein heute als basolateraler Kern angesehener Komplex der Amygdala wurde erstmals durch Burdach im 19. Jahrhundert beschrieben ((Burdach, 1819-1822) aus (Pabba, 2013) und (Patrick,

⁴⁷ Eine Chance diese Platzzellen noch genauer zu untersuchen bieten neuere bildgebende Verfahren während einer virtuellen Navigation im Rattenmodell (Dombeck et al., 2010).

⁴⁸ Innerhalb dieses Versuchsparadigmas orientieren sich Ratten in einem kreisförmigen, mit Wasser gefüllten Beckens anhand von Wandmarkierungen im Versuchsraum, um eine im Wasser versteckte Plattform zu finden, auf die sie entweichen können (Vorhees und Williams, 2006).

2007)). Neben der Region der **basolateralen Amygdala (BLA)** bestehen die Amygdalae aus den **kortikalen (KA)** und den **zentromedialen Amygdala-Kernen (ZA)** (Abbildung 13).

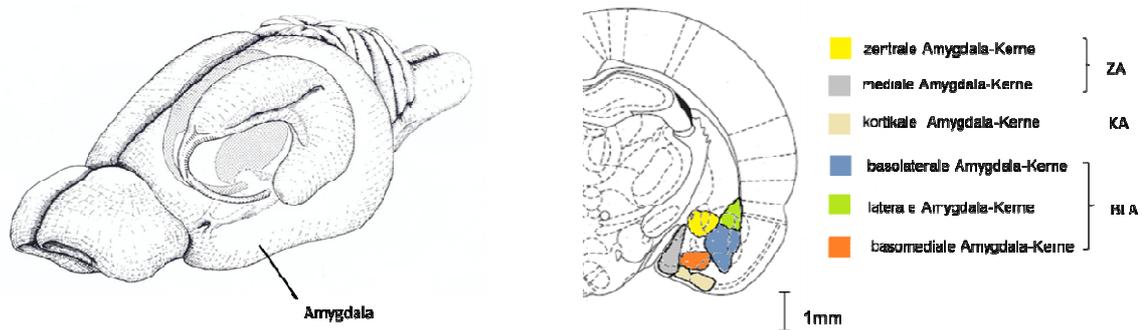


Abbildung 13 Darstellung der Amygdala-Kerne

Lokalisation der Amygdala-Kerne im Ratten-Gehirn (links) verändert nach (Basselin et al., 2011; Cheung und Cardinal, 2005; Torres und Horowitz, 1999) sowie schematische Darstellung der Lokalisation der Hauptregionen der Amygdala-Kerne im Rattengehirn (rechts) verändert nach (Faber et al., 2001; Paxinos und Watson, 1997; Sah et al., 2003). Abkürzungen: BLA, Basolaterale Amygdala, KA, Kortikale Amygdala, ZA, zentrale Amygdala. Die BLA setzen sich aus dem lateralen (LA), dem basolateralen (BL) und dem basomedialen Kern (BM) zusammen (Paxinos, 1994; Sah et al., 2003). Zu den kortikalen Kernen zählen der Kern des lateralen olfaktorischen Traktes, der Bed Nucleus des akkessorisch olfaktorischen Traktes, der anteriore und posteriore Nucleus, sowie der periamygdaloide Kortex (nicht in der Abbildung gezeigt) (Sah et al., 2003). Die zentromediale Amygdala setzt sich aus der zentralen, medialen und dem amygdaloiden Teil des Nucleus interstitialis der Stria terminalis (letztere Struktur nicht in der Abbildung gezeigt) zusammen. (Paxinos, 1994; Sah et al., 2003). Neben den drei genannten Hauptkernen und ihren Subregionen zählt man die anteriore Amygdala Region, die Amygdaloid-Hippocampale Region sowie den Intercalaten Kern zum Amygdala Komplex (Sah et al., 2003)

Alheid und Heimer stellten 1988 das Konzept zur **erweiterten Amygdalae** auf (Alheid und Heimer, 1988), welches sich besonders auf eine Erweiterung der drei beschriebenen Haupt-Kerne um den Nucleus interstitialis der Stria terminalis (engl.: *Bed Nucleus der Stria Terminalis*, BNST) bezog (Roth und Dicke, 2006; Sah et al., 2003). Neben der bisher dargestellten lageorientierten Beschreibung der Amygdalae in zusammenhängende Kernregionen, begründeten die Autoren Swanson und Petrovich ihre Einteilung der Amygdalae durch funktionelle Aspekte⁴⁹ (Roth und Dicke, 2006; Sah et al., 2003; Swanson und Petrovich, 1998).

2.6.3.3.2. Amygdalae und Kontextlernen

Insbesondere die BLA und die ZA wurde von einigen Autoren mit Kontextabhängigen Lernprozessen bei der Sucht bzw. Hinweisreiz- bedingter Psychostimulanz- induzierter Sensitivierung in Verbindung gebracht (Vanderschuren und Kalivas, 2000; Wolf, 2002).

⁴⁹ Diese funktionelle Beschreibung der Amygdala-Kernen basiert auf ihren neuronalen Verknüpfungen zu anderen Gehirn-Arealen. So wurden die kortikalen Kerne als olfaktorische-, die medialen als vomeronasale-, und die zentralen Kerne, sowie der BNST als viszeral-vegetative- Amygdala beschrieben. Eine der komplexesten Funktionen wird den basolateralen Kernen aufgrund ihrer Verknüpfung zum Hippocampus und dem Kortex zugeschrieben (Roth und Dicke, 2006; Sah et al., 2003; Swanson und Petrovich, 1998).

In der vorliegenden Arbeit soll eine Untersuchung zur Rolle der **Basolateralen Amygdala** in der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung durchgeführt werden. Alle bisher genannten Strukturen (PFC (Reep und Winans, 1982), Hippocampus (Rossato et al., 2006) und BLA (Bouwmeester et al., 2002; Everitt et al., 1991) sind über neuronale Projektionen mit den Basalganglien verbunden (Voorn et al., 2004). Diese Tatsache stellt einen weiteren Grund da, weshalb in der vorliegenden Arbeit die Wahl der zu untersuchenden Regionen auf den PFC, den Hippocampus und die Amygdalae fiel.

2.6.4. Die mögliche Involvierung von Serotonin bei der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung

Bei dem Neurotransmitter Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT) handelt es sich um ein Indolamin, welches gemeinsam mit dem bereits beschriebenen Dopamin in die Gruppe der Monoamintransmitter einzuordnen ist. Es wird entsprechend wie dieses durch Decarboxylierung aus einer Aminosäure synthetisiert (Kriegebaum et al., 2010)⁵⁰. Serotonerge Fasern entspringen im zentralen Nervensystem aus den kaudalen (B1 bis B4) und rostralen (B5 bis B9) Raphé Kernen; dabei projizieren insbesondere die **rostralen Raphé Kerne** zum Kortex, dem Striatum, dem Hippocampus und der Amygdalae (Kriegebaum et al., 2010). Vor allem die äusseren Schichten des Kortex werden serotonerg innerviert (Morgane et al., 2005), während es von den infralimbischen und dem ventralen prälimbischen Kortices ausgehend primär zu Rückprojektionen zu den dorsalen Raphé Kernen kommt (Morgane et al., 2005). Aus mehreren Gründen ist die Untersuchung des serotonergen Inputs für die Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung relevant. Zum einen sind die genannten Zielregionen der serotonergen Projektionen (insbesondere der PFC, Hippocampus und die Amygdalae) Gegenstand von Untersuchungen zur Lokalisation der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung. Zum anderen ist bekannt, dass 5-HT allgemein eine wichtige Rolle bei Lernprozessen einnimmt (Harvey, 2003; Meneses, 1999). Es ist gezeigt worden, dass eine Erhöhung der synaptischen 5-HT-Konzentration, beispielsweise durch den selektiven Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (SSRI = selective serotonin reuptake inhibitor) Citalopram, Lernprozesse moduliert. Weiterhin existieren Fallberichte über eine

⁵⁰ Zu Beginn der 5-HT-Synthese steht das L-Tryptophan, welches über die L-Tryptophanhydroxylase (THP) zunächst zu L-5-Hydroxyhydrotryptophan hydroxyliert wird. Die Decarboxylierung dieser Aminosäure durch die aromatisierte L-Aminosäure-Decarboxylase (AAAD) führt schließlich zur Synthese des 5-HT (Kriegebaum et al., 2010; Nestler et al., 2008). Der Anabolismus von 5-HT geschieht zunächst durch die Wirkung der Monoaminoxidasen A und B durch die 5-HT zu 5-Hydroxindolacetaldehyd desaminiert. Letzteres wird schließlich über die Aldehyd-Dehydrogenase zu 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA) abgebaut (Kriegebaum et al., 2010).

pro-parkinsonoide Wirkung des Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmers Citalopram, gewöhnlich als Antidepressivum eingesetzt (Stadtland et al., 2000). In einem anderen Versuch unseres Labors ist gezeigt worden, dass die Verabreichung von Citalopram zu einer massiven Verstärkung der Katalepsie-Sensitivierung führt (nicht veröffentlichte Daten Riedinger, Orłowski & Von Ameln Mayerhofer, in Vorbereitung). Eine Ausschaltung des serotonergen Systems innerhalb des Striatums und der serotonergen Eingänge in das Striatum, dem medialen Vorderhirnbündel (engl.: *medial forebrain bundle* = MFB), durch eine serotonerge Läsion mit dem Neurotoxin 5,7-Dihydroxytryptamine (5,7-DHT) führte nicht nur zu einer Abschwächung der Entwicklung der Katalepsie-Sensitivierung, sondern auch dazu, dass die Tiere nicht mehr wie gewohnt auf einen Kontextwechsel mit einer erniedrigten Abstieglatenz reagierten (Bechara, 2007). Da die Wirkung von Serotonin insbesondere im präfrontalen Kortex mit der Gedächtnisbildung in Verbindung gebracht wurde (Williams et al., 2002; Zhong et al., 2008) soll hier ergänzend untersucht werden, ob die serotonerge Innervierung des PFC in ähnlicher Weise an der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung beteiligt ist.

3. Zielsetzung der Arbeit

Innerhalb des Tiermodells der Katalepsie-Sensitivierung soll sowohl die Entwicklung als auch die Kontextabhängigkeit der progressiven Zunahme eines kataleptischen Verhaltens untersucht werden. Der erste Teil der Arbeit (I) bezieht sich auf die Entwicklung der Katalepsie-Sensitivierung: Im Rahmen des **Projektes I** soll erörtert werden, welchen Einfluss die Gabe der Glutamatrezeptorantagonisten MK801 und GYKI52466 während der post-Test Phase auf diese Entwicklung haben. Der zweite Teil der Arbeit (II) konzentriert sich auf die Untersuchung der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung und untergliedert sich in die **Projekte IIa1, IIa2, IIa3, IIb1 und IIb2**. Bei den Projekten IIa1-3 handelt es sich um reine Verhaltensversuche, während in den Projekten IIb1-2 post-operative Verhaltensversuche durchgeführt werden. Ziel des Projektes **IIa1** war herauszufinden, ob ein auf verschiedene Sinnesmodalitäten bezogener Wechsel von Hinweisreizen ausreicht, um die Ausprägung der zuvor sensitivierten Katalepsie-Stärke signifikant zu beeinträchtigen. Die Untersuchung olfaktorischer und gustatorischer Hinweisreize ist bei diesem Versuch bewusst ausgeklammert, da diese zu den markantesten frühen Wahrnehmungs-Defiziten im Rahmen einer Parkinson-Erkrankung zählen. In Hinblick auf einen späteren therapeutischen Ansatz erscheint es deshalb sinnvoller, auditorische, visuelle und taktile Hinweisreize bei diesen Untersuchungen einzubeziehen. Im Projekt **IIa2** soll geklärt werden, ob ein täglicher Kontextwechsel die Katalepsie-Sensitivierung stärker beeinträchtigt als der bisher durchgeführte einmalige Kontextwechsel nach erfolgter Katalepsie-Sensitivierung. Im selben Projekt soll überprüft werden, in welcher Stärke sich die Katalepsie-Sensitivierung in einer gewohnten Umgebung entwickelt und in welchem Ausmaß ein anschließender Kontextwechsel diese Sensitivierung beeinträchtigt. Das Projekt **IIa3** hat zum Ziel, die Rolle des Novelty-Effekts hinsichtlich der Reduktion der Katalepsistärke während eines Kontextwechsels zu untersuchen. Hierzu wurde durch Habituation die Abschwächung beziehungsweise Eliminierung des Novelty-Effektes angestrebt. Ziel des Projektes **IIb1** ist es, anatomische Strukturen zu identifizieren, die an der starken Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung beteiligt sind. Unter diesem Gesichtspunkt werden Regionen des präfrontalen Kortex, des Hippocampus und der Amygdalae mit dem Neurotoxin Chinolinat behandelt. Im Projekt **IIb2** wird schließlich überprüft, ob eine Aussage darüber gemacht werden kann, welche Rolle der Neurotransmitter Serotonin bei dem Kontextabhängigen Lernprozess in einer im Projekt IIb1 unselektiv lädierten Region des PFC einnimmt.

4. Einschränkungen

Die progressive Verschlechterung der Parkinson-Symptomatik im Rahmen der Katalepsie-Sensitivierung und die durch Kontextwechsel verursachte Verbesserung der Symptomatik werden in der vorliegenden Arbeit untersucht. Sie dient der Grundlagenforschung für spätere Untersuchungen vergleichbarer Lernprozesse bei Parkinson-Patienten. Es sei an dieser Stelle erwähnt, dass die Übertragbarkeit der Untersuchungsergebnisse auf Menschen und die entsprechende Aussagekraft der Experimente (Validität) wie bei jedem Tierversuch natürlich gewissen Einschränkungen unterliegt. Daher sollte die von Willner beschriebene Unterscheidung der Voraussagekraft (engl.: *predictive validity*), Ähnlichkeit (engl.: *face validity*) und der theoriebasierten Validität (engl.: *construct validity*) zur Anwendung kommen (Fuchs et al., 2012; Willner, 1991). Bezüglich der **Voraussagekraft** gibt es starke Hinweise, dass ein Kontextwechsel auch bei Parkinson-Patienten zu einer Verbesserung ihrer Symptomatik beitragen könnte. So ist bekannt, dass Parkinson-Patienten in der Lage sind bei der Veränderung bestimmter externer Umstände plötzlich wieder schnellere Bewegungen auszuführen. Diese sogenannte „paradoxe Kinese“ wird durch verschiedene Arbeitsgruppe untersucht (Bienkiewicz et al., 2013; Griffin et al., 2011)⁵¹. Die Haltungsstarre eines Parkinson-Patienten konnte zudem vor allem (unter Laborbedingungen) durch die Gabe visueller Hinweisreize verbessert werden (Lee et al., 2012), die Gabe einer alltagstauglichen Reizgabe (beispielsweise durch visuelle Hinweisreizgabe eines Rollators) hatte laut einer Pilotstudie bisher nicht den gewünschten Effekt und sollte weiter untersucht werden (Bunting-Perry et al., 2013). Bezüglich der **Ähnlichkeit** von Katalepsie mit der Parkinson-Symptomatik wurde bereits in der Einleitung erwähnt, dass sich das Tiermodell vor allem auf die Teilsymptome des Rigors und der Akinese beschränkt. Die im Tiermodell gezeigte Verschlechterung dieser Symptome durch den Sensitivierungs-Prozess wird im Rahmen der Publikation von Schmidt und Beninger (Schmidt und Beninger, 2006) mit der Verschlechterung der Parkinson-Symptomatik in Zusammenhang gebracht. Zudem wird für die durch L-DOPA-induzierten Dyskinesien, eine Kontextabhängigkeit gezeigt (Lane et al., 2011). Bezüglich der **theoriebasierten Validität** sei erwähnt, dass hier keine fortschreitende Neurodegeneration imitiert wurde, wie sie beispielsweise authentischer im 6-OHDA Modell gezeigt werden könnte. Dennoch beruht das hier verwendete Haloperidol-Modell auf der Einschränkung der dopaminergen Neurotransmission innerhalb der

⁵¹ Quelle: <http://www.ucl.ac.uk/ion/departments/sobell/Research/MJahanshahi/Projects/Modulation>

Eingangsstruktur der Basalganglien. In einer anderen Publikation wurde bereits gezeigt, dass die Sensitivierung und ihre Kontextabhängigkeit auch im 6-OHDA Modell nachgebildet werden kann (Klein und Schmidt, 2003).

II. Material und Methoden

5.1. Allgemeine Beschreibung

5.1.1. Tiere und Haltungsbedingungen

Für alle Projekte wurden **männliche Sprague-Dawley Ratten** von Charles River (Sulzfeld, Deutschland) verwendet, deren Körpergewicht zu Beginn der Versuche zwischen **250–280 g** lag. Je nach Anzahl der verwendeten Tiere in einem Projekt wurden sie in einer Gruppe von maximal vier Individuen in Standard Makrolon IV Käfigen bei einer Raumtemperatur von 22°C, einer relativen Luftfeuchtigkeit von 40-60% und einem Tag/Nachtzyklus von 12h/12h (Licht an: 7:00 Uhr) gehalten. Gefüttert wurden die Tiere mit 12 g Standard-Trockenfutter (Ssniff Spezialdiäten, Soest) pro Tier und Tag, Wasser stand *ad libitum* zur Verfügung. Vor jedem Projekt wurden die Tiere an die Versuchsdurchführerin gewöhnt. Hierzu wurden sie (frühestens eine halbe Woche nach Lieferung) für 4 bis 5 Tage täglich aus Ihren Haltungskäfigen entnommen und konnten sich auf den Händen der Versuchsdurchführerin frei bewegen. Zudem wurden sie während dieser Zeit in die Körperhaltung eingebracht, in welcher sie in nachfolgenden Versuchen eine subcutane (s.c.) oder intraperitoneale (i.p.) Injektion erhalten sollten. Die nachfolgend angegebenen Injektions-Konzentrationen beziehen sich jeweils auf einen verabreichten Milliliter pro Kilogramm Körpergewicht der Tiere. Entsprechend wurden die Tiere an jedem Versuchstag gewogen.

5.1.2. Auslösen der Katalepsie durch das Neuroleptikum Haloperidol

Das in allen Projekten verwendete Neuroleptikum **Haloperidol** (Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) wurde in den jeweiligen Versuchen in einer bestimmten Verdünnung verabreicht, (die Angabe der jeweiligen Trägersubstanz und genauen Dosierung erfolgt in den Projektunterpunkten).

5.1.3. Messung der Katalepsistärke

Zur Messung der Katalepsistärke wurden die Tiere zunächst in eine für sie ungewöhnliche Position gebracht. Eine solche Position wurde in dieser Arbeit durch die Verwendung zweier unterschiedlicher Versuchsaapparaturen erreicht. Das mit Haloperidol behandelte Tier wurde hierzu entweder mit seinen Vorderpfoten an eine 18 cm lange

horizontale Stange gesetzt, welche einen Durchmesser von 0,8 cm aufwies und 8 cm über der Versuchsplattform angebracht war, oder man setzte es vorsichtig mit allen vier Pfoten an ein **vertikales Gitter** einer Fläche von 25x40 cm und einer Maschenweite von 1 cm. Als Maß der Katalepsie wurde die sogenannte **Abstiegslatenz** mit Hilfe einer Stoppuhr ermittelt (Abbildung 14). Die Abstiegslatenz beschreibt die Zeitspanne, die vom Heransetzen der Tiere an die Versuchsapparatur bis zur **ersten willkürlichen Abstiegsbewegung** der Tiere aus der künstlich induzierten Körperhaltung heraus vergeht. Die Messung wurde jedoch nur **maximal 180 Sekunden** lang durchgeführt, um eine muskuläre Ermüdung der Tiere zu vermeiden.

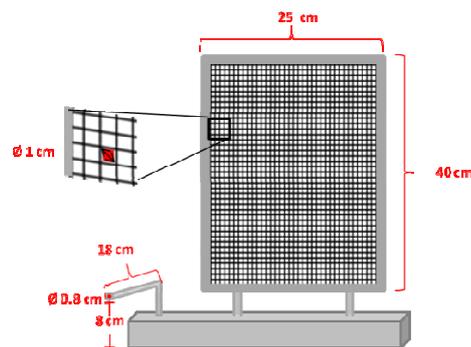


Abbildung 14 Testapparatur

Schematische Darstellung der Katalepsie-Apparatur mit Angabe der genauen Längen- und Breitenmaße.

Derartige Ermüdungserscheinungen könnten zu einem Abrutschen der Tiere führen und folglich zu nicht eindeutig identifizierbaren Abstiegslatenzen.

5.2. Darstellung der einzelnen Projekte

5.2.1. Projekt I

Untersuchungen zur Rolle der Glutamatrezeptoren bei der Konsolidierung der Katalepsie-Sensitivierung

Zur Antagonisierung der NMDA Rezeptoren wurde im ersten Experiment das Antikonvulsivum **MK801** (Dizocilpin-Hydrogen-Maleate (INN), von Sigma-Aldrich, Steinheim) verwendet. Zur Antagonisierung der AMPA/Kainat-Rezeptoren wurde in einem zweiten Experiment das Benzodiazepin **GYKI52466** eingesetzt (von Dr. Tarnawa, Budapest). Die Verabreichung der Antagonisten (oder der entsprechenden

Trägersubstanz) erfolgte jeweils (i.p.) nach der Durchführung des letzten von zwei Katalepsietests, denen eine 60 minütige Anflutphase des i.p. verabreichten Haloperidols (oder der entsprechenden Trägersubstanz) voraus ging. Beide Experimente wurden außerhalb der Tierhaltung, in einem Kontext A, an neun aufeinander folgenden Tagen durchgeführt. Eine halbe Stunde nachdem das letzte Tier die zweite Injektion erhielt, wurden die Tiere in ihren Käfigen zurück in die Tierhaltung transportiert. Diese Zeitspanne wurde gewählt um die Tiere nicht zusätzlich zu stressen⁵².

5.2.1.1. Tiergruppen und Behandlungsschema

Im **ersten Experiment** wurden vier Versuchstiergruppen mit jeweils zehn Tieren pro Gruppe verwendet (n=10 Tiere/Gruppe). Die **Haloperidol/Saline-Gruppe** erhielt 60 Minuten vor dem Katalepsietest eine **Haloperidol-Injektion** der Konzentration **0.5 mg/ml** i.p. (gelöst in isotonischer Kochsalzlösung, Saline). Nachdem die Tiere dieser Gruppe an der Katalepsie-Stange und dem Katalepsie-Gitter auf ihre Abstiegslatenz hin getestet wurden, erhielten sie eine Saline-Injektion. Die **Saline/Saline-Gruppe** erhielt je 60 Minuten vor dem ersten und direkt nach dem letzten Katalepsietest eine i.p. Saline-Injektion. Die zwei restlichen Gruppen wurden mit jeweils unterschiedlichen **MK801 Konzentrationen**, direkt nach dem zweiten Katalepsietest, behandelt (Abbildung 15). Dabei erhielt eine der beiden Gruppen eine Injektion von **0.1 mg/ml (Haloperidol/MK801-0.1-Gruppe)** und die andere Gruppe eine Injektion von **0.25 mg/ml MK801 (Haloperidol/MK801-0.25-Gruppe)**. Genauso wie die Haloperidol/Saline-Gruppe erhielten beide mit MK801 behandelten Gruppen 60 Minuten vor dem ersten Katalepsietest eine Haloperidol-Injektion (0.5 mg/ml, i.p.).

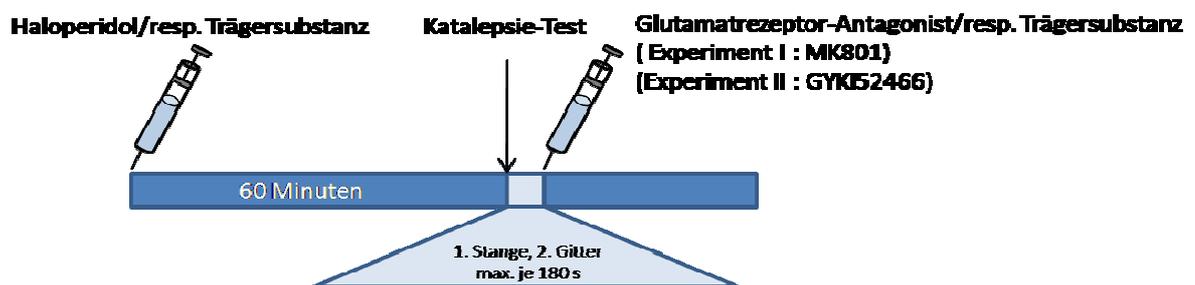


Abbildung 15 Behandlungsschemata des Projektes I

Tägliches Behandlungsschemata der Tiergruppen, (zu lesen von links nach rechts im zeitlichen Verlauf). 60 Minuten nach der ersten Injektion mit entweder Haloperidol oder einer entsprechenden Trägersubstanz (vgl. Fliesstext) wurde die Abstiegslatenz aller Tiere an der Stange und anschließend am Gitter getestet. Direkt im Anschluss an den zweiten Katalepsietest wurde der jeweilige Glutamat-Rezeptorantagonist, oder die entsprechende Trägersubstanz (Saline im Experiment I und Injektionswasser in Experiment II) verabreicht. Der dunkelblaue Balken symbolisiert den Aufenthalt der Tiere innerhalb ihrer Haltungskäfige (in einem vom Haltungsraum abweichenden Kontext A), der hellblaue Balken den Aufenthalt der Tiere an der Katalepsie-Apparatur (in Kontext A).

⁵² Solch ein Transport-induzierter Stresszustand ist beschrieben in (Castelhano-Carlos und Baumans, 2009)

Im **zweiten Experiment** wurden insgesamt 24 Tiere verwendet, die in zwei separate Gruppen aufgeteilt wurden (n=12 Tiere/Gruppe). Der Katalepsietest erfolgte, wie im ersten Experiment, zunächst an der Stange und anschließend am Katalepsie-Gitter. Die **Haloperidol/Vehikel-Gruppe** erhielt 60 Minuten vor dem ersten Katalepsietest eine, in Injektionswasser (AMPUWA ®, Fresenius Kabi, Bad Homburg) auf **0.25 mg/ml** verdünnte, **Haloperidol-Injektion** (i.p.). Direkt nach dem zweiten Katalepsietest erfolgte für die Tiere dieser Gruppe eine Injektion der Trägersubstanz (Vehikel), die sowohl zur Herstellung der gebrauchsfertigen Haloperidol-Lösung, als auch zur Herstellung der GYKI52466-Lösung verwendet wurde. Die **Haloperidol/GYKI52466-Gruppe**, erhielt 60 Minuten vor dem ersten Katalepsietest eine auf **0.25 mg/ml** verdünnte Haloperidol-Injektion (i.p.) und direkt nach dem zweiten Katalepsietest eine auf **5 mg/ml** verdünnte GYKI52466-Injektion (i.p.) (Abbildung 15).

5.2.1.2. Statistische Auswertung

Die Darstellung der Daten erfolgt als Mittelwerte für jeden einzelnen Versuchstag sowie gemittelt über alle neun Versuchstage hinweg. Angegeben werden die Mittelwerte jeweils \pm Standardfehler des Mittelwertes (S.E.M.). Die statistische Auswertung erfolgte für die Mittelwerterhebung über die neun Versuchstage hinweg. Für das erste Experiment wurde eine einfaktorielle ANOVA mit anschließendem post hoc Fisher LSD-Test, für das zweite Experiment ein Student's t-Test durchgeführt.

5.2.2. Projekt IIa1

Einfluss diskreter Hinweisreize auf den Verlauf der Katalepsie-Sensitivierung

In drei verschiedenen Versuchsansätzen wurde am achten Versuchstag entweder der **visuelle**, **taktile** oder **auditorische** Hinweisreiz nach erfolgter Katalepsie-Sensitivierung (vom ersten bis zum siebten Tag) verändert. Am neunten und zehnten Versuchstag erfolgte für alle Gruppen ein Retest unter Sensitivierungsbedingungen. Der Katalepsietest innerhalb dieses Projekts wurde in einer speziell hierzu angefertigten Versuchsbox durchgeführt, die sich ausserhalb des Haltungsraumes befand.

5.2.2.1. Aufbau der Versuchsbox

Eine an fünf Seiten aus grauen Polyamidplatten konstruierte Box mit den Maßen 51.5 x 43.5 x 32.5 cm stellte den Grundkörper der Versuchsbox dar (Abbildung 16). In dem

Grundkörper befand sich eine herkömmliche Katalepsie-Apparatur. Für alle Versuche des Projektes IIa1 wurde nur die Stange zur Messung der Abstiegslatenz verwendet.



Abbildung 16 **Katalepsie-Box zum Projekt IIa1**

Die verschließbare Katalepsie-Box war mit einem Greifarmmechanismus (GA) ausgestattet, um die Tiere innerhalb der geschlossenen Box an die Apparatur anbringen zu können. Abkürzungen: Gitter (G), Stange (S) Lautsprecher (L) zum Test der akustischen Komponente, Bodenbelag (B) (austauschbar zwischen rauher und glatter Seite zum Test der taktilen Komponente), Wand (W) hinter Stange und Gitter (visuell veränderbar durch Musterung) zum Test der visuellen Komponente.

Zwei in die Wand integrierte Lautsprecher dienten der Gabe des akustischen Hinweisreizes, und waren in Blickrichtung der Tiere angebracht. Die Lautsprecher waren an einem Computer angeschlossen, der über das Programm Audacity (open source software von Dominic Mazzoni und Roger Dannenberg) vorgegebene Töne beziehungsweise weißes Rauschen produzieren konnte. Vor der Stange konnte eine entnehmbare, in Folie geschweißte Tapete in Augenhöhe der Tiere angebracht werden, um den Tieren einen visuellen Hinweisreizwechsel darbieten zu können.

5.2.2.2. Tiergruppen und Behandlungsschema

Im Folgenden wird das Behandlungsschema während der Sensitivierungs-Phase (Tag eins bis Tag sieben) und für die zwei Tage nach dem jeweiligen Hinweisreizwechsel (neunter Tag und zehnter Tag) beschrieben (Abbildung 17). Alle drei Behandlungsgruppen hatten eine Gruppengröße von **n=12 Tieren**. Der Versuchsaufbau und der Versuchsablauf waren an den genannten Versuchstagen für alle drei Tiergruppen identisch. Die Tiere wurden jeweils **60 Minuten vor** dem Katalepsietest mit einer **0.25 mg/ml** dosierten **Haloperidol**-Injektion (gelöst in Saline, i.p.) behandelt. Die darauffolgenden 60 Minuten verbrachten die Tiere in ihren Haltungskäfigen, die in dem Raum aufgestellt waren, in welchem die oben beschriebene Versuchsbox stand. Nach 60 Minuten wurden die Tiere jeweils in die Versuchsbox eingebracht. Die Box wurde verriegelt und jedes Tier wurde vorsichtig, mittels Greifarmmechanismus mit den Vorderpfoten an die Katalepsiestange gesetzt. Kurz vor dem Öffnen der Box und dem Heransetzen der einzelnen Tiere an die Messapparatur wurde das **weiße Rauschen** (mit einem in der geschlossenen Box gemessenen Schalldruckpegel (SPL) von 80dB peak-peak) eingeschaltet. Die Tiere blickten auf eine graue Tapete. Zudem waren die Stange,

auf der die Vorderpfoten lagen und der Untergrund, auf dem sie mit den Hinterpfoten vorsichtig aufgesetzt wurden, glatt.

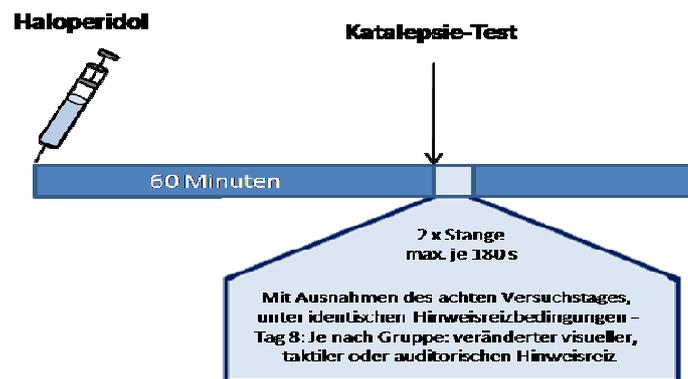


Abbildung 17 Behandlungsschemata zum Projekt IIa1

Über der Zeitachse sind die jeweiligen Aufenthaltsorte der Tiere farblich markiert. Ab der ersten Haloperidol-Injektion befanden sich die Versuchstiere im Raum in dem die Katalapsie-Box platziert war (dunkelblauer Balken). Für den Katalapsietest verbrachten sie pro Durchgang maximal 180 Sekunden in der Testbox (hellblauer Balken). 30 Minuten nach dem letzten Testdurchlauf des letzten Tieres wurden alle Tiere zurück in die Tierhaltung transportiert. Am achten Versuchstag (Hinweisreizwechsel) wurde den einzelnen Gruppen in der Versuchsbox ein ihrer Bezeichnung entsprechend unterschiedlicher (visueller, auditorischer oder taktiler) Hinweisreiz dargeboten.

Der Katalapsietest wurde zweimal hintereinander durchgeführt. Die Tiere verblieben demnach insgesamt für maximal 360 Sekunden in der Versuchsbox⁵³. Nach dem zweiten Testdurchlauf wurden die Tiere direkt aus der Versuchsbox entfernt. Am achten Versuchstag, dem **Tag des Hinweisreiz-Wechsels**, wurden die drei Behandlungsgruppen jeweils in einem veränderten und zu den anderen Gruppen unterschiedlichen Versuchskontext getestet, die Haloperidolbehandlung 60 Minuten vor den beiden Katalapsietests an der Stange wurde für alle Tiergruppen beibehalten. Der **auditorischen-Gruppe**, wurde in der Box am achten Versuchstag anstelle des weißen Rauschens ein Sinus-Ton, mit einer Frequenz von 2kHz und einem Schalldruckpegel von 77-80dB peak-peak, (gemessen in der geschlossenen Versuchsbox) vorgespielt. Die **visuelle-Gruppe** blickte am achten Tag statt auf die graue, auf eine schwarz-weiß, in vertikaler Richtung gestreifte Tapete. Die Tiere der **taktilen-Gruppe** wurden am Tag des Hinweisreiz-Wechsels mit ihren Hinterpfoten auf einen rauhen Untergrund gesetzt, während die einstmals glatte Stange für die Vorderpfoten, engmaschig mit einem Draht umwickelt war. An allen Versuchstagen wurden die Tiere 30 Minuten nach dem letzten Katalapsietest des letzten Tieres ihrer Gruppe zurück in die Tierhaltung transportiert.

⁵³ Bei dieser Zeitangabe handelt es sich um die reine Versuchszeit an der Katalapsie-Apparatur. Die Zeit die benötigt wurde, um das jeweilige Tier in die Box hineinzusetzen und wieder heraus zu nehmen, lag durchschnittlich bei jeweils 30 Sekunden.

5.2.2.3. Statistische Auswertung

Im Ergebnisteil ist der Mittelwert \pm S.E.M. angegeben. Die gemessenen Abstiegslatenzen während der Katalepsie-Sensitivierung wurden mit einer Friedman-ANOVA analysiert. Der Vergleich der Abstiegslatenzen innerhalb einer Gruppe erfolgte durch den Wilcoxon-Test.

5.2.3. Projekt Ila2

Auswirkungen täglicher Kontext-Veränderungen und einer Sensitivierung in gewohnter Umgebung auf die Entwicklung und Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung

Im vorliegenden Projekt wurden drei verschiedene Versuchstiergruppen (mit einer Gruppengröße von jeweils 10 Tieren) verwendet. Alle Tiere erhielten 60 Minuten vor dem Katalepsietest eine in Saline zu 0,25 mg/ml verdünnte Haloperidollösung (i.p.). Die **Sensitivierungsphase** des Projektes Ila2 fand mit Ausnahme vom dritten und sechsten Tag an den Tagen 1 bis 8 statt. Der Kontextwechsel im „klassischen Sinne“ erfolgte am Tag 9. An Tag 10 wurden die Tiere wieder nach demselben Schema behandelt wie während der Sensitivierungsphase.

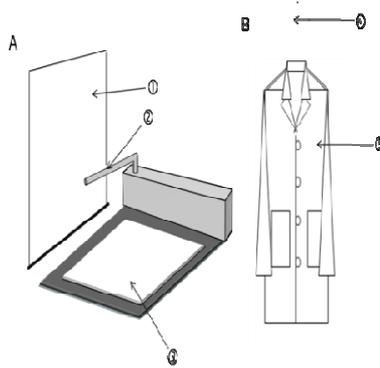
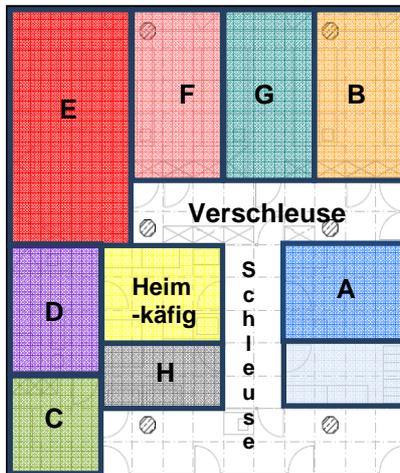
5.2.3.1. Tiergruppen und Behandlungsschema

Zur Übersicht der zeitlichen Einteilung eines Versuchstages dient die Abbildung 18. Diese Unterteilung gilt für alle Versuchstiergruppen. Die drei Gruppen unterschieden sich durch Wahl der Kontexte in denen die experimentelle Phase durchgeführt wurde.

Abbildung 18 Behandlungsschemata des Projektes Ila2

Darstellung des Versuchsdesigns eines Versuchstages für alle Versuchstiergruppen. Die Balkendarstellung ist vom zeitlichen Ablauf her von links nach rechts zu lesen. Während der experimentellen Phase befanden sich die Tiere zunächst für 12 Minuten in der sogenannten Prä-Injektions-Zeit. Nach einer daran anschließenden Haloperidol-Injektion, mit einer Injektionsdauer von einer Minute, verweilten sie für 60 Minuten in der sogenannten Anflutphase (bestehend aus Post-Injektions- und Prä-Test-Zeit). Der an die Anflutphase anschließende Katalepsietest dauerte maximal 180 Sekunden. Der sich an den Katalepsietest anschließende letzte Teil der experimentellen Phase (Post-Test-Zeit) dauerte 12 Minuten. Die Tiere aller Gruppen wurden direkt im Anschluß (Post-experimentelle Phase) in die Tierhaltung gebracht, in der sie bis zum nächsten Versuchstag (bis zum Ende der präexperimentellen Phase) verblieben.

Insgesamt wurden neun verschiedene Kontexte für die Versuchsdurchführung verwendet. Neben der Versuchstierhaltung⁵⁴ (in der alle Versuchstiere während der post- und prä-experimentellen Phase untergebracht waren), wurden acht weitere Laborräume zu den Kontexten A bis H umfunktioniert.



Kontext	①	②	③	④	⑤	⑥
Heimkäfig	Metallverkleidung	glatte Stange	Metallboden	Zöpfe	weißer Kittel	-
A	graue Polyamidplatte	mit Pfeifenputzer umwickelte Stange	helles Handtuch	offene mittellange Haare	grauer Kittel	Radio-geräusche
B	schwarz/weiß gestreifte Tapete	glatte Stange	Sushi Matte	schwarz/weiß gestreifte Mütze	schwarz/weiß gestreifter Kittel	weißes Rauschen
C	Eiswürfel-formen	glatte Stange	knisternde Plastikfolie	weiße Woll-Mütze	weißer Kittel	-
D	große Stoppuhr	glatte Stange	Watte	bunte Woll-Mütze	weißer Kittel	-
E	Pfeifenputzer	glatte Stange	getrocknete Linsen	schwarze Kappe	weißer Kittel	-
F	Papp-Rollen	glatte Stange	1 Cent Münzen	Stirnband	weißer Kittel	-
G	rote Glassteine	glatte Stange	rote Glassteine	Zopf	weißer Kittel	-
H	Alufolie	glatte Stange	Alufolie	rote Wollmütze mit weißem Saum	weißer Kittel	-

Abbildung 19 Lageplans der verwendeten Kontexte und Darstellung der jeweils dargebotenen Hinweisreize

Der Lageplan (oben links) zeigt, die im Versuche verwendeten Räume (Kontext A-H und Heimkäfig) in ihrer Größenvarianz von 11 bis 40 qm. In den Räumen waren unterschiedliche Labor-Utensilien platziert. Neben diesen stationären Utensilien wurden die externen Kontexte gemäß der Tabelle (rechts) in der direkten Umgebung der Katalepsie-Apparatur (unten links, A: ①-③) beziehungsweise der Bekleidung der Versuchsdurchführerin (unten links, B: ④ und ⑤) verändert. Sonstige Veränderungen sind in der Tabelle unter ⑥ vermerkt.

⁵⁴ In **Abbildung 19** und der entsprechenden Gruppenbezeichnung wurde synonym der kürzere Begriff Heimkäfig verwendet

		Versuchstiergruppen		
		H	K	TKK
Versuchstage	1			
	2			
	4			
	5			
	7			
	8			
	9			
	10			

Abbildung 20 Vergleichende Darstellung der Raubelegung für alle Versuchsgruppen

In Anlehnung an

Abbildung 18 und unter Verwendung der in Abbildung 19 eingeführten Farbkodierung, ist für alle Versuchstiergruppen die Raubelegung während der Versuchstage 1-10 angegeben. Eine genaue Beschreibung für die H- und die K-Gruppe ist dem Fliesstext zu entnehmen. Die experimentelle Phase (eP) der TKK-Gruppe wurde wie in den zuletzt genannten Gruppen am Tag (T) 9 im Kontext (Ko) B durchgeführt, die Kontexte in denen sich die Tiere der TKK Gruppe während der eP an den übrigen Versuchstagen aufhielten waren: KoG an T1, KoF an T2, KoA an T4, KoC an T5, KoE an T7, KoD an T8 und KoH an T10.

Durch die normale Funktionalität der Räume, waren diese mit unterschiedlichen Utensilien ausgestattet und bildeten somit bereits einen Teil des Kontextes⁵⁵. In den Versuchsräumen, wo der Katalepsietest durchgeführt wurde, erfolgte zudem in direkter Umgebung der Katalepsie-Apparatur eine für den jeweiligen Raum festgelegte Darbietung von Hinweisreizen. Die Darstellung des Lageplanes und der den Räumen zugeordneten Hinweisreize erfolgt in *Abbildung 19*. Die **Heimkäfig-Gruppe (H-Gruppe)** verbrachte alle Abschnitte der experimentellen Phase während der Sensitivierungsphase und an Tag 10 in der Versuchstierhaltung. Während des neunten Tages verbrachten die Tiere der H-Gruppe die gesamte experimentelle Phase in einem Kontext B. Die zweite Gruppe wurde wie in den **klassischen Katalepsieexperimenten (K-Gruppe)** für alle Abschnitte der experimentellen Phase in einem Kontext A sensitiviert und war am Tag des Kontextwechsels während der experimentellen Phase in Kontext B untergebracht. In der dritten Versuchsgruppe wurde die experimentelle Phase täglich in einem neuen aber **konstanten Kontext** durchgeführt (**TKK-Gruppe**). Am neunten Tag wurde auch diese Tiergruppe in Kontext B getestet, obwohl bei dieser Gruppe nicht mehr von „dem“ Kontextwechsel gesprochen werden konnte, da bei ihr ja ein täglicher Kontextwechsel erfolgte. Zum Überblick der Raumbelagung durch die Versuchstiergruppen während der in *Abbildung 19* dargestellten Versuchsphasen dient die zusammenfassende *Abbildung 20*.

5.2.3.2. Statistische Auswertung

Um die fehlenden Datenerhebungen der Versuchstage 3 und 6 innerhalb der Sensitivierungsphase auszugleichen, wurden die Rohdaten des ersten und des zweiten Versuchstages gemittelt und als Messpunkt A angegeben; ebenso wurde mit den Rohdaten der Versuchstage 4 und 5 (die im Ergebnisteil als Messpunkt B angegeben werden) und den Rohdaten der Versuchstage 7 und 8 (die im Ergebnisteil als Messpunkte C dargestellt werden) verfahren. Alle angegebenen Daten stellen den Mittelwert \pm S.E.M. dar. Zur Analyse des Sensitivierungsverlaufs (Messpunkte A bis C) wurde eine Friedman-ANOVA durchgeführt. Unabhängige Einzelwerte wurden hinsichtlich ihrer Unterschiede mit dem Mann-Whitney-U-Test auf Signifikanzen überprüft. Zum Vergleich der Einzelwerte innerhalb einer Gruppe wurde der Wilcoxon-Test angewendet.

⁵⁵ Bei den Utensilien handelte es sich für den Kontext A um ein 8-Arm-Labyrinth, der Kontext B enthielt Bürotensilien, im Kontext C waren zwei Aktivitätsboxen platziert, Kontext D war mit zwei Stereotakten, zwei Binokularen und einem Abzug ausgestattet, im Kontext E befanden sich mehrere Kühlschränke, eine HPLC-Apparatur, zwei Abzüge, eine große Arbeitsplatte und Chemikalienschränke, Kontext F verfügte über eine elektrophysiologische Messapparatur und einen Faraday'schen Käfig, in Kontext G stand eine Mikrodialyse-Apparatur und im Kontext H waren sechs Rotometer-Apparaturen untergebracht. Kontext B und E waren die einzigen Räume mit Tageslicht, die restlichen Räume waren durch Deckenlampen künstlich beleuchtet. Tageslicht fiel ausserdem durch den Haupteingang der in aufsicht auf den Lageplan (*Abbildung 19*) rechts von der Verschleuse lag.

5.2.4. Projekt Ila3

Untersuchung des Novelty Effektes bei der Kontextabhängigkeit der Katalepsie Sensitivierung.

In diesem Projekt sollte untersucht werden, welchen Einfluss der Neuigkeitswert (Novelty-Effekt) eines Kontextes B, nach erfolgter Sensitivierung in Kontext A hat. Hierzu wurde eine von zwei Tiergruppen (vor der Katalepsie-Sensitivierung in einem Kontext A) an einen Kontext B gewöhnt (habituiert), während anstelle dieser Gewöhnungsphase die Tiere der zweiten Gruppe im Kontext A habituiert wurden.

5.2.4.1. Tiergruppen und Behandlungsschema

Während der **Habituerungs-Phase** wurde den Tieren beider Gruppen (mit jeweils n= 10) an fünf aufeinanderfolgenden Tagen jeweils eine (s.c.) Saline-Injektion verabreicht. Diese Behandlung erfolgte für die **SalineB/HaloperidolA-Gruppe** in Kontext B und für die **SalineA/HaloperidolA-Gruppe** in Kontext A (Abbildung 21). Sechzig Minuten nach der Saline-Injektion wurden die Tiere beider Gruppen in den jeweiligen Kontexten an der Katalepsie-Stange auf ihre Abstiegslatenz hin getestet. Nach dieser Habituerungs-Phase wurden beide Tiergruppen in Kontext A an neun **Tagen** (Versuchstag 6 bis 16, mit Ausnahme der Tage 13 und 14) **sensitiviert**.

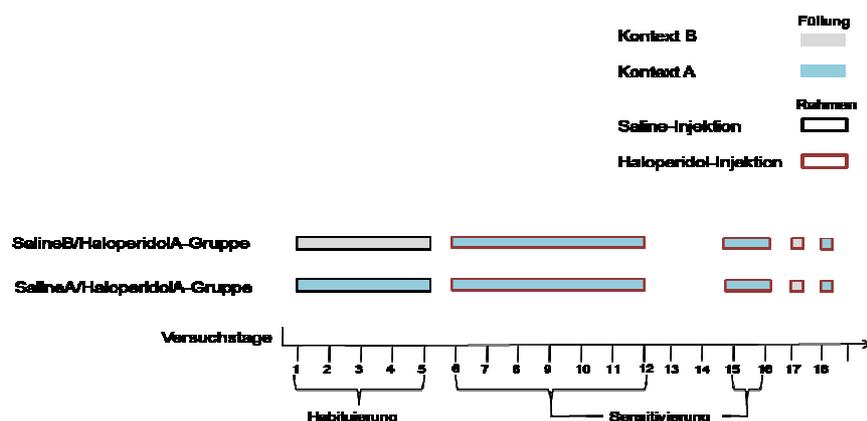


Abbildung 21 Behandlungsschemata des Projektes Ila3

Darstellung des in Projekt Ila3 verwendeten Versuchsdesigns. Während der Habituerungsphase wurde die SalineB/HaloperidolA-Gruppe in Kontext B mit Saline behandelt und 60 Minuten später wurde ihre Abstiegslatenz an der Katalepsiestange ermittelt. Die SalineA/HaloperidolB-Gruppe durchlief die gleiche Behandlung von Tag 1 bis 5 in Kontext A. Während der Sensitivierungsphase (Tag 6-16, mit Ausnahme der Tage 13 und 14, an denen kein Versuch durchgeführt wurde) sind beide Gruppen mit Haloperidol behandelt worden und 60 Minuten später in Kontext A auf den Grad ihrer Abstiegslatenz hin überprüft. Die gleiche Prozedur erfolgte an Versuchstag 18. Am Tag 17 wurden die Tiere 60 Minuten nach einer Haloperidolbehandlung in Kontext B auf ihre Abstiegslatenz hin getestet.

Während dieser Sensitivierungsphase erhielten die Tiere beider Gruppen eine Haloperidol-Injektion (0,25 mg/ml, s.c.). Sechzig Minuten später wurde ihre Abstiegslatenz mit Hilfe der Katalepsiestange bestimmt. Einen Tag nach der Sensitivierungsphase wurde dieselbe Prozedur für alle Tiere in Kontext B und einen weiteren Tag später erneut in Kontext A durchgeführt.

5.2.4.2. Statistische Auswertung

Der Vergleich der Abstiegslatenzen von mehreren Versuchstagen an denen innerhalb einer Gruppe die gleiche Behandlung stattfand (für die Habituerungs- und Sensitivierungsphase), erfolgte über die nicht-parametrische Friedman-ANOVA. Abhängige Einzelwerte wurden über den Wilcoxon-Test miteinander verglichen. Für den Vergleich der Abstiegslatenzen zwischen zwei unabhängigen Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test herangezogen.

5.2.5. Projekt IIb1

Anatomische Untersuchungen zur Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung

In drei Unterprojekten wurde im Rahmen einer stereotaktischen Operation das Transmitter-unspezifische Neurotoxin Chinolinat oder ein entsprechendes Volumen der Trägersubstanz bilateral in definierte Abschnitte des Präfrontalen Kortex (PFC) (Projekt IIb1.1.), des Hippocampus (Projekt IIb1.2.) oder der Amygdala (Projekt IIb1.3.) verabreicht. Nach einer zweiwöchigen post-operativen Erholungsphase mit OP-Nachsorge wurde ein Katalepsieversuch durchgeführt. Hierzu wurde in allen Teilprojekten eine Haloperidol-induzierte Katalepsie-Sensitivierung in einem Kontext A mit anschließendem Kontextwechsel in einem Kontext B und einem abschließenden Retest in Kontext A durchgeführt. Im Anschluss an diesen Verhaltensversuch wurden die Tiere dekapitiert. Ihre Gehirne wurden herauspräpariert und für die Anfertigung von transversalen Hirnschnitten im Kryostaten vorbereitet. Mit den Hirnschnitten wurde eine Nissl-Färbung durchgeführt, um die gefärbten Schnitte anschließend auf die Lage der durch die Chinolinat-Injektion verursachten Läsionen mit einem Binokular hin zu überprüfen.

5.2.5.1. Tiere und Behandlungsschema

Im Projekt IIb1.1. wurden der agranuläre insuläre (AI-) sowie der prälimbische (PrL-) PFC mit Chinolinat behandelt. Es wurden vier unterschiedliche Gruppen verwendet: Eine Tiergruppe erhielt eine bilaterale Chinolinat-Applikation im AI und eine Vehikel-Injektion mit phosphatgepufferter Salzlösung (engl.: *phosphate buffered saline*, PBS) im PrL-PFC (**AI-Chinolinat/PrL-Vehikel-Gruppe**), eine andere erhielt umgekehrt eine Chinolinat-Injektion im PrL-PFC und eine Injektion mit PBS im AI (**AI-Vehikel/PrL-Chinolinat-Gruppe**). Bei einer Tiergruppe wurde sowohl der AI als auch der PrL-PFC mit Chinolinat behandelt (**AI-Chinolinat/PrL-Chinolinat-Gruppe**), während eine vierte Tiergruppe sowohl im AI als auch im PrL-PFC eine Vehikel-Injektion erhielt (**AI-Vehikel/PrL-Vehikel-Gruppe**). Für das Projekt IIb1.1. wurden 60 Tiere operiert, 4 Tiere haben die Operation nicht überlebt. Von den verbleibenden 56 Tieren mussten nach der mikroskopischen Kontrolle der gefärbten Kryostatschnitte weitere 26 Tiere aussortiert werden, da die Läsionen nicht korrekt lokalisiert waren. Es verblieben insgesamt 30 Tiere mit folgender Gruppenverteilung; Für die **AI-Chinolinat/PrL-Vehikel-Gruppe**, die **AI-Vehikel/PrL-Chinolinat-Gruppe** und die **AI-Chinolinat/PrL-Chinolinat-Gruppe** jeweils $n=7$ und für die **AI-Vehikel/PrL-Vehikel-Gruppe** $n=9$. Im Projekt IIb1.2. wurde der Hippocampus zweier unterschiedlicher Versuchstiergruppen jeweils entweder im dorsalen (**dHipp-Chinolinat/vHipp-Vehikel-Gruppe**) oder ventralen (**dHipp-Vehikel/vHipp-Chinolinat-Gruppe**) Anteil bilateral mit Chinolinat behandelt, während in die entsprechend andere hippocampale Region bilateral PBS injiziert wurde. Die Tiere einer dritten Gruppe erhielten zur Kontrolle im dorsalen als auch ventralen Hippocampus eine bilaterale PBS-Injektion (**dHipp-Vehikel/vHipp-Vehikel-Gruppe**). Für das Projekt IIb1.2. wurden zunächst 64 Ratten operiert, 3 Tiere starben intraoperativ. Nach Überprüfung der gefärbten Kryostatschnitte mussten erneut 40 Tiere aus der Auswertung herausgenommen werden, da die gesetzten Läsionen fehlerhaft oder unvollständig waren. Somit wurden bei der Auswertung der Ergebnisse folgende Gruppengrößen berücksichtigt: Die Zahl der Tiere mit verwertbaren Daten lag bei jeweils $n=7$ für die **dHipp-Chinolinat/vHipp-Vehikel-Gruppe**, die **dHipp-Vehikel/vHipp-Chinolinat-Gruppe** und die **dHipp-Vehikel/vHipp-Vehikel-Gruppe**. Für die Untersuchungen zur Rolle der Amygdala bei der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung, wurde ein Vorversuch durchgeführt, deshalb wurde innerhalb dieses Projektes nur eine Versuchstiergruppe verwendet. Die Versuchstiergruppe sollte eine bilaterale Chinolinat-Injektion innerhalb der basolateralen Amygdala (BLA) erhalten (**Amygdala-Chinolinat-Gruppe**). Bei dem als Vorversuch angesetzten **Projekt IIb1.3.**, wurden insgesamt 8

Tiere operiert, eins verstarb intraoperativ, wodurch sieben Tiere bei den Verhaltensversuchen für die **Amygdala-Chinolinat-Gruppe** verwendet werden konnten. Die Auswertung der Hirnschnitte ergab, dass die Läsionen sich nicht exakt auf die gewünschte Region innerhalb der BLA beschränkten. Sechs der sieben verbleibenden Tiere sind in die statistische Auswertung mit einbezogen worden (**n=6**). Da die Chinolinat induzierten Läsionen sich innerhalb der Strukturen der Amygdala befanden (während dies bei einem weiteren Tier auszuschließen war) wurde die angegebene Gruppenbezeichnung (Amygdala-Chinolinat-Gruppe) gewählt und aufgrund der abweichenden Lage der Läsionen von der BLA nicht genauer kategorisiert.

5.2.5.2. verwendete Substanzen

5.2.5.2.1. zur Durchführung der stereotaktischen Operation

Narkose

Das zur Narkose verwendete Natriumpentobarbital (Narcoren, Merial, Halbergmoss, Deutschland) wurde in Injektionswasser auf eine Konzentration von 65mg/ml verdünnt. Die fertige Narcoren-Lösung wurde (i.p.) verabreicht.

Läsion

Das Neurotoxin Chinolinat (Quinolinat Tocris, Ballwin, USA) wurde in Phosphatgepufferter Saline (engl.: *phosphate buffered saline*, PBS) auf eine Konzentration von 59,99 nmol/µl verdünnt. Pro Mikroinjektionstelle wurde 1 µl der fertigen Chinolinatlösung verabreicht.

Operations-Nachsorge

Nach der Operation wurden die Tiere mit dem nicht-opioiden Analgetikum Carprofen (Rimadyl ®, Pfizer, Berlin, Deutschland) in einer, durch Saline verdünnten Konzentration von 5 mg/ml i.p. behandelt.

5.2.5.2.2. zur Durchführung des Verhaltenstest

Auslösung der Katalepsie

Das Neuroleptikum Haloperidol wurde in diesem Experiment mit Saline auf eine Konzentration von 0.25 mg/ml verdünnt und 60 Minuten vor dem Katalepsietest s.c. verabreicht.

5.2.5.2.3. zur Aufbereitung der Gehirne

Phosphatpuffer

Der Phosphatpuffer (PBS) mit der Endkonzentration von 0.2 M wurde aus zwei Stammlösungen hergestellt. Für die erste Stammlösung wurden 28,4 g Na_2HPO_4 (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) in 1000 ml destillierten Wasser (*aqua dest.*) gelöst. Für eine zweite Stammlösung wurden 31,2 g NaH_2PO_4 (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) in 1000 ml *aqua dest.* gelöst. Zur Herstellung der fertigen PBS-Lösung wurden 405 ml der Na_2HPO_4 -Lösung mit 95 ml der NaH_2PO_4 -Lösung vermischt und auf einen pH-Wert von 7,4 gebracht.

Paraformaldehyd zur Gewebefixierung

Zur Herstellung einer 8%igen Paraformaldehyd-Stammlösung wurden 160g Paraformaldehyd in 1200 ml *aqua dest.* auf maximal 65°C erwärmt. Es wurde so lange 50-100 µl NaOH hinzugefügt bis eine klare Lösung vorlag. Anschließend wurde die Lösung filtriert (Filterpapier, Macherey-Nagel, Typ MN 615 ¼, Ø 90 mm, Düren, Deutschland) und das Filtrat mit *aqua dest.* auf ein Endvolumen von 2000 ml aufgefüllt. Zur Herstellung der 4%igen gebrauchsfertigen Fixierlösung wurden gleiche Anteile der 8%igen Paraformaldehyd-Lösung und des PBS-Puffers gemischt. Nach Einstellung des pH-Wertes lag schließlich eine 4%ige Paraformaldehydlösung in 0.1 M PBS und einem pH von 7,4 vor.

Saccharose-Lösung als Frostschutz

Zur Herstellung einer 5%igen Saccharose-Lösung wurden 100 g Saccharose in 2000 ml PBS Puffer gelöst. Der PBS Puffer wurde wie oben beschrieben (mit entsprechend veränderten Volumina und Mengenangaben) angesetzt. Zur Herstellung einer 30%igen Saccharose-Lösung wurden entsprechend 600 g Saccharose in 2000 ml PBS gelöst.

5.2.5.2.4. zur Nissl Färbung mit Kresylviolettecht

Natriumacetatpuffer

Zur Herstellung des Natriumpuffers wurden 10,88 g Natriumacetat (Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland) in 400 ml *aqua dest.* gelöst, und mit 20,02 ml (reine Essigsäure, CH_3COOH) Eisessig (Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland) welches zuvor in 1500 ml *aqua dest.* verdünnt wurde, vermischt. Der pH Wert des Puffers wurde auf 3,8 eingestellt und zur Herstellung des fertigen Puffers ein Endvolumen von 2000 ml

aufgefüllt, welcher schließlich aus einem Teil Natriumacetat und aus vier Teilen Essigsäure bestand.

Kresylviolettecht-Lösung

Zur Herstellung der Färbelösung wurden 0,5 g Kresylviolettecht (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) unter leichtem Erwärmen (circa 40°C) und Rühren in 100 ml des oben beschriebenen Natriumacetatpuffers gelöst. Die Lösung wurde schließlich filtriert (Filterpapier, Macherey-Nagel, Typ MN 615 ¼, Ø 90 mm, Düren, Deutschland). und das Filtrat direkt in einer Färbewanne für Objektträger aufgefangen.

Alkoholreihe

Verwendet wurde Ethanol (EtOH) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) in den Konzentrationen 70, 80, 90, 96 und 100%. Die Ethanolgemische wurden durch die Verdünnung einer reinen EtOH- Lösung mit *aqua dest.* gewonnen.

Xylol

Das verwendete Xylol (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) wurde unverdünnt angewendet.

Gelatine

1,4g Kalium-III-Chrom-Sulfat ($\text{KCr}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) wurden mit einer Spatelspitze Thymol (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) gemischt und zunächst in 200 ml kaltem *aqua dest.* für 20 Minuten quellen gelassen. Anschließend wurde die Gelatine Lösung auf 60°C erhitzt und mittels Magnetrührvorrichtung gerührt. Die warme Lösung wurde filtriert (Filterpapier, Macherey-Nagel, Typ MN 615 ¼, Ø 90 mm, Düren, Deutschland). Das Filtrat stellte die fertige Gelatinelösung dar, welche für 2-3 Wochen im Kühlschrank (8°C) haltbar war.

Eindeckelmedium

Zum Einschließen der Proben mit Hilfe eines Deckglases (Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland) wurde das Einschlußmittel DPX (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) verwendet.

5.2.5.3. Stereotaktische Operation

Zehn Minuten bevor die Tiere in eine stereotaktische Apparatur eingespannt wurden, wurden sie mit einer Narcoren-Injektion i.p. anaesthetisiert. Die Narkosetiefe der Tiere wurde durch den sogenannten Zwischenzehenreflex getestet. Dabei wurde den Tieren vorsichtig in den Hautlappen zwischen den Zehen gekniffen - wenn sie dabei nicht mehr zuckten, war die Narkose tief genug und die Tiere konnten über die rechts und links vom Kopf angebrachten Ohrbalken des Stereotakten eingespannt werden. Der stabile Sitz des Kopfes in den Ohrbalken wurde überprüft. Der Kopf war genau dann stabil zwischen den Ohrbalken angebracht, wenn man ihn mit leichter Bewegung von dorsal nach ventral, nicht jedoch lateral bewegen konnte. Um eine mögliche Dyspnoe während der Narkosephase zu vermeiden, wurde die Zunge der Tiere mittels einer Sonde vorsichtig aus dem Schlund herausgezogen und seitlich hängend fixiert. Unter den Tieren wurde eine Heizdecke angebracht, um eine Auskühlung während des Eingriffs zu verhindern.

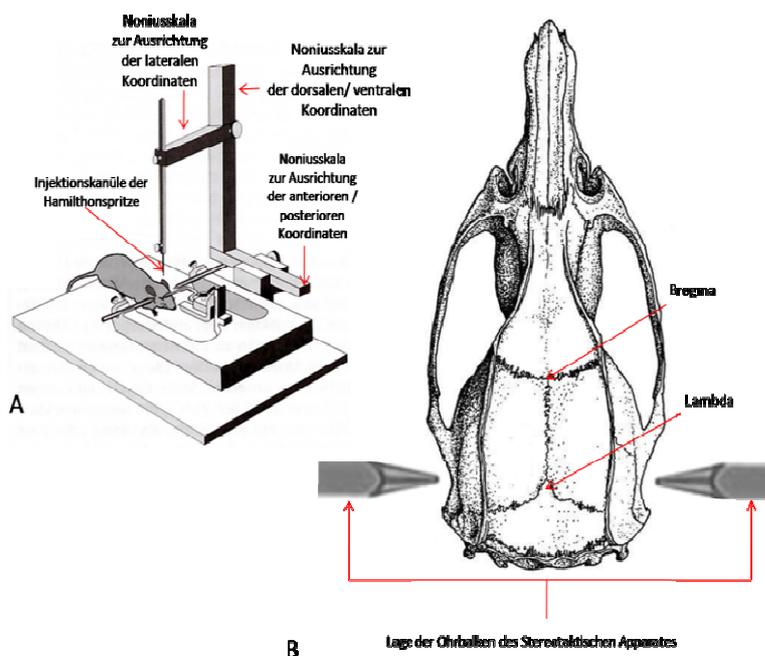


Abbildung 22 Schematische Darstellung der stereotaktischen Apparatur

Schematische Darstellung eines stereotaktischen Apparates (verändert nach (Pritzel et al., 2003) (A) und der Aufsicht auf den Schädel einer Ratte mit den Knochenkreuzen Bregma und Lambda (B), (verändert nach (Paxinos und Watson, 1998). Die Ratten wurden über Ohrbalken in den Stereotaktischen Apparat eingespannt. Zur Lokalisation der Zielkoordinaten einer Läsionsstelle, wurden bei jedem Tier zunächst die Koordinaten von Bregma ausgemessen, um von dort ausgehend die Zielkoordinaten zu ermitteln.

Zum Schutz der Augen vor Licht und Austrocknung wurden die Augenlider mit einer Augensalbe (Bepanthen, Bayer, Leverkusen Deutschland) eingecremt und mit einem Streifen Fliesspapier abgedeckt. Der Kopf des eingespannten Tieres wurde mit einer Haarschere rasiert. In die Kopfhaut wurde mit einem Skalpell (Bayha, Tuttlingen, Deutschland) ein circa 1 cm langer mittiger Schnitt gesetzt und die Ränder des Schnittes mit Operationsklemmen jeweils nach rechts und links von der Mitte aus weggeklappt. Der so frei gelegte knöcherne Schädel wurde anschließend von Knorpelresten und dem, von außen auf dem Schädel direkt aufliegenden, Periost (Pericranium) mit Hilfe eines

Skalpells befreit. Die Injektionskanüle, einer Hamiltonspritze (SGE, Victoria, Australien) (wurde auf das mit Bregma bezeichnete Knochenkreuz (Abbildung 22 B) aufgebracht und die anterior/posterior, lateralen sowie dorso-ventralen Koordinaten dieses Punktes mittels Noniusskala abgelesen. Von diesen Bregma-Koordinaten ausgehend wurden die Zielkoordinaten nach Tabelle 2, Tabelle 3 und Tabelle 4 ermittelt. An den ermittelten Zielkoordinaten wurde schließlich mit einem Gravurbohrer (Proxxon NG2/E; Niersbach, Deutschland) ein Loch gebohrt, das groß genug war um durch dieses die Injektionskanüle (mit einem Kanülendurchmesser von 23 Gauge) zu den Zielkoordinaten einzuführen.

Lokalisation der Chinolinat- / Vehikel- Injektion im PFC

Zielkoordinaten ausgehend von Bregma

Darstellung der Zielkoordinaten

agranulär insuläre Region

Richtung	Ziel
AP	+3,7 mm
L	±4,0 mm
V	-4,8 mm

prälimbische Region

Richtung	Ziel
AP	+3,7 mm
L	±0,6 mm
V	-3,8 mm

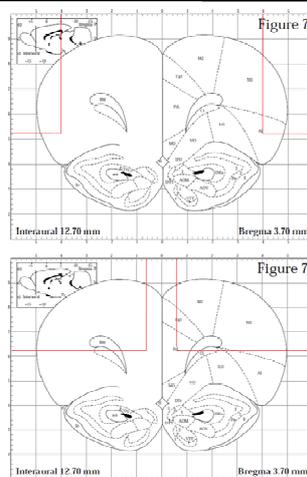


Tabelle 2

Zielkoordinaten im Projekt IIb1.1.

Darstellung der Zielkoordinaten im PFC in Transversalschnitt-Ebene verändert nach (Paxinos und Watson, 1997). Insgesamt gab es bei diesem Teilversuch vier Untergruppen. Eine erste Gruppe erhielt eine Chinolinat-Injektion in der agranulären insulären (AI) Region des PFC und eine Vehikel-Injektion mit PBS in der prälimbischen (PrL-) Region des PFC. Eine zweite Gruppe erhielt umgekehrt eine Chinolinat-Injektion im PrL-PFC und eine Vehikel-Injektion mit PBS in der AI Region des PFC. Zudem gab es eine Gruppe die sowohl in der PrL als auch in der AI Region des PFC eine Chinolinat-Injektion erhielt und eine Gruppe die in beiden Regionen eine Vehikel-Injektion mit PBS erhielt.

Nach dem Einbringen der Injektionskanüle in die entsprechende Läsionstiefe, wurde ein Volumen von je einem Mikroliter/ Läsionsort der jeweiligen Substanz langsam (über 2 Minuten hinweg) in die zu lädierende Stelle eingebracht. Zur Auslösung einer Läsion wurde dabei die Chinolinat verwendet, während bei einer Vehikel-Injektion das gleiche Volumen PBS verabreicht wurde. Die Injektionskanüle verblieb nach jeder Injektion für 6 Minuten in der Injektionsstelle. Dadurch sollte erreicht werden, dass das injizierte Volumen in ausreichendem Maß in den Injektionsort diffundiert und nicht durch die Kapillarkräfte der Kanüle wieder eingesaugt werden konnte. Nach der gesamten Injektionszeit von 8 Minuten wurde die Kanüle vorsichtig aus dem Läsionsort herausgezogen und die durchbohrte Schädeldecke mit Knochenwachs (Johnson & Johnson, St. Stevens, Woluwe, Belgien) verschlossen. Über die verschlossene Läsionsstelle wurde schließlich ein Antibiotikapuder (Nebacetin ®, Sandoz, Kundl, Österreich) aufgetragen. Die Kopfhaut wurde mit einem sterilen Operationsfaden (Johnson & Johnson, Brüssel, Belgien) und jeweils vier Stichen vernäht. Über die äußere

Naht wurde schließlich zur Desinfektion eine Jodtinktur (Braunol ®, Braun, Melsungen, Deutschland) aufgebracht. Damit die Tiere postoperativ nicht auskühlten wurden sie mit drei Lagen Fliesspapier umwickelt und vorsichtig in einen mit Einstreu gepolsterten Käfig gelegt. Nach der Operation erhielten sie drei Tage lang eingeweichte Futterpellets, Trinkwasser stand *ad libitum* zur Verfügung. Zur postoperativen Schmerzbehandlung erhielten die Tiere 5 mg/ml des Analgetikum Carprofen.

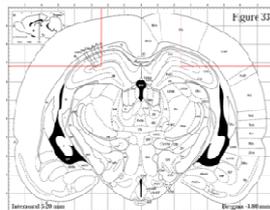
Lokalisation der Chinolinat- / Vehikel- Injektion im Hippokampus

Zielkoordinaten ausgehend von Bregma

Darstellung der Zielkoordinaten

dorsale Region

Richtung	Ziel
AP	-3.8 mm
L	±2.4 mm
V	-3.2 mm



ventrale Region

Richtung	Ziel
AP	-5.2 mm
L	±4.8 mm
V	-7.4 mm

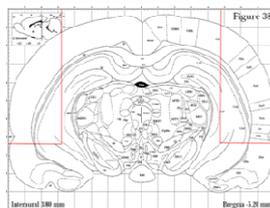


Tabelle 3 Zielkoordinaten im Projekt IIb1.2.

Darstellung der Zielkoordinaten im Hippocampus in der Transversalschnitt-Ebene verändert nach (Paxinos und Watson, 1997). Es wurden drei Untergruppen verwendet. Eine dieser Untergruppen erhielt in der dorsalen Hippocampusregion, eine andere in der ventralen Hippocampusregion eine Chinolinat-Injektion. Diese Gruppen erhielten jeweils an der anderen Region (also im ventralen oder dorsalen Hippocampus) eine PBS-Injektion. Eine dritte Gruppe erhielt in beiden Regionen eine PBS-Injektion.

Lokalisation der Chinolinat-Injektion in der Amygdala

Zielkoordinaten ausgehend von Bregma

Darstellung der Zielkoordinaten

basolaterale Region

Richtung	Ziel
AP	-2.8 mm
L	± 4.8 mm
V	-8.6 mm

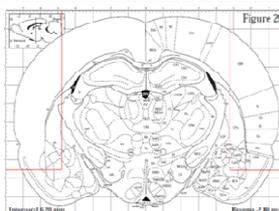


Tabelle 4 Läsionskoordinaten im Projekt IIb1.3.

Darstellung der Zielkoordinaten in der Amygdala in der Transversalschnitt-Ebene, verändert nach (Paxinos und Watson, 1997). In diesem Teilversuch wurde eine Gruppe verwendet, diese erhielt bilateral eine Chinolinat-Injektion in der hier angegebenen Zielregion.

Die Tiere wurden täglich gewogen. Wenn ihr Gewicht unter 240 g fiel, wurden sie zusätzlich mit einer Glucoselösung (Ionosteril ®, BAS, Fresenius Kabi, Homburg, Deutschland) i.p. behandelt und über eine Sonde mit Milchbrei (Bebivita, München, Deutschland) gefüttert.

5.2.5.4. Verhaltensversuch

In allen drei Teilversuchen wurde zunächst eine Sensitivierungsphase durchgeführt. Im Projekt IIb1.1. dauerte diese Phase 13 Tage, während im Projekt IIb1.2. für sechs Tage eine Sensitivierung durchgeführt wurde. Die Sensitivierungsphase im Projekt IIb1.3. umfasste sieben Tage. Während der Sensitivierungsphase wurden die Tiere aller Gruppen mit einer Haloperidol-Injektion (0.25 mg/ml, s.c.) behandelt und jeweils 60 Minuten später an einer Katalepsiestange auf ihre Abstiegslatenz hin überprüft. Während der gesamten Sensitivierungsphase wurde der Versuch in einem Kontext A durchgeführt. Jeweils einen Tag nach der Sensitivierungsphase (also im Projekt IIb1.1. an Tag 14, im Projekt IIb1.2. an Tag 7 und im Projekt IIb1.3. an Tag 8) wurden die Haloperidol-Injektion, in gleicher Dosis und Darreichungsform, sowie der 60 Minuten später folgende Katalepsietest in Kontext B durchgeführt. Am darauffolgenden Tag erfolgte ein erneuter Haloperidol-induzierter Katalepsietest in Kontext A.

5.2.5.5. Aufbereitung der Gehirne und Kryostatschnitte

Einen Tag nach Ende des Verhaltensversuchs wurden die Tiere mit einer Guillotine dekapitiert. Die Kopfhaut wurde mit einer Schere entfernt und die Schädeldecke zügig aufpräpariert. Das Gehirn wurde mit einer Sonde aus der Schädelhöhle heraus gehiebt und zur Reinigung in eiskalte Saline überführt. Danach wurden die Gehirne für vier Wochen in Paraformaldehyd (PFA) gelagert. Diese Zeit wurde genutzt, um Objektträger (Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland) zu gelatinieren. Hierzu wurde die oben beschriebene Gelatinelösung angesetzt und erwärmt. Die Objektträger wurden nun nacheinander in die Lösung gedippt und für eine Stunde getrocknet. Anschließend wurde der Vorgang wiederholt. Alle verwendeten Objektträger waren somit doppelt gelatinisiert. Nach einer vierwöchigen Inkubationszeit wurden die Gehirne aus der PFA-Lösung herausgenommen und für 24 Stunden in eine 5%ige Saccharoselösung überführt. Anschließend wurden sie in eine 30%ige Saccharoselösung eingebracht. Der durch diese Behandlung bezweckte Frostschutz des Gehirngewebes war erst dann gewährleistet, wenn die Gehirne vollständig mit der 30%igen Saccharoselösung durchtränkt waren. Als Indikator hierzu diente das Absinken auf den Gefäßgrund. Erst dann wurden die Gehirne zur Lagerung vorbereitet. Hierzu wurden die abgesunkenen Gehirne zunächst für 4 Minuten auf kleingemahlenem Trockeneis schockgefroren, anschließend in Alufolie gewickelt und in eine -20°C Truhe überführt. Die 40 µm dicken Gehirn-Schnitte wurden mit einem Kryostaten (2800 Frigocut-N, Reichert-Jung, Heidelberg, Deutschland) angefertigt. Hierzu wurden die Gehirne zunächst durch

Abtrennung des Zerebellums auf einer vorgekühlten Metallplatte mit einem gekühlten Skalpell auf der posterioren Seite, in Blockform abgeebnet (Blocken des Gehirns). Die abgeblockte Seite wurde anschließend mit Einbettmedium (tissue freezing medium, Jung, Wetzlar, Deutschland) auf einen Kühlkopf aufgebracht. Der mit dem Gehirn bestückte Kühlkopf wurde schließlich für 20 Minuten in den Kryostaten eingebracht, um einen festen Halt des Gehirnes auf dem Kühlkopf zu gewährleisten. Nach dem Festfrieren des Gehirnes wurde der Kühlkopf in die Schneideapparatur eingebracht und die Kryostatschnitte bei einer Temperatur von -19 bis -21°C angefertigt; diese wurden anschließend auf den gelatinierten Objektträgern aufgetragen. Schnitte die sich durch den Schneidevorgang eingerollt hatten wurden mittels feinen Pinsels vor der Aufnahme auf den Objektträger geglättet.

5.2.5.6. Nisslfärbung und Binokulare Auswertung

Um die Chinolinat-induzierten Läsionen verifizieren zu können, wurden Nisslfärbungen⁵⁶ angefertigt. Hierzu wurden die Schnitte auf den Objektträgern zunächst für 24 Stunden in einer 70%igen Ethanol-Lösung inkubiert und anschließend zur weiteren Dehydrierung für jeweils 5 Minuten in einer Alkoholreihe (einmal 90 und zweimal 100% EtOH) gelagert. Anschließend wurden die Schnitte zur Deparaffinierung für 10 Minuten in Xylol inkubiert. Zur Hydrierung wurden die Hirnschnitte anschließend jeweils für 4 Minuten in einer absteigenden Alkoholreihe (von jeweils 100, 80 und 70% EtOH) inkubiert. Vor der fünfminütigen Inkubation in dem eigentlichen Farbstoff wurden die Schnitte für 4 Minuten in *aqua dest.* gewaschen. Um eine Überfärbung zu verhindern wurden die Präparate nach der Färbung mit Natriumacetatpuffer abgespült und in einer weiteren aufsteigenden Alkoholreihe (70%, 96% mit einem Spritzer Eisessig und zweimal 100% EtOH) dehydriert. Abschließend erfolgte eine zweimalige, jeweils zehnminütige Inkubation in frischer Xylollösung. Nach dem letzten Inkubationsbad wurden die Objektträger mit DPX beträufelt und die auf ihnen befindlichen Gehirnschnitte mit Deckgläsern möglichst Luftblasen-frei abgedeckt. Die fertigen Präparate wurden zwei Tage lang getrocknet und danach lichtmikroskopisch ausgewertet. Bei dieser Auswertung wurden Ausmaß und Lokalisation der Läsionen anhand von schematischen Darstellungen der Schnittebenen in Abbildungen des Hirnanatomischen Atlas von Paxinos und Watson (Paxinos und Watson, 1997) skizziert. Bei der Endauswertung der Daten wurden schließlich nur die Tiere der Gruppen berücksichtigt, deren Läsionen im Bereich der vorgesehenen Zielkoordinaten zu finden waren. Die Daten der Gruppen mit Scheinläsionen wurden

⁵⁶ Dieses nach seinem Entwickler, Franz Nissl (Kischka et al., 1997) benannte Verfahren beruht auf der Eigenschaft des basischen Farbstoffes Kresylviolett die im Soma der Neuronen vorkommende ribosomale RNA des rauen endoplasmatischen Reticulums (Kandel et al., 1995) anzufärben.

dementsprechend nur dann in der Endauswertung berücksichtigt, wenn sie keinerlei Läsionen zeigten.

5.2.5.7. Statistische Auswertung

Alle angegebenen Daten stellen den Mittelwert \pm S.E.M. dar. Die Daten des Projektes IIb1.1. wurden dabei ab Tag 2 bis Tag 13 paarweise gemittelt. Diese Mittelung erfolgte aufgrund externer (akustischer) Störfaktoren. Zur Analyse des Sensitivierungsverlaufs wurde für dieses Projekt eine Friedman-ANOVA über folgende Messpunkte berechnet; Tag 1, Messpunkt A (gemittelt aus Messwerten der Tage 2 und 3), Messpunkt B (gemittelt aus Tag 4 und 5), Messpunkt C (gemittelt aus Tag 6 und 7), Messpunkt D (gemittelt aus Tag 8 und 9), Messpunkt E (gemittelt aus Tag 10 und 11), Messpunkt F (gemittelt aus Tag 12 und 13). Zur Analyse des Sensitivierungsverlaufs des Projektes IIb1.2. wurde für die ersten sechs Tage, und für selbige Analyse im Projektes IIb1.3. für die ersten sieben Tage eine Friedman-ANOVA durchgeführt. Die Verhaltensdaten der Tage/Messpunkte vor und nach dem Kontextwechsel (der in allen drei Unterprojekten einen Tag nach der Sensitivierung stattfand) wurden innerhalb einer Tiergruppe mittels Wilcoxon-Test mit den Verhaltensdaten am Kontextwechsel sowie untereinander verglichen.

5.2.6. Projekt IIb2

Untersuchung zur Auswirkung einer serotonergen Läsion im präfrontalen Kortex in Bezug auf die Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung

Im Rahmen einer stereotaktischen Operation wurde das serotonerge Neurotoxin 5,7-Dihydroxytryptamin (5,7-DHT) (oder die entsprechende Trägersubstanz) bilateral in den prälimbischen Anteil (PrL-) des PFC injiziert. Nach einer postoperativen Erholungsphase wurde ein achttägiger Katalepsieversuch durchgeführt. Um die Wirkung des serotonergen Neurotoxins zu verifizieren wurden Gewebeproben des PFC, des Hippocampus, des anterioren und posterioren Caudate Putamen sowie des Nucleus accumbens entnommen. Mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (engl. *high performance liquid chromatography*, HPLC) wurden diese Gewebeproben anschließend auf ihren serotonergen und dopaminergen Neurotransmittergehalt und den Gehalt an zugehörigen Metaboliten überprüft.

5.2.6.1. Tiere und Behandlung

Insgesamt wurden 48 Tiere operiert, 15 Tiere starben während der (oder im Anschluß an die) Operation, die verbliebenen 33 Tiere waren auf die vier nachfolgend beschriebenen Gruppen aufgeteilt. Zwei der vier Tiergruppen erhielten innerhalb der stereotaktischen Operation eine bilaterale Applikation des serotonergen Neurotoxins 5,7-DHT (pro Injektionsstelle wurden je 1 µl zu 6 µg 5,7-DHT verabreicht) innerhalb des PrL-PFC. Eine der beiden mit 5,7-DHT behandelten Gruppe wurde 60 Minuten vor dem Katalepsietest mit Haloperidol (0.25 mg/ml, s.c.) behandelt (**5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe, n=9**), die andere Gruppe erhielt zum selben Zeitpunkt eine Saline-Injektion (**5,7-DHT/Saline-Gruppe, n=10**). Den Gruppen die keine 5,7-DHT-Injektion erhielten, wurde stattdessen während der stereotaktischen Operation das entsprechende Volumen 0,1 %iger Ascorbinsäure injiziert. Eine dieser Gruppen erhielt während des Verhaltenstest 60 Minuten vor dem Katalepsietest eine Haloperidol-Injektion (0.25mg/ml, s.c.) (**Vehikel/Haloperidol-Gruppe, n=8**), während die zweite dieser Gruppen 60 Minuten vor dem Verhaltenstest eine Saline-Injektion (s.c.) erhielt (**Vehikel/Saline-Gruppe, n=6**).

5.2.6.2. verwendete Substanzen

5.2.6.2.1. stereotaktische Operation

Narkose

Das zur Narkose verwendete Natriumpentobarbital (Narcoren, Merial, Halbergmoss, Deutschland) wurde in einer Konzentration von 65 mg/ml, i.p. verabreicht.

Läsion

Das auf serotonerge Neurone wirksame Toxin 5,7-Dihydroxytryptamin (5,7-DHT) wurde mit 0.1%iger Ascorbinsäure in einer Konzentration von 6 µg/µl verdünnt. Dies ist genau die Konzentration, die während der stereotaktischen Operation pro Injektionsstelle bilateral appliziert wurde. Da die neurotoxische Spezifität von 5,7-DHT und der Aufnahmemechanismus in serotonerge Neurone nicht abschließend geklärt sind (Baumgarten et al., 1981; Choi et al., 2004), wurden zum Schutz der dopaminergen und noradrenergen zum einen der Dopamin-Wiederaufnahmehemmer Nomfensin (in einer Konzentration von 10 mg/ml (i.p., gelöst in isotonischer Kochsalzlösung)) und zum anderen der selektive noradrenerge-Wiederaufnahmehemmer Desipramin (i.p., in einer Konzentration von 20 mg/ml isotonischer Kochsalzlösung) 30 Minuten präoperativ

verabreicht. (Alle in diesem Abschnitt genannten Substanzen wurden von Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland bezogen).

Nachsorge

Die Tiere wurden post-operativ mit dem nicht-opioiden Analgetikum Carprofen (Rimadyl[®], Pfizer, Berlin, Deutschland) in einer, durch Saline verdünnten Konzentration von 5 mg/ml i.p. behandelt.

5.2.6.2.2. Verhaltensversuch

Katalepsie

Das Neuroleptikum Haloperidol wurde in diesem Experiment mit Saline auf eine Konzentration von 0.25 mg/ml verdünnt.

5.2.6.2.3. HPLC- Auswertung

Innerhalb der HPLC Analyse wurden die zu analysierenden Proben in einem internen Standard in der Form aufbereitet, dass sie in einem Eluationsmittel (mobile Phase, Eluent) gelöst und mit diesem durch eine Trennsäule (stationäre Phase) gepumpt werden konnten. In der stationären Phase erfolgte schließlich die Auftrennung der molekularen Bestandteile der Probe. Um die einzelnen Bestandteile identifizieren und die Menge dieser in der jeweils gemessenen Probe quantifizieren zu können, wurde ausserdem ein externer Standard mit genau definierten Mengen der in den Proben gesuchten molekularen Bestandteile vermessen.

Mobile Phase

Durch die Zusammensetzung des Eluents wurde gewährleistet, dass die in den Proben enthaltenen Transmitter und Metaboliten beim Durchlaufen der apolaren, stationären Phase unterschiedlich lange in dieser verweilten (unterschiedliche Retentionszeiten⁵⁷ besaßen). Innerhalb des Eluents sorgten mehrere Substanzen für die Einstellung der Retentionszeit. Zum einen wurde die Retentionszeit allgemein eingestellt, indem man den Anteil des im Eluent enthaltenen organischen Lösungsmittels (Methanol, MetOH, VWR BDH Prolabo, Leuven, Belgien) auf 3,5% einstellte (höhere Anteile führen zu einer kürzeren Retentionszeit). Zum anderen sorgte ein niedriger pH-Wert von 4,5 dafür, dass die in der Probe enthaltenden Säuren länger in der stationären Phase verweilten. Die Retentionszeit der Amine wurde durch Natrium-octan-1-Sulfonat (OSA, Sigma-Aldrich,

⁵⁷ Die Substanzen im Eluent, die eine höhere Apolarität besaßen als andere hatten im Gegensatz zu diesen eine entsprechend längere Retentionszeit in der apolaren, stationären Phase.

Steinheim, Deutschland) eingestellt. Insgesamt hatten 1000 ml Eluent die in **Tabelle 5** beschriebene Zusammensetzung. Die angegebenen Mengen an Natriumdihydrogenphosphat (NaH_2PO_4 , Merck, Deutschland), 10%ige Phosphorsäure (H_3PO_4 , ortho-Phosphorsäure, Fluka, Deutschland), Acetonitril (MeCN, Sigma-Aldrich, Deutschland), Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA, Fluka, Deutschland), OSA und Methanol (MetOH, Merck, Deutschland). Das Endvolumen wurde mit sterilem und partikelfreiem „HPLC-Wasser“ (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) auf 1000 ml aufgefüllt und auf einen der pH-Wert von 4,5 eingestellt.

Substanz	Angabe der jeweiligen Masse oder Volumen auf je 1000 ml Endvolumen
NaH_2PO_4	6 g
10 % ige H_3PO_4	71 μl
MeCN	30 ml
EDTA	48 mg
OSA	30 mg
MetOH	30 ml

Tabelle 5 **Zusammensetzung Eluent**

Massen- und Volumenangaben der Substanzen die für ein mit „HPLC-Wasser“ aufgefülltes Endvolumen von 1000 ml Eluent verwendet wurden.

Der so angesetzte Eluent wurde durch eine Vakuumpumpe (Sartorius Stedim, Biotech, Göttingen, Deutschland) ultrafiltriert (Durapore®, Typ GVWP, Porengröße 0,22 μm , Millipore, Billerica, USA). Schließlich wurde das Filtrat für 15 Minuten im Ultraschallbad (Sonorex Super RK 255H, Bandelin, Berlin, Deutschland) entgast.

Externer Standard

Im externen Standard befanden sich definierte Mengen eines Gemisches aus Dopamin (DA) und dopaminergen Metaboliten 3,4-Dihydroxyphenylethylsäure (DOPAC), Homovanillinsäure (HVA) und 3-Methoxytyramin (3-MT), sowie Serotonin (5-HT) und dem serotonergen Metaboliten 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA). Zudem wurde 3,4-Dihydroxybenzylaminehydrobromid (DHBA) als Referenzsubstanz verwendet (alle Substanzen von Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland). Zur Herstellung der gebrauchsfertigen Standardlösung wurden aus den einzelnen Substanzen zunächst diverse Stammlösungen angesetzt, für welche je 1 mg der oben angegebenen

Substanzen in einem Milliliter Eluent gelöst wurden. Die gewünschte Endkonzentration der einzelnen Substanzen lag bei 100 pg/20 µl Schleifenvolumen und wurde durch zahlreiche Verdünnungsstufen erreicht. Der externe Standard wurde schließlich auf ein Endvolumen von 10 ml angesetzt, mittels Vakuumpumpe (Sartorius Stedim, Biotech, Göttingen, Deutschland) ultrafiltriert (Durapore®, Typ GVWP, Porengröße 0,22 µm, Millipore, Billerica, USA) und mit Volumina von 200 µl auf 50 Probengefäße aliquotiert und eingefroren.

Interner Standard zur Probenaufbereitung

Zur Verdünnung der zu vermessenden Proben wurde die interne Standardlösung verwendet, welche aus einem Gemisch von DHBA und dem Eluent hergestellt wurde. Hierzu wurde in einer Stammlösung die DHBA-Konzentration zunächst auf 1 mg/ml eingestellt, durch weitere Verdünnungsschritte hatte die gebrauchsfertige Lösung eine Konzentration von 100 pg DHBA/20 µl Schleifenvolumen. Je nach Gewebe und entsprechend höherem oder niedrigerem Proteinanteil wurde der interne Standard während der späteren Aufbereitung der Proben mit dem Eluent verdünnt. Für die Auswertung des Striatums wurde die Stammlösung mit einem Faktor von 1:10, für die Auswertung des Nucleus accumbens und des Hippocampus mit einem Faktor von 1:2 verdünnt. Zur Auswertung der Proben des präfrontalen Kortex wurde der interne Standard unverdünnt angewendet. Bis zur Probenaufbereitung wurden jeweils 600 µl des internen Standardes auf Probengefäße aliquotiert und eingefroren.

5.2.6.3. Stereotaktische Operation

Die Vorgehensweise der Stereotaktischen Operation und der Nachsorge entsprach mit Ausnahme des verwendeten Neurotoxins (5,7-DHT statt Chinolinatsäure) der Beschreibung in Projekt IIb1. Die Zielkoordinaten wurden in Anlehnung an das Projekt IIb1.1. gewählt und lagen ausgehend von Bregma, bei +3,7 mm AP, ± 0,6 mm L und -3,8 mm V.

5.2.6.4. Verhaltensversuch

Die Tiere aller Gruppen wurden jeweils für sechs Versuchstage in einem Kontext A sensitiviert. Hierzu erhielten die operierten Tiere nach einer vierwöchigen Erholungsphase eine tägliche Haloperidol- (5,7-DHT/Haloperidol- und Vehikel/Haloperidol-Gruppe), respektive Saline-Injektion (5,7-DHT/Saline- und Vehikel/Saline-Gruppe) und wurden jeweils 60 Minuten später zunächst am Gitter,

anschließend an der Stange der Katalepsie-Apparatur auf Ihre Abstiegslatenz hin getestet. Am siebten Tag erfolgte die gleiche zeitliche Abfolge und Art der Substanzapplikation mit anschließendem Katalepsietest in einem Kontext B (Kontextwechsel). Zum Abschluß des Verhaltensexperimentes wurde am achten Tag ein Retest unter den Sensitivierungs-Bedingungen des Kontext A durchgeführt.

5.2.6.5. Aufbereitung der Gehirne, HPLC-Analyse und Auswertung der Daten

Aufbereitung der Gehirne

Die Tiere wurden einen Tag nach dem Verhaltensversuch mittels Guillotine dekapitiert. Anschließend wurden Kopfhaut und Schädeldecke zügig wegpräpariert. Das Gehirn wurde mit einer Sonde aus der Schädelhöhle herauspräpariert und zur Reinigung in ein Becherglas mit auf Eis gekühlter Saline überführt. Anschließend wurde jedes Gehirn mit der dorsalen Seite nach unten in einen vorgekühlten Schneideblock gelegt und in Anlehnung an eine Publikation von Heffner und Kollegen (Heffner et al., 1980) durch von ventral nach dorsal eingeschobene Rasierklingen geschnitten. Die so erstellten Gehirnschnitte hatten eine Schnittdicke von 1,5 bis 2 mm und sind in **Abbildung 23** schematisch dargestellt.

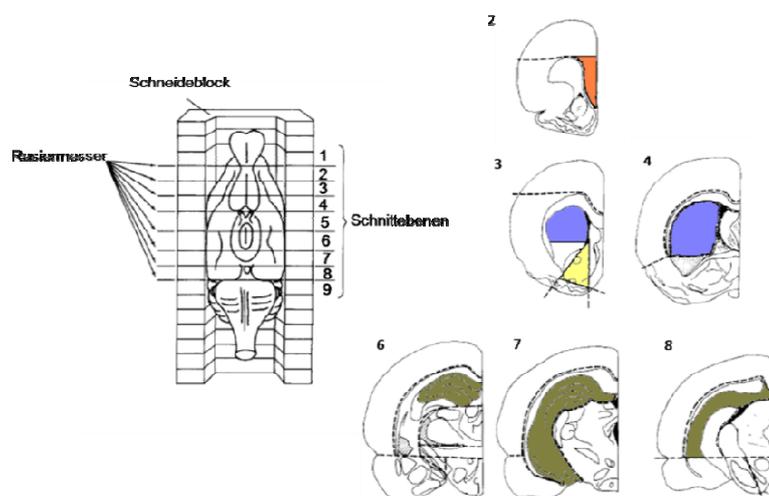


Abbildung 23 Gewebeentnahme zur HPLC Analyse

Die Gewebeproben des präfrontalen Kortex sind in Schnittebene 2 links und durch die orange Markierung rechts dargestellt, die des anterioren Caudatoputamen in Schnittebene 3 (blaue Markierung), die des posterioren Caudatoputamen in Schnittebene 4 (blaue Markierung) die dem Nucleus accumbens entnommenen Gewebeproben sind in Schnittebene 3 dargestellt (gelbe Markierung) die dem Hippocampus entnommenen Proben in Schnittebene 6-8, (khakifarbene Markierung). Während die Darstellung der Schnittebenen in dieser Abbildung unilateral ist, wurden alle Gewebeproben bilateral entnommen verändert nach (Heffner et al., 1980).

Zunächst wurde ein Messer in Höhe der anterioren Kommissur (Schnittebene die den Schnitt 4 in posteriore Richtung begrenzt) gesetzt. Dieser erste Schnitt galt als

Referenzebene. Anterior zu diesem Schnitt wurde anschließend Schnitt 4 durch den Einschub eines weiteren Messers 1,5 mm komplettiert. Die ebenfalls 1,5 mm dicken Schnitte 2 und 3 wurden durch weitere Messereinschübe oberhalb des jeweils letzten Schnittes erstellt. Anschließend wurden hintereinander in Abständen von 2 mm zwei Messer posterior zur Referenzebene eingeschoben. Diesen folgten noch weiter posterior im Abstand von jeweils 1,5 mm zwei weitere Messereinschübe. Für die im Anschluß beschriebene HPLC wurde Gewebe aus sechs dieser Schnittebenen (Schnittebene 2,3,4,6,7 und 8) mit Hilfe eines Skalpells ausgeschnitten. Die entnommenen Gewebeproben stammten aus dem präfrontalen Kortex (Schnittebene 2, Markierung orange), dem anterioren Caudatoputamen (Schnittebene 3, blaue Markierung), dem posterioren Caudatoputamen (Schnittebene 4, blaue Markierung), dem Nucleus accumbens (Schnittebene 3, gelbe Markierung) sowie dem Hippocampus (Schnittebene 6-8, khakifarbene Markierung). Das Nassgewicht wurde zügig gewogen, anschließend wurden die Gewebeproben durch Einfrieren in einem Cryoröhrchen (43 mm, 1,2 ml, Mercateo, München, Deutschland) in flüssigem Stickstoff (bei -196°C) konserviert.

HPLC-Analyse

Aufbereitung der Gewebeproben

Vor Beginn der Probenaufbereitung und deren Analyse wurden an jedem Messtag zunächst 100 µl des Eluents und 100 µl des externen Standards in der HPLC-Apparatur vermessen. Im Anschluß wurden 10 Proben nacheinander aufbereitet und gemessen, bevor abermals die Vermessung eines externen Standards folgte. Diese Messreihenfolge wurde täglich dreimal wiederholt. Die in flüssigem Stickstoff gefrorenen Gewebeproben wurden zunächst mit einem ebenfalls in flüssigem Stickstoff vorgekühlten Spatel an den Gefäßboden des Cryoröhrchens geschoben, in dem sie bis zur Aufbereitung aufbewahrt wurden. Anschließend wurden 500 µl des internen Standards hinzugefügt und die Proben wurden für 20 Sekunden bei 16000 rpm durch einen Dispenser (Silent Crusher M, Heidolph Instrumental GmbH, Schwabach, Deutschland) homogenisiert. Das Homogenisat wurde in ein vorgekühltes, frisches Probengefäß überführt. Dieses wurde anschließend für eine Minute bei 8000 rpm zentrifugiert (Beckmann Microfuge ETM, Buckinghamshire, Großbritannien). Nun wurde entsprechend der gewebespezifischen Verdünnung ein bestimmtes Volumen an Überstand in ein weiteres vorgekühltes Probengefäß pipettiert. Für die 1:10 Verdünnung (Gewebe des anterioren und posterioren Caudatoputamen) wurden schließlich 100 µl des Überstandes mit 900 µl des Eluents zusammen in ein neues Probengefäß pipettiert, für die 1:2 Verdünnung (Gewebe

des Nucleus accumbens und des Hippocampus) entsprechend jeweils 500 µl des Überstandes und des Eluents und für die unverdünnte Aufbereitung (PFC) waren es 1000 µl der Probe. Diese Ansätze wurden gemischt und anschließend mit der Kanüle einer 5 ml Spritze (servopax ® GmbH, Wesel, Deutschland) aufgenommen. Die Kanüle wurde anschließend verworfen und gegen einen Filter (Rotilabo®-Spritzenfilter 13 mm, Porengröße 0,45 µm, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland) ausgetauscht. Über den Filter wurde das in der Spritze enthaltene Volumen in einem frischen Probengefäß aufgefangen. Von dem Filtrat wurden schließlich 100 µl in ein HPLC-Messgefäß überführt und in den Autosampler des HPLC-Analysekreislaufs (Abbildung 24) eingebracht.

HPLC-Messung

Im HPLC-Analysekreislauf wurde die **mobile Phase** (Eluent) mit Hilfe einer HPLC-Pumpe (Bischoff HPLC Pump, Leonberg, Deutschland) durch die **stationäre Phase**, einem **Silicagel-Säule** (*reversed-phase* C18-Säule mit hydrophilem *endcapping*, Grom-Sil 120 ODS-4HE 3,0 µm, 60 x 2 mm, Altech Grom GmbH, Rottenburg, Deutschland) befördert. Die Flußgeschwindigkeit der mobilen Phase lag bei 0,25 ml/Minute. Die zu messenden Proben wurden über die Einspritzanlage des **Autosamplers** in den Analysekreislauf eingebracht. Bevor die mobile Phase zur Aufnahme der Proben zum Autosampler gelangte, wurde sie über einen **Pulsationsdämpfer** (ERC, Riemerling, Deutschland) und eine **Guard-Zelle** (Guard Cell, Model 5020, ESA, USA) geleitet (Abbildung 24). Die Aufgabe des Pulsationsdämpfers bestand darin, mögliche Druckschwankungen der HPLC-Pumpe auszugleichen, während die Guard-Zelle Verunreinigungen mittels hoher elektrischer Spannung (von +450 mV) aus der mobilen Phase durch Oxidation entfernte. Die so vorbehandelte mobile Phase durchlief schließlich den Autosampler, und nahm 20 µl der entsprechenden Probe in den nachfolgenden Analysekreislauf auf. Zwischen den einzelnen Probeentnahmen aus dem Autosampler wurde dieser mit HPLC Wasser gereinigt. Um die Analyse der Proben, die nach der Aufbereitung unterschiedlich lang im Autosampler verweilten, nicht durch Temperaturschwankungen zu beeinträchtigen, wurde dieser stets durch einen **Kühlmechanismus** auf einer konstanten Betriebstemperatur von 4°C gehalten. Bevor die mit der Probe beladene mobile Phase nun in eine Silicagel Säule gepumpt wurde, durchlief sie eine **Vorsäule**; diese diente der Beseitigung von physikalischen Verunreinigungen, welche die anschließenden Analysen der Proben in der Silicagel Säule hätten behindern können. Beide Säulen wurden mittels **Thermostat** eines Säulenofens (ERC Jetstream 2 Plus, Model 190419, ERC, Riemerling, Deutschland), auf

eine Betriebstemperatur von konstanten 25°C gehalten. Die in der Silicagel Säule angelangten Proben wurden durch die unterschiedliche Lipophilie der einzelnen Bestandteile aufgetrennt und verließen die Säule mit einer entsprechenden Retentionszeit.

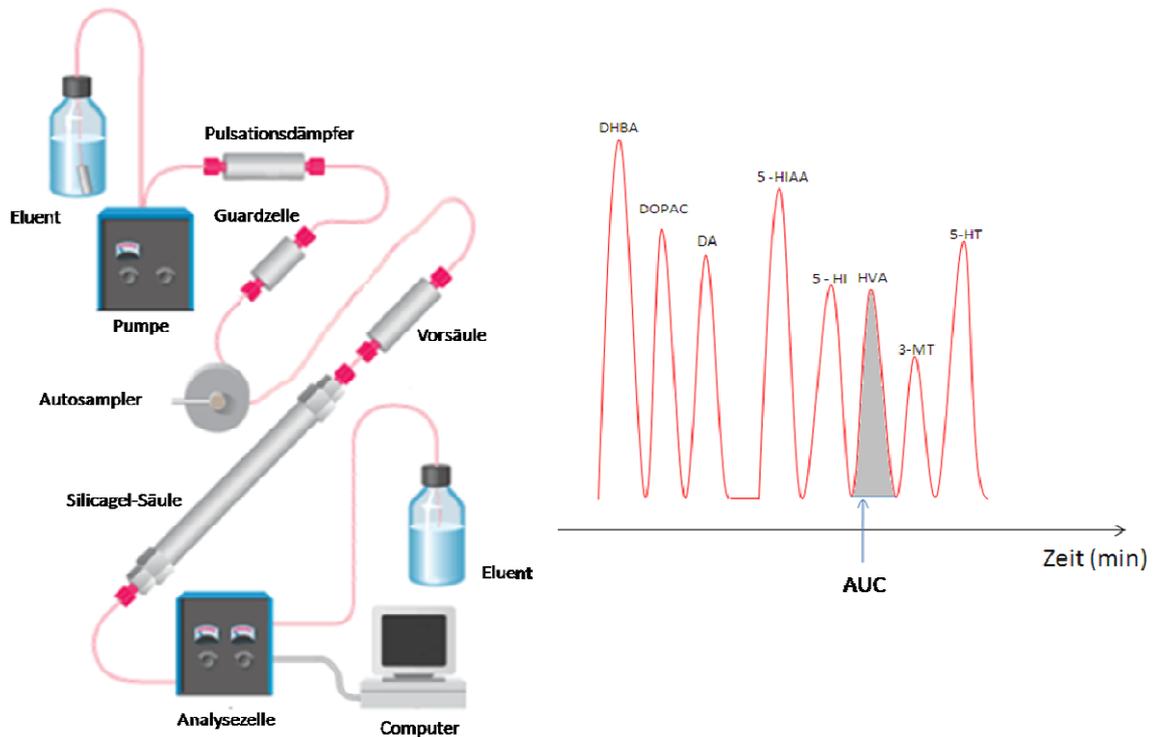


Abbildung 24 HPLC-Analysekreislauf und Schema zur Auswertung eines HPLC-Chromatogramms

Der links dargestellte Aufbau der HPLC Apparatur wurde verändert nach⁵⁸ und wird im Fließtext beschrieben. Das Schema rechts soll die bei der HPLC detektierten Peaks, die zur Analyse der Neurotransmitter- (und Metaboliten-) Mengen innerhalb der Gewebeprouben dienen, verdeutlichen. Im zeitlichen Verlauf wurden die Substanzen mit der kürzesten Retentionszeit zuerst (rechtsseitige Peaks, Serotonin), die mit den längeren Retentionszeiten (linksseitige Peaks, die längste Retentionszeit hatte DHBA) später detektiert. Das Integral der unter dem HVA-Peak dargestellten Flächen (graue Markierung, bezeichnet mit AUC) wurde zur Mengenbestimmung der entsprechenden Substanz herangezogen.

Die Analysezone (Model 5011A analytical cell, ESA, USA) detektierte die austretenden Substanzen schließlich elektrochemisch. Eine erste Elektrode der Analysezone reduzierte die Substanzen durch eine Spannung von -100 mV, während sie durch eine zweite Elektrode mit einer Spannung von +320 mV oxidiert wurden. Die elektrischen Signale, die bei diesem Verfahren entstanden, wurden schließlich an einen Computer gesendet, wo sie durch die Analysesoftware Chrom Star Light (Version 6.3, SCPA GmbH Deutschland) als HPLC-Chromatogramme dargestellt und ausgewertet wurden.

⁵⁸ verändert nach folgendem link : <http://www.idex-hs.com/support/upchurch/i/hplcDiagram.gif>

Auswertung der HPLC Chromatogramme

Durch die Analysesoftware wurde die Zeit ermittelt, die während der Passage der Neurotransmitter Dopamin, Serotonin und den zugehörigen Metaboliten von der Injektion in das HPLC System bis zur Detektion durch die Analysezelle verging (Retentionszeit). Da die Retentionszeiten der externen Standardlösung genau definiert waren, wurden sie als Referenz verwendet um die Peaks der anschließend gemessenen Proben den entsprechenden Neurotransmittern und ihren Metaboliten zuordnen zu können. Die von dem Programm automatisch durchgeführte Integration der unter den einzelnen Peaks liegenden Flächen (Abbildung 24) (engl.: *area under the curve*; AUC) (von der Peakspitze bis zur Baseline) korreliert mit der Menge der zu bestimmenden Substanz. Der Vermessung von maximal 10 Gewebeproben ging jeweils die Vermessung eines externen Standards (ST1) voraus. Auch im Anschluss an die Gewebeprobenmessung wurde stets ein externer Standard (ST2) vermessen. Zur Ermittlung des Korrekturfaktors (KF), welcher spezifische Analyseunterschiede ausgleichen sollte, wurde folgendermaßen verfahren: Die AUC-Werte der Referenzsubstanz DHBA beider die Messwerte „umrahmenden“ Standards ($AUC_{DHBA-ST1}$ und $AUC_{DHBA-ST2}$) wurden jeweils in Relation zu den AUC-Werten der Neurotransmitter (NT), oder Metaboliten (MB); (AUC_{NT} (oder MB) – ST1 sowie $AUC_{(NT \text{ oder MB})-ST2}$) in den jeweiligen Standards gesetzt. Anschließend wurde der Mittelwert aus beiden Quotienten gebildet, dieser schließlich als Korrekturfaktor verwendet **(1)**.

$$(1) \quad KF = \frac{\left[\frac{AUC_{[NT(oder MB)ST1]} + AUC_{[NT(oder MB)ST2]}}{AUC_{[DHBA]ST1}} + \frac{AUC_{[NT(oder MB)ST2]}}{AUC_{[DHBA]ST2}} \right]}{2}$$

Der so ermittelte Korrekturfaktor wurde für die nachfolgende erste Berechnung zur Ermittlung der Menge an Neurotransmittern (bzw Metaboliten) in den jeweiligen Gewebeproben (GP) herangezogen. Hierzu wurde zunächst jeweils die AUC der Neurotransmitter (oder Metaboliten) (AUC_{NT} (oder MB)-GP) einer GP zu der AUC des internen DHBA Standard dieser GP ($AUC_{DHBA-GP}$) in Relation gesetzt und mit Hilfe des KF die Menge der Neurotransmitter (bzw. ihrer Metaboliten) berechnet, die innerhalb des Schleifenvolumens (SV) von 20 μ l vorlag **(2)**.

$$(2) \quad NT \text{ (oder MB)Menge der GP im SV} = \frac{AUC_{[NT(oder MB)]GP}}{AUC_{[DHBA]GP}} \times NT \text{ (oder MB)Menge des ST im SV} \times KF$$

Die Berechnung nach dieser Formel war möglich, da in der externen Standardlösung (ST) genau 100 pg der einzelnen Transmitter (bzw. ihrer Metaboliten) pro 20 µl Schleifenvolumen vorlagen. Um diese Menge nun auf das Volumen hoch zu rechnen, in welchem die GPs homogenisiert wurden (500 µl), wurde anschließend eine Formel verwendet, in der zudem die Gewebe-spezifischen Verdünnungsfaktoren (VF)⁵⁹ der Probenaufbereitung berücksichtigt worden sind **(3)**. Schließlich wurde die errechnete Menge der NT oder ihrer MB in 500 µl des Homogenisates auf das ermittelte Frischgewicht bei der Probenentnahme bezogen **(4)**, wodurch die Menge des entsprechenden NT oder MB in der Einheit pg/mg Frischgewicht (FG) angegeben werden konnte.

$$(3) \quad NT \text{ (oder MB) Menge der GP in } 500\mu\text{l} = NT \text{ (oder MB) Menge der GP im SV} \times \frac{500\mu\text{l}}{20\mu\text{l (SV)}} \times VF$$

$$(4) \quad NT \text{ (oder MB) Menge pro GP} = \frac{NT \text{ (oder MB) Menge der GP in } 500\mu\text{l}}{FG(\text{mg})}$$

Diese Werte wurden schließlich zur statistischen Auswertung verwendet und sind im Ergebnisteil graphisch dargestellt.

Turnoverrate

Zur Berechnung des enzymatischen Umsatzes der Neurotransmitter Dopamin und Serotonin wurde ihre sogenannte Turnoverrate (TO) bestimmt. Hierzu wurden zunächst für jedes einzelne Tier (1-n) einer Tiergruppe⁶⁰, die (durch die Formel **(4)** ermittelten) Mengen der Metaboliten (in pg/mg Frischgewicht) des jeweiligen Transmitters summiert und anschließend durch die Menge des zugehörigen Transmitters (in pg/mg Frischgewicht) dividiert **(5a)**.

$$(5a) \quad TO(1 - n) = \frac{\Sigma(\text{Menge aller MB (von DA oder 5HT) pro GP}}{\text{Menge des NT (DA oder 5HT) pro GP}}$$

$$(5b) \quad TO = \frac{TO1+TO2+\dots+TO_n}{n}$$

Aus den einzelnen TO-Werten (TO (1-n)), wurde schließlich der Mittelwert (TO) der einzelnen Quotienten **(5b)** nebst des mittleren Standardfehlers (SEM) ermittelt.

⁵⁹ für das Striatum wurde entsprechend ein Verdünnungsfaktor (VF) von 10 verwendet, für das Gewebe des Nucleus accumbens und des Hippocampus ein VF von 2 und für das unverdünnte PFC- Gewebe musste kein VF herausgerechnet werden

⁶⁰ wobei n die Größe der jeweiligen Tiergruppe ist

Statistische Auswertung

Alle angegebenen Daten stellen den Mittelwert \pm S.E.M. dar. Innerhalb des Verhaltensversuches wurde zur Analyse des Sensitivierungsverlaufs (Tag 1-6) eine Friedman-ANOVA durchgeführt. Die Verhaltensdaten zwischen unterschiedlichen Versuchstagen innerhalb einer Tiergruppe wurden mit Hilfe des Wilcoxon-Tests analysiert. Zum Vergleich der Ergebnisse zwischen zwei unabhängigen Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Die statistische Auswertung der HPLC-Daten erfolgte mit Hilfe der zweifaktoriellen ANOVA und dem post-hoc Fisher LSD-Test.

III Ergebnisse

6.1. Projekt I

Untersuchungen zur Rolle der Glutamatrezeptoren bei der Konsolidierung der Katalepsie-Sensitivierung

Um den Einfluss der NMDA und AMPA/Kainat Rezeptoren auf die Konsolidierung der Katalepsie-Sensitivierung zu untersuchen, wurden zwei unterschiedliche Experimente durchgeführt. In einem **ersten Experiment** wurde mit insgesamt 40 Tieren (die in vier Gruppen, mit jeweils n= 10 Tieren eingeteilt wurden) ein Katalepsietest an der Stange und direkt im Anschluss ein Katalepsietest am Gitter durchgeführt. 60 Minuten vor dem ersten Test erhielten drei dieser Gruppen eine Haloperidol- und die vierte Gruppe eine Saline-Injektion (**Saline/Saline-Gruppe**). Direkt nach dem zweiten Katalepsietest wurde der Saline/Saline-Gruppe und einer der Haloperidol-Gruppen (**Haloperidol/Saline-Gruppe**), Saline verabreicht. Die zweite Haloperidol-Gruppe erhielt eine niedrig dosierte MK801-Injektion (0,1 mg/ml) (**Haloperidol/MK801-0.1-Gruppe**) und die dritte Haloperidol-Gruppe erhielt zum selben Zeitpunkt eine höher dosierte MK801-Injektion (0,25 mg/ml) (**Haloperidol/MK801-0.25-Gruppe**). Im **zweiten Experiment** wurden insgesamt 24 Tiere in zwei Gruppen (mit jeweils n = 12 Tieren) eingeteilt. Beide Tiergruppen erhielten 60 Minuten vor dem ersten Katalepsietest an der Stange eine Haloperidol-Injektion. Direkt im Anschluss an den Stangentest wurde die Abstiegslatenz der Tiere erneut am Katalepsiegitter getestet. Eine der beiden Gruppen erhielt, im Anschluss an den letzten Katalepsietest, eine GYKI52466 Injektion (5 mg/ml) (**Haloperidol/GYKI52466-Gruppe**), während die zweite Gruppe eine Vehikel-Injektion (Wasser für Injektionszwecke AMPUWA®) erhielt (**Haloperidol/Vehikel-Gruppe**).

6.1.1. Experiment 1

Untersuchungen zur NMDA-Rezeptorblockade mittels MK801

Im ersten Experiment zeigten die Tiere der Haloperidol/Saline-Gruppe in beiden Katalepsietests eine graduelle Zunahme der Katalepsie (an der Stange (**Abbildung 25a**) und dem Gitter (**Abbildung 26a**)) mit einem Sättigungseffekt (Ceiling-Effekt). Dieser Ceiling-Effekt stellte sich im Stangentest bei circa 110 s ein, während man ihn im Gittertest bereits früher beobachten konnte, dort war der Ceiling-Effekt jedoch auch instabiler (so konnten Werte zwischen 60 und 80 s gemessen werden). Die Tiere der Saline/Saline-Gruppe

zeigten zu keinem Zeitpunkt ein kataleptisches Verhalten. Diese Beobachtung wurde unabhängig von der Art des Tests (Stange bzw. Gitter) gemacht. Auch in den MK801-behandelten Gruppen wurde eine Haloperidol-induzierte Zunahme der Katalepsie beobachtet, jedoch zeigte die Haloperidol/Saline-Gruppe in beiden Tests die stärkste Zunahme der Abstiegslatenz von allen Haloperidol-behandelten Gruppen **Abbildung 25a**). Die Analyse der mittleren Abstiegslatenzen über alle Versuchstage hinweg (**Abbildung 25b**), ergab signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen (einfaktorielle ANOVA: Stangentest: $F(3,356)_{\text{Behandlung}} = 33,92$, $p < 0.0001$, Gittertest: $F(3,356)_{\text{Behandlung}} = 24,28$, $p < 0.0001$). Die Behandlung mit MK801 führte dabei **Dosis-abhängig** zu einer **Verzögerung der Katalepsie-Sensitivierung**. Während die Haloperidol/MK801-0.1-Gruppe im Stangentest 89,21% der mittleren Abstiegslatenz der Haloperidol/Saline-Gruppe erreichte, zeigte die Haloperidol/MK801-0.25-Gruppe im Stangentest nur 41,10% der mittleren Abstiegslatenz der Haloperidol/Saline-Gruppe und unterschied sich sowohl signifikant von dieser ($p < 0.01$, Fisher's LSD post hoc Test) als auch von der Haloperidol/MK801-0.1-Gruppe ($p < 0.01$, Fisher's LSD post hoc Test). Auch im Gittertest erbrachte die Auswertung der Abstiegslatenzen eine durch MK801 induzierte Dosis-abhängige Verminderung der Abstiegslatenzen. Dabei erreichte die Haloperidol/MK801-0.1-Gruppe 78,66% und die Haloperidol/MK801-0.25-Gruppe 49,67% der mittleren Abstiegslatenz der Haloperidol/Saline-Gruppe. Die mittlere Abstiegslatenz der Haloperidol/MK801-0.25-Gruppe war signifikant erniedrigt im Vergleich zur Haloperidol/Saline-Gruppe ($p < 0.01$, Fisher's LSD post hoc Test) sowie im Vergleich zur Haloperidol/MK801-0.1-Gruppe ($p < 0.05$, Fisher's LSD post hoc Test).

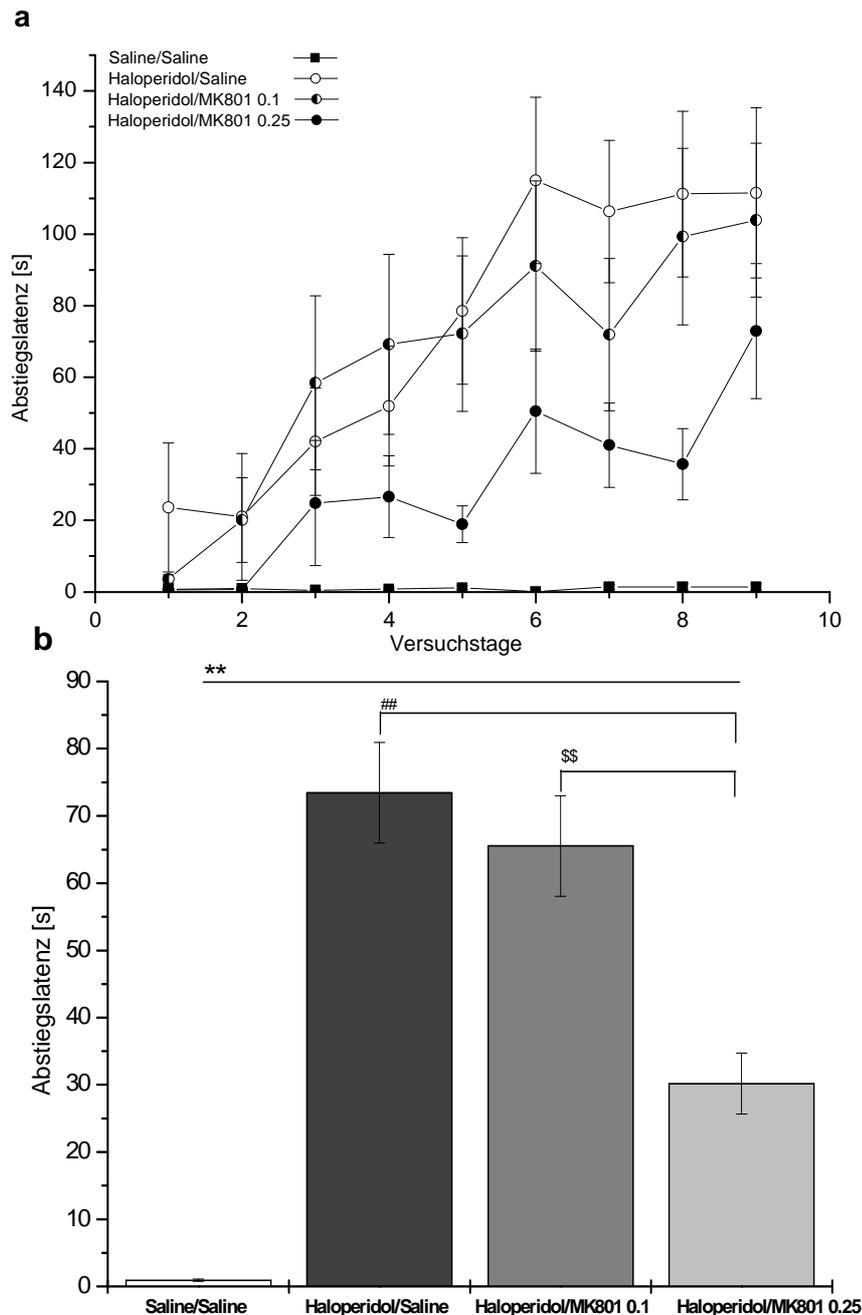


Abbildung 25 Stangentest zur Rolle von MK801 bei der Konsolidierung

a: Darstellung der mittleren Abstiegslatenzen \pm S.E.M. über den Verlauf der einzelnen Versuchstage innerhalb einer Gruppe und **b:** statistische Auswertung für die jeweiligen Versuchstiergruppen über die neun Versuchstage gemittelte Abstiegslatenz \pm S.E.M. jeweils gemessen an der Katalapsie-Stange. Der Katalapsietest erfolgte 60 Minuten nach täglicher Saline- (Saline/Saline-Gruppe) oder Haloperidol-Injektion (0,5mg/ml) (Haloperidol/Saline-, Haloperidol/MK801 0.1-, Haloperidol/MK801 0.25- Gruppe) mit jeweils $n = 10$ Tieren/Gruppe. Der Test an der Stange war der erste von zwei Katalapsietests der im Experiment1 des Projektes I verwendet wurde. Die Haloperidol/Saline Gruppe erhielt im Anschluss an den zweiten Katalapsietest (am Gitter **Abbildung 26**) eine Saline-Injektion, die beiden anderen Haloperidol-behandelten Gruppen entweder eine hohe (0.25 mg/ml) oder niedrige Dosis (0.1 mg/ml) MK801. Saline/Saline Gruppe vs. Haloperidol behandelte Gruppen **, jeweils $p < 0,01$ (post hoc Fisher's LSD Test), Haloperidol/Saline Gruppe vs. Haloperidol/MK801 0.25 Gruppe ##, $p < 0,01$ (post hoc Fisher's LSD Test), Haloperidol/MK801 0.1 Gruppe vs. Haloperidol/MK801 0.25 Gruppe \$\$, $p < 0,01$ (post hoc Fisher's LSD Test).

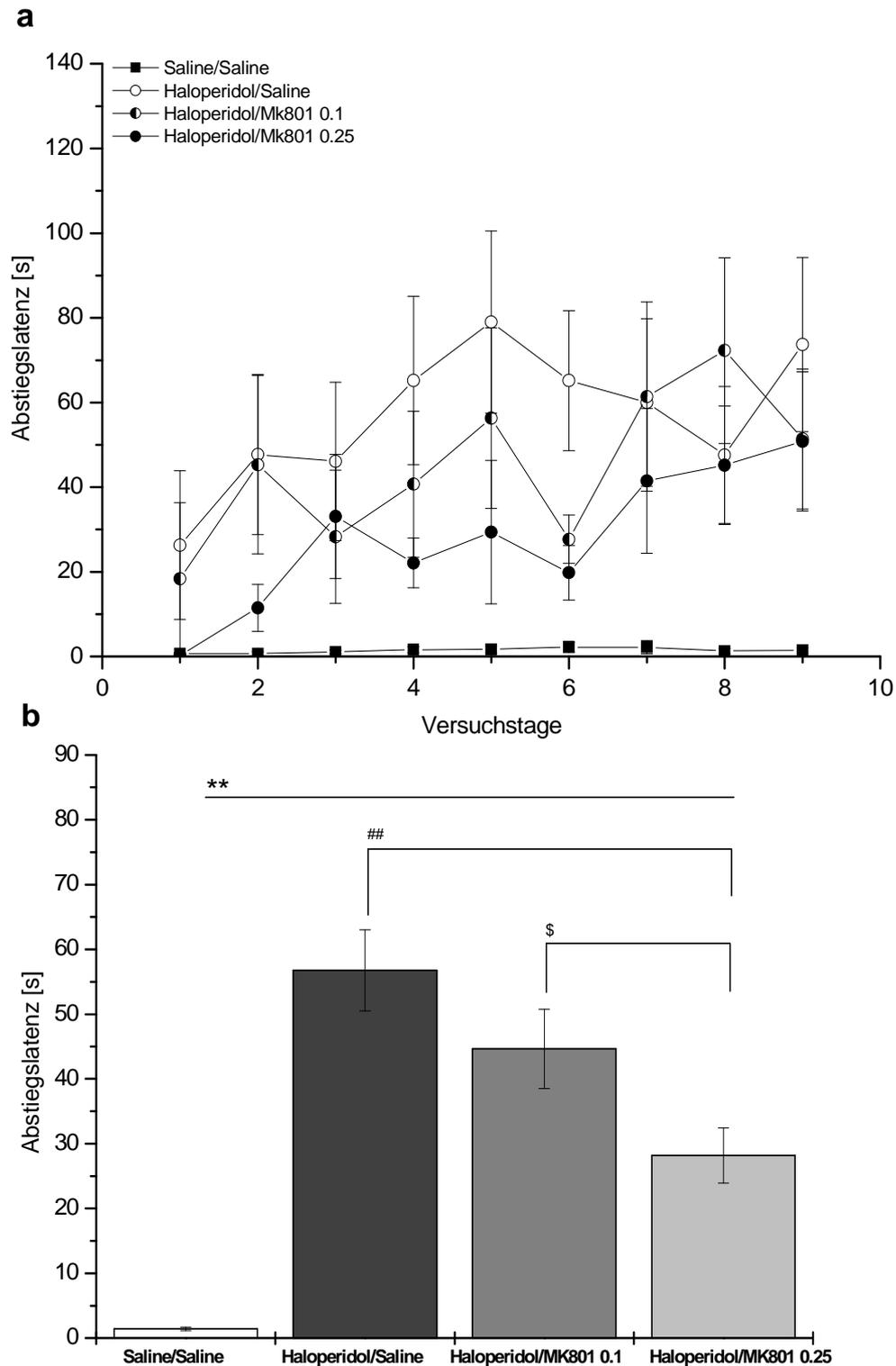


Abbildung 26 Gittertest zur Rolle von MK801 bei der Konsolidierung

a: Darstellung der im Gittertest gemessenen mittleren Abstiegslatenzen \pm S.E.M. über den Verlauf der einzelnen Versuchstage innerhalb einer Gruppe und **b:** statistische Auswertung für die jeweiligen Versuchstiergruppen über neun Versuchstage gemittelte Abstiegslatenz \pm S.E.M. Im Vergleich zur Saline/Saline Gruppe kam es innerhalb aller mit Haloperidol-behandelten Gruppen zu einer signifikanten Zunahme der Abstiegslatenzen, ** jeweils $p < 0,01$ (post hoc Fisher's LSD Test). Diese Zunahme war am geringsten in der Haloperidol/MK801 0.25-Gruppe, welche sowohl im Vergleich zur Haloperidol/MK801 0.1 \$, $p < 0,05$, als auch im Vergleich zur Haloperidol/Saline-Gruppe ##, $p < 0,01$ einen signifikanten Unterschied zeigte.

6.1.2. Experiment 2

Untersuchungen zur AMPA/Kainat-Rezeptorblockade mittels GYKI52466

Innerhalb des zweiten Experiments wurden die mittleren Abstiegslatenzen des Katalapsietests der Haloperidol/Vehikel-Gruppe und der Haloperidol/GYKI52466-Gruppe an der Stange (Abbildung 27) und am Gitter (Abbildung 28) an neun Versuchstagen gemessen. Dabei entwickelten beide Versuchstiergruppen einen Haloperidol-induzierten Anstieg der Katalapsiewerte, der bei der Haloperidol/Vehikel Gruppe stärker ausgeprägt war.

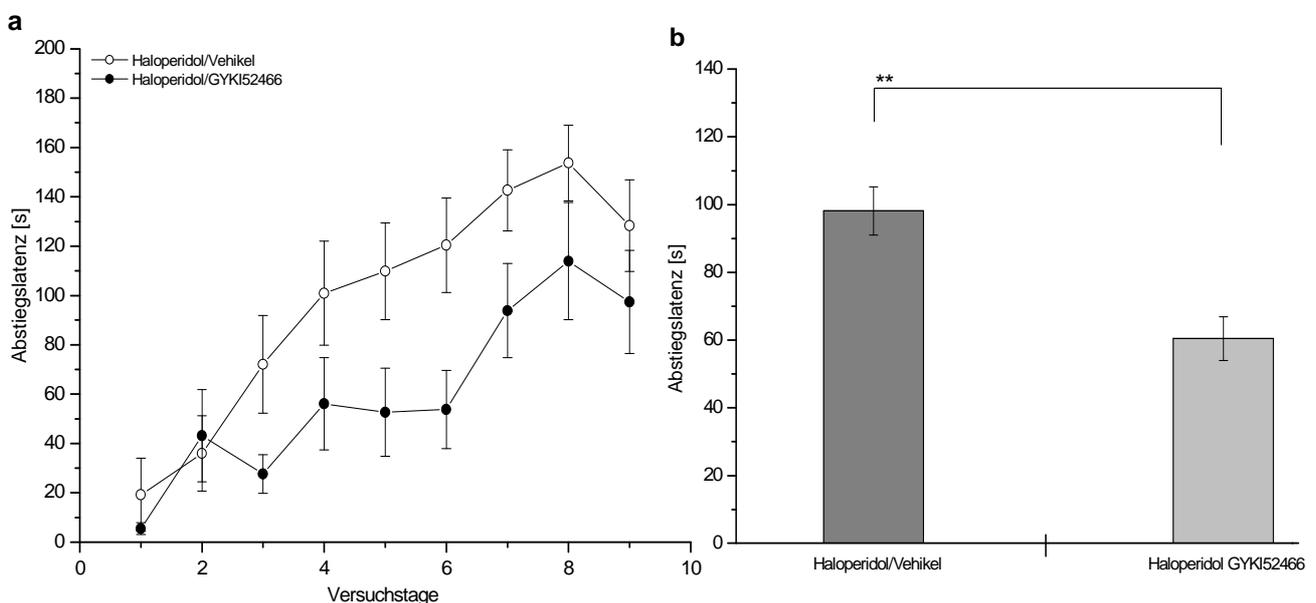


Abbildung 27 Stangentest zur Rolle von GYKI52466 bei der Konsolidierung

a: Dargestellt sind die mittleren Abstiegslatenzen im Verlauf der Versuchstage 1-9 \pm S.E.M. beider Versuchstiergruppen (mit jeweils $n = 12$), gemessen an der Katalapsie-Stange. **b:** sowie die statistische Analyse der gemittelten Abstiegslatenzen über alle neun Versuchstage hinweg \pm S.E.M. Der Test an der Stange war der erste von zwei Katalapsietests der in Experiment 2 des Projektes I verwendet wurde. Die Ergebnisse der Haloperidol/Vehikel-Gruppe sind durch den dunkel-grauen, die der Haloperidol/GYKI52466-Gruppe durch den hell-grauen Balken dargestellt. **, $p < 0.01$, Student's t-Test.

Dieser Unterschied war im zeitlichen Verlauf ab dem dritten Versuchstag im Stangentest (Abbildung 27a) und ab dem vierten Versuchstag im Gittertest (Abbildung 28 a) sichtbar. Die statistische Analyse der mittleren Abstiegslatenzen über alle Versuchstage hinweg erbrachte (im Stangen-Abbildung 27b und im Gittertest (Abbildung 28b) für die Haloperidol/Vehikel-Gruppe signifikant höhere Messwerte gegenüber der Haloperidol/GYKI52466-Gruppe. Dieser Effekt war im Stangentest deutlicher ausgeprägt,

als im Gittertest (Stangentest: Student's t-Test, $p < 0.01$, Gittertest: Student's t-Test, $p < 0.05$).

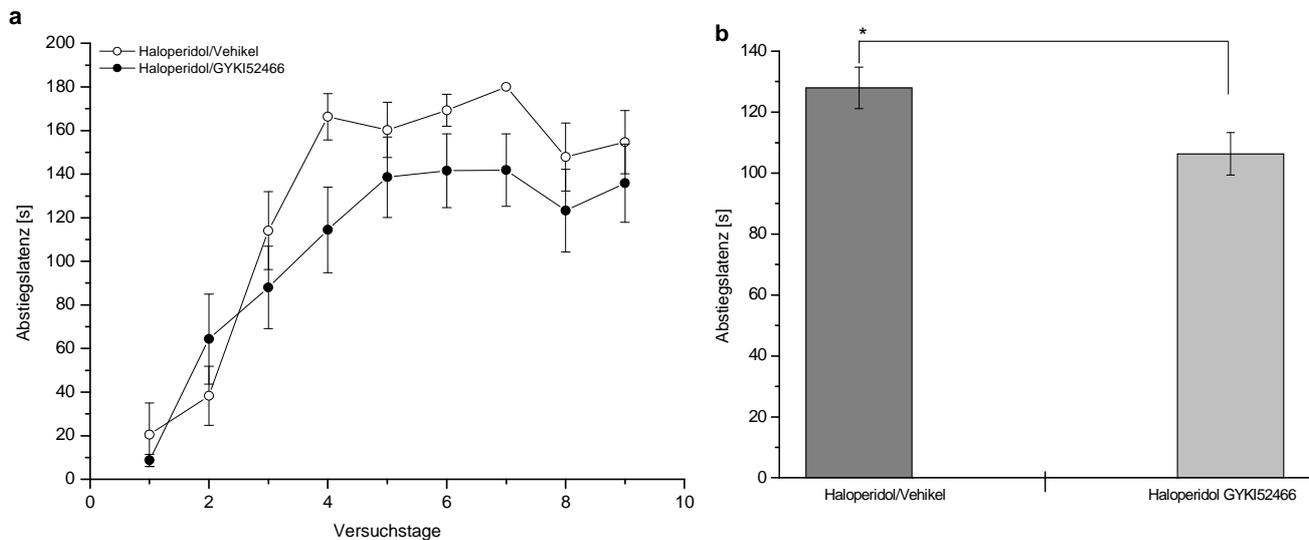


Abbildung 28 Gittertest zur Rolle von GYKI52466 bei der Konsolidierung

a: Darstellung der mittleren Abstiegslatenz an den Tagen 1-9 \pm S.E.M. beider Versuchstiergruppen (mit jeweils $n = 12$), gemessen am Katalepsie-Gitter. **b:** statistische Analyse für die mittleren Abstiegslatenzen über alle neun Versuchstage hinweg: Die Ergebnisse der Haloperidol/Vehikel-Gruppe sind durch den dunkel-grauen, die der Haloperidol/GYKI52466-Gruppe durch den hell-grauen Balken dargestellt. *, $p < 0.05$, Student's t-Test.

Projekt IIa1

Einfluss diskreter Hinweisreize auf den Verlauf der Katalepsie-Sensitivierung

Im Anschluss an eine siebentägige Katalepsie-Sensitivierung zu gleichen Kontext-Bedingungen, wurden die Versuchstiere in drei unterschiedlichen Gruppen (mit jeweils $n = 12$) unterteilt und (an Tag 8) entweder einem auditorischen, taktilen oder visuellen Hinweisreizwechsel unterzogen. An den Tagen 9 und 10 wurden die Tiere aller Gruppen wieder unter den gleichen Kontext-Bedingungen getestet, die auch während der Katalepsie-Sensitivierung vorlagen.

Versuch zum auditorischen Hinweisreizwechsel

Der an Versuchstag 8 durchgeführte auditorische Hinweisreizwechsel bestand darin, dass die Tiere der auditorischen Gruppe anstelle des gewohnten weißen Rauschens (mit

einem in der Box gemessenen Schalldruckpegel (SPL) von 80 dB peak-peak), einen Sinuston (einer Frequenz von 2 kHz und einem Schalldruckpegel von 77-80 dB peak-peak) vorgespielt bekamen. Die zuvor durchgeführte Katalepsie-Sensitivierung erfolgte von Tag 1-7 und war in ihrer Entwicklung signifikant (Friedman-ANOVA, $\chi^2 = 85$; $p < 0,0001$) (Abbildung 29). Am Tag des **Hinweisreizwechsels** (Tag 8) kam es zu einem nicht-signifikanten **Anstieg der Abstiegslatenz** im Vergleich zur Abstiegslatenz an Tag 7 (Wilcoxon-Test, $p = 0,279$).

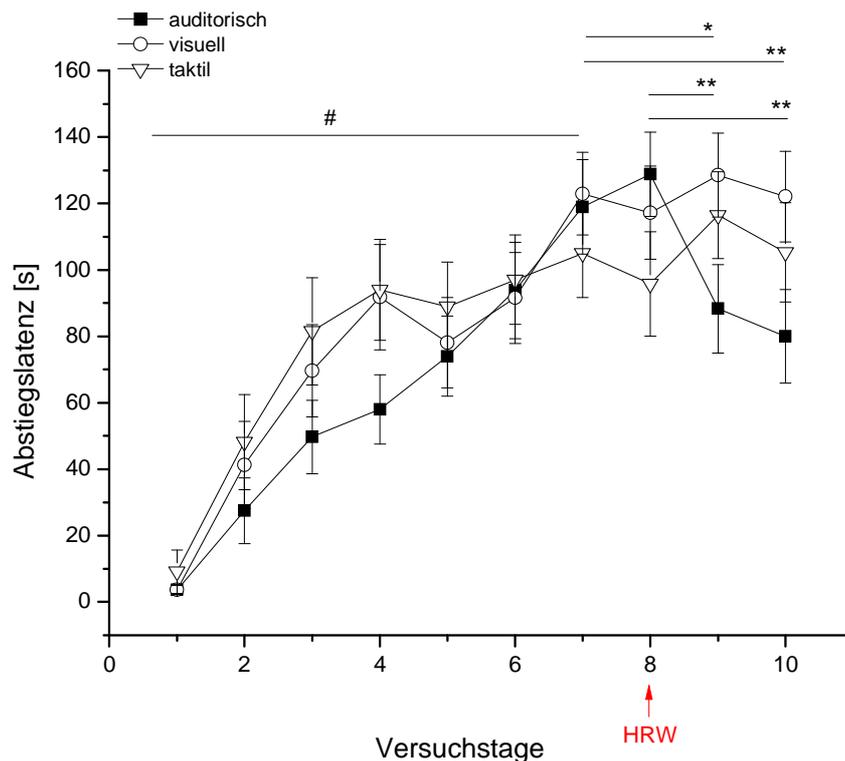


Abbildung 29 Katalepsietest zum diskreten Hinweisreizwechsel

Darstellung der Mittelwerte \pm S.E.M. der Abstiegslatenzen, die im Katalepsietest zur Kontextabhängigkeit von diskreten Hinweisreizen (jeweils $n = 12$ pro Gruppe) gemessen wurden. Die Katalepsie-Sensitivierung erfolgte in allen drei Gruppen unter denselben Kontextbedingungen (weißes Rauschen, Blick auf eine graue Tapete, glatte Katalepsiestange, auf der die Vorderpfoten auflagen und glatter Untergrund für die Hinterpfoten der Tiere) von Tag 1 bis 7. Dieselben Bedingungen lagen an den Versuchstagen 9 und 10 vor. An Tag 8 wurde in den unterschiedlichen Gruppen der jeweilige **Hinweisreizwechsel** (HRW, markiert durch Pfeil) durchgeführt. Die Katalepsie-Sensitivierung von Tag 1-7 war in allen drei Gruppen signifikant #, $p < 0,0001$. Zur **auditorischen-Gruppe** (schwarze Quadrate): An Tag 8 wurde statt eines Abfalls, ein Anstieg der Abstiegslatenz beobachtet. Zwischen Tag 7 und Tag 8 ergab sich kein signifikanter Unterschied ($p = 0,279$). Nach Applikation eines Sinustones (Tag 8) wurde an den Tagen 9 und 10 eine erniedrigte Abstiegslatenz beobachtet. An Tag 9 ist diese erniedrigte Abstiegslatenz signifikant unterschiedlich zu Tag 7 ($*p < 0,05$) und zu Tag 8 ($**p < 0,01$). An Tag 10 ist diese erniedrigte Abstiegslatenz signifikant gegenüber Tag 7 ($**p < 0,01$) und Tag 8 ($**p < 0,01$). **Zur visuellen Gruppe** (leere Kreise): Die einzelnen Vergleiche zwischen den Tagen 7, 8, 9 und 10 ergaben mittels Wilcoxon-Test keinerlei signifikante Unterschiede. Zur **taktilen Gruppe** (leeres Dreieck): Die Vergleiche der Abstiegslatenzen der Tage 7, 9 und 10 mit Versuchstag 8 erbrachten keine signifikanten Unterschiede, lediglich einen Trend einer erniedrigten Abstiegslatenz an Tag 8 im Vergleich zu Tag 9 ($p = 0,051$).

An den Tagen nach der Darbietung des Sinustones (Tag 9 und 10) kam es zu einem **Abfall der Abstiegslatenz**. Dieser Abfall der Abstiegslatenzen war jeweils signifikant im Vergleich zur Abstiegslatenz am Tag des Hinweisreizwechsels (Tag 8) (Wilcoxon-Test, $p < 0,01$) und zeigte an den Tagen 9 (Wilcoxon-Test, $p < 0,05$) und 10 (Wilcoxon-Test, $p < 0,01$) auch im Vergleich mit der Abstiegslatenz am Tag 7 einen signifikanten Abfall.

Versuch zum visuellen Hinweisreizwechsel

Innerhalb der Gruppe zum visuellen Hinweisreizwechsel war die Entwicklung der Katalepsie-Sensitivierung von Tag 1-7 signifikant (Friedman-ANOVA; $\chi^2 = 74$; $p < 0,0001$). Für den visuellen Hinweisreizwechsel an Versuchstag 8 blickten die Tiere statt auf eine graue, auf eine (in vertikaler Richtung) schwarz-weiß gestreifte Tapete. Dieser visuelle Hinweisreizwechsel führte zu einem moderaten, nicht-signifikanten Abfall der Abstiegslatenz von Tag 7 zu Tag 8 (Abbildung 29), (Wilcoxon-Test, $p = 0,816$). Auch im Vergleich zu Tag 9 (Wilcoxon-Test, $p = 0,264$) und Tag 10 (Wilcoxon-Test, $p = 0,776$) war dieser Abfall der Abstiegslatenz nicht signifikant.

Versuch zum taktilen Hinweisreiz-Wechsel

Nach einer siebentägigen signifikanten Sensitivierung in der Katalepsieversuchsbox (Friedman-ANOVA; $\chi^2 = 70$; $p < 0,0001$), veränderten sich an Tag 8 für die taktile Gruppe folgende Hinweisreize: Die Hinterpfoten wurden statt auf glattem, auf einem angerauten Untergrund aufgebracht, während die zuvor glatte Stange, auf der die Vorderpfoten auflagen, von einem Draht engmaschig umwickelt wurde. Diese Veränderungen führten zu keiner signifikanten Verminderung der Abstiegslatenz, weder beim Vergleich zwischen Tag 7 und Tag 8 (Wilcoxon-Test, $p = 0,32$), noch zwischen Tag 8 und 10 (Wilcoxon-Test, $p = 0,244$). Lediglich der Vergleich von Tag 8 und 9 zeigte einen Trend zu einer verminderten Abstiegslatenz an Tag 8 (Wilcoxon-Test, $p = 0,051$).

Projekt IIa2

Auswirkungen täglicher Kontext-Veränderungen und einer Sensitivierung in gewohnter Umgebung auf die Entwicklung und Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung

Um die Wirkung eines täglichen Kontextwechsels und die eines gewohnten Sensitivierungs-Kontextes auf die Entwicklung der Katalepsie-Sensitivierung zu

überprüfen, wurden in diesem Projekt drei Versuchsgruppen (jeweils $n = 10$) verwendet. Alle drei Gruppen durchliefen eine experimentelle Phase an den Versuchstagen 1 und 2 (die Rohdaten dieser Versuchstage wurden gemittelt als **Messpunkt A**); 4 und 5 (gemittelt als **Messpunkt B**) 7, 8 (gemittelt als **Messpunkt C**), sowie **9** und **10**. Diese Phase setzte sich aus einer definierten Prä-Injektionszeit von 12 Minuten, der Haloperidol-Injektion (mit stets der gleichen Dosierung von 0,25 mg/ml) von einer Minute, der Post-Injektions- und Prä-Testphase (Anflutphase von insgesamt 60 Minuten), sowie dem Katalepsietest (von maximal 180 s) und einer Posttestzeit von 12 Minuten zusammen. Am neunten Versuchstag wurde die experimentelle Phase für alle Versuchstiergruppen im Kontext B durchgeführt. An den restlichen Versuchstagen verbrachte die Heimkäfing-Gruppe (**H-Gruppe**) die gesamte experimentelle Phase im Tierhaltungsraum, die klassische Gruppe (**K-Gruppe**) im Kontext A und die Gruppe mit dem täglichen konstanten Kontextwechsel (**TKK-Gruppe**) verbrachte die experimentelle Phase an jedem Versuchstag in einem anderen Kontext.

Sensitivierungsphase

Innerhalb der drei Versuchsgruppen, die jeweils einer unterschiedlich großen Anzahl und Dauer von verschiedenen Kontexten ausgesetzt waren, ergab sich für die **K-, und H - Gruppe** eine **signifikante Entwicklung des Sensitivierungsverlaufs** von den Messpunkten A bis C (Friedman-ANOVA: K-Gruppe: $\chi^2 = 12$, $p < 0,005$, H-Gruppe: $\chi^2 = 11$, $p < 0,005$, TKK: $\chi^2 = 3$, $p = 0,23$) (Abbildung 30). Die Abstiegslatenzen der **K-Gruppe stiegen** dabei **am gleichmäßigsten** an. Die **TKK-Gruppe**, bei welcher die Sensitivierung nicht signifikant verlief, zeigte zu Beginn der Sensitivierungsphase (**Messpunkt A**) eine signifikant **höhere Abstiegslatenz** als die K-Gruppe. Im **weiteren Verlauf** der Sensitivierung wies die **TKK-Gruppe** die **niedrigste Abstiegslatenz** im Vergleich zu den anderen Gruppen auf. Diese erniedrigte Abstiegslatenz war gegenüber der K-Gruppe an den Messpunkten B und C signifikant. Am Ende der Sensitivierung (**Messpunkt C**) war zudem die **Abstiegslatenz der H-Gruppe** signifikant **niedriger** als die der K-Gruppe.

Kontextwechsel

Der Kontextwechsel im „klassischen Sinn“ fand an Tag 9 statt. Die Abstiegslatenzen dieses Tages wurden innerhalb der drei Gruppen jeweils mit den Abstiegslatenzen am Messpunkt C und den Abstiegslatenzen am Tag nach dem Kontextwechsel (Tag 10) verglichen (Abbildung 30). Innerhalb der K-Gruppe zeigte sich bei diesem Vergleich zwar im Gesamtbild eine verminderte Abstiegslatenz am Tag des Kontextwechsels; eine

Signifikanz lag jedoch nicht vor. Die gleiche Auswertung innerhalb der H-Gruppe ergab hingegen eine signifikant verminderte Abstiegslatenz am Tag des Kontextwechsels verglichen mit der Abstiegslatenz am Messpunkt C, sowie im Vergleich zur Abstiegslatenz an Tag 10 (Abbildung 30). Innerhalb der TKK-Gruppe ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Messpunkt C, dem Tag 9 und dem Tag 10.

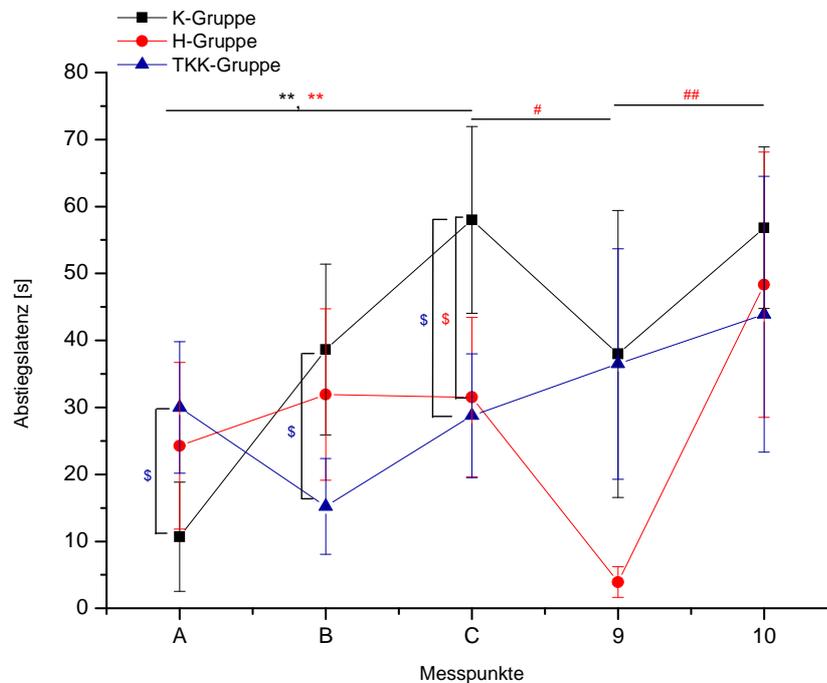


Abbildung 30 Katalapsietest zur Häufigkeit des Kontextwechsels

Mittelwerte \pm S.E.M. der Abstiegslatenzen innerhalb der drei verschiedenen Behandlungsgruppen (K-, H- und TKK-Gruppe), mit jeweils $n=10$. Eine dem „klassischen Kontextwechsel“ voran gehende Sensitivierungsphase verlief von Messpunkt A bis C. Der „klassische Kontextwechsel“ erfolgte an Tag 9, die Wiederherstellung der zu den Gruppen passenden Sensitivierungsbedingungen an Tag 10. Während der Katalapsie-Sensitivierung zeigten die K- und die H-Gruppe eine signifikante Sensitivierung (** $p < 0,005$ K-Gruppe; ** $p < 0,005$ H-Gruppe). **Sensitivierungsphase: (Messpunkt A)** $\$p < 0,05$ TKK-Gruppe vs. K-Gruppe, **(Messpunkt B)** $\$p < 0,05$ TKK-Gruppe vs. K-Gruppe, **(Messpunkt C)** $\$p < 0,05$ TKK-Gruppe vs. K-Gruppe, $\$p < 0,05$ K-Gruppe vs. H-Gruppe (Mann-Whitney-U-Test). „Klassischer Kontextwechsel“ **H-Gruppe:** $\#p < 0,05$ Messpunkt C vs.Tag 9, $\#\#p < 0,01$ Tag 10 vs. Tag 9, (Wilcoxon-Test).

Projekt IIa3

Untersuchung des Novelty Effektes bei der Kontextabhängigkeit der Katalapsie-Sensitivierung.

Innerhalb dieses Projektes wurde der Novelty-Effekt genauer untersucht. Hierzu wurden zwei Tiergruppen (jeweils $n = 10$) vor der eigentlichen Katalapsie-Sensitivierung für fünf

Tage in zwei unterschiedlichen Räumen (Kontext A und B) an die Katalepsie-Apparatur gewöhnt (Habituerungsphase). Dies geschah, indem man der SalineA/HaloperidolA-Gruppe im Kontext der anschließenden Katalepsie-Sensitivierung (Kontext A) und der SalineB/HaloperidolA-Gruppe im Kontext des späteren Kontextwechsels (Kontext B) 60 Minuten vor dem täglichen Katalepsietest eine Saline-Injektion verabreichte. Die anschließende Haloperidol-induzierte Katalepsie-Sensitivierung in Kontext A erfolgte für beide Tiergruppen an den Tagen 6 bis 16, (mit Ausnahme der Tage 13 und 14). Dem Kontextwechsel in Kontext B an Tag 17 folgte eine erneute Katalepsiemessung in Kontext A an Tag 18. Die Ergebnisse sind der **Abbildung 31** zu entnehmen. Während der Habituerungsphase (Tag 1- 5) gab es in keiner der beiden Gruppen einen signifikanten Anstieg der Abstiegslatenz.

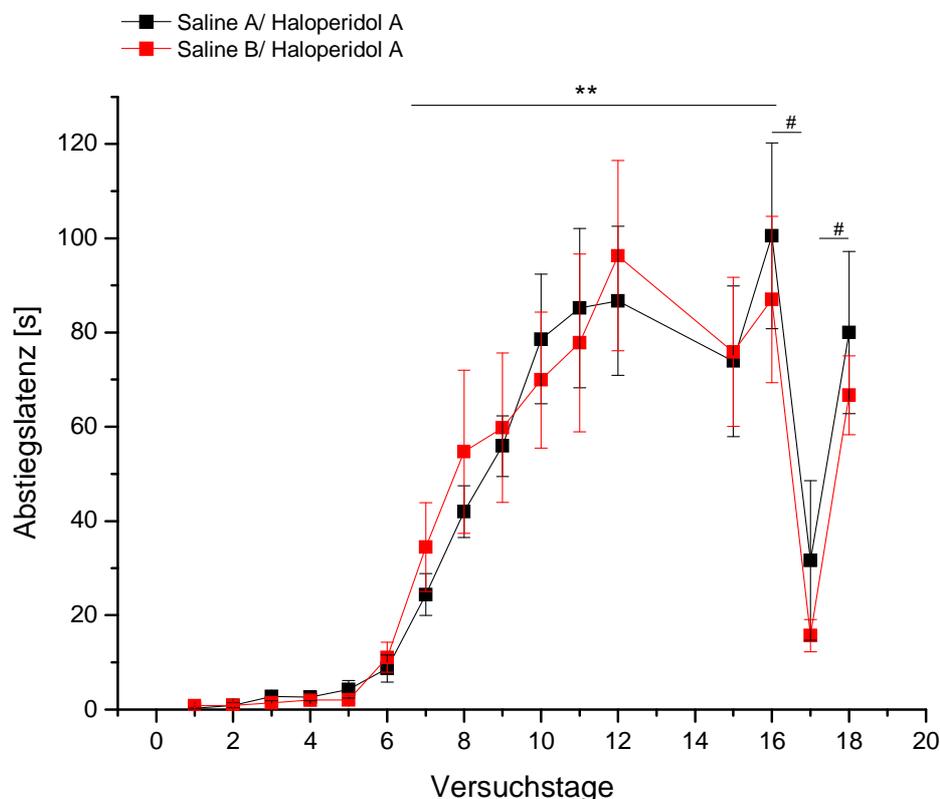


Abbildung 31 Katalepsietest zur Untersuchung des Novelty-Effektes

Ergebnisse (dargestellt als Mittelwert \pm S.E.M.) der Abstiegslatenzen zur Untersuchung des Novelty Effektes anhand von zwei Versuchsgruppen (SalineA/HaloperidolA-Gruppe und SalineB/HaloperidolA-Gruppe), mit jeweils $n = 10$. Während der Habituerungsphase (die ersten fünf Versuchstage) erhielten beide Versuchstiergruppen eine tägliche Saline-Injektion 60 Minuten vor dem Katalepsietest. Die Behandlung der SalineA/HaloperidolA-Gruppe erfolgte dabei in Kontext A und die der SalineB/HaloperidolA-Gruppe in Kontext B. Die anschließende Sensitivierungsphase (Tag sechs bis 16, mit Ausnahme der Tage 13 und 14) der Haloperidol induzierten Katalepsie erfolgte für beide Gruppen in Kontext A. Beide Gruppen zeigten während der Sensitivierungsphase einen signifikanten Anstieg der Katalepsie $**p < 0.0001$. Auch der Kontextwechsel an Tag 17 (in Kontext B) erbrachte im Vergleich mit Tag 16 und 18 (beide Versuchstage wurden in Kontext A durchgeführt) in beiden Versuchsgruppen einen signifikanten Abfall der Abstiegslatenz $\#p < 0.05$.

Innerhalb der Sensitivierungsphase (Tag 6 bis 16) zeigten beide Versuchstiergruppen einen signifikanten Anstieg der Abstiegslatenz (Friedman-ANOVA; SalineA/HaloperidolA-Gruppe, $\chi^2 = 50$, $p < 0.0001$; SalineB/HaloperidolA-Gruppe $\chi^2 = 45$, $p < 0.0001$). Die zwei Tage an denen kein Katalepsietest durchgeführt wurde (Tag 13 und Tag 14) hatten keinen signifikanten Effekt auf das Maß der Katalepsie; so unterschieden sich die mittleren Abstiegslatenzen nicht signifikant zwischen Tag 12 und Tag 15, weder in der SalineA/HaloperidolA-Gruppe ($p = 0,401$, Wilcoxon-Test) noch in der SalineB/HaloperidolA-Gruppe ($p = 0,441$, Wilcoxon-Test). Um den Effekt der verminderten Abstiegslatenz am Tag 17 zu prüfen, wurden die Werte dieses Tages mit den Abstiegslatenzen der Tage 16 und 18 verglichen. Bei diesem Vergleich zeigten sich innerhalb der SalineB/HaloperidolA-Gruppe (Wilcoxon-Test, Tag 16 vs 17, $p < 0,05$, Tag 17 vs 18, $p < 0,05$), sowie innerhalb der SalineA/HaloperidolA-Gruppe (Wilcoxon-Test, Tag 16 vs. 17, $p < 0,05$, Tag 17 vs. 18, $p < 0,05$) signifikante Unterschiede. Der Vergleich der Abstiegslatenzen der Tage 16 und 18 ergab in keiner der beiden Gruppen signifikante Unterschiede.

Projekt IIb1

Anatomische Untersuchungen zur Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung

Im Projekt IIb1 wurde in drei verschiedenen Teilprojekten untersucht, welchen Einfluss die lokale Applikation des Transmitter-unspezifischen Neurotoxins Chinolinat innerhalb des agrulären insulären (AI-) und prälimbischen (PrL-) PFC (**Projekt IIb1.1.**), des dorsalen (dHipp) und ventralen Hippocampus (vHipp) (**Projekt IIb1.2.**) und innerhalb der Amygdalae (**Projekt IIb1.3.**) auf die Kontextabhängigkeit der postoperativen Katalepsie-Sensitivierung hat. Das Projekt IIb1.3. ist mit einer geringen Tiergruppenanzahl ($n=6$) als Vorversuch durchgeführt worden, weshalb nur eine Versuchstiergruppe zum Einsatz kam. Die Behandlung mit dem Neurotoxin, respektive der Trägersubstanz (Vehikel), erfolgte stets bilateral. Im Projekt IIb1.1. wurde Chinolinat entweder nur in den agrulären insulären PFC (**AI-Chinolinat/PrL-Vehikel-Gruppe**), nur in den prälimbischen PFC (**AI-Vehikel/PrL-Chinolinat-Gruppe**), in beide PFC Regionen (**AI-Chinolinat/PrL-Chinolinat-Gruppe**) oder in keine der beiden Regionen injiziert (**AI-Vehikel/PrL-Vehikel-Gruppe**). Im Projekt IIb1.2. wurden folgende Gruppen verwendet: die **dHipp-Chinolinat/vHipp-Vehikel-Gruppe**, die **dHipp-Vehikel/vHipp-Chinolinat-**

Gruppe sowie die **dHipp-Vehikel/v-Hipp-Vehikel-Gruppe**. Die im Projekt IIb1.3. verwendete Gruppe erhielt eine bilaterale Chinolinat-Injektion innerhalb der basolateralen Amygdala (**Amygdala-Chinolinat-Gruppe**). Nach dem Verhaltenstest (Katalepsie-Sensitivierung mit anschließendem Kontextwechsel sowie einem zusätzlichen Messtag im ursprünglichen Sensitivierungskontext) wurden die Tiere dekapitiert und ihre Gehirne nach entsprechender Aufbereitung (Kryostatschnitte und Nissl-Färbung) auf die Ausprägung der Chinolinat-induzierten Läsionen hin mittels Binokular untersucht. Nach dieser mikroskopischen Überprüfung konnten einige Subjekte nicht berücksichtigt werden, nachfolgend beschriebene Ergebnisse umfassen daher ausschließlich Tiere, deren Daten berücksichtigt werden konnten.

Projekt IIb1.1.

Untersuchung zur Rolle des präfrontalen Kortex

Nach mikroskopischer Prüfung umfasste die **AI-Vehikel/PrL-Vehikel-Gruppe** eine Größe von **n = 9** Tieren, die der **restlichen Gruppen des Projektes IIb1.1.** wiesen eine Gruppengröße von jeweils **n = 7** Tieren auf. Die im Mikroskop sichtbaren Ausprägungen der einzelnen Läsionen wurden in den entsprechenden Frontalschnitt (bei Bregma 3,7 mm) eines Ausdruckes des Paxinos-Atlas (**Abbildung 32 a**) eingezeichnet, dargestellt in **Abbildung 32 b (AI-Chinolinat/PrL-Vehikel-Gruppe)**, **c (AI-Vehikel/PrL-Chinolinat-Gruppe)** und **d (AI-Chinolinat/PrL-Chinolinat-Gruppe)**. Bei der Auswertung der **AI-Chinolinat/PrL-Vehikel-** (**Abbildung 32 b**) sowie bei der **AI-Vehikel/PrL-Chinolinat-**(**Abbildung 32 c**) **Gruppe** wurde jeweils ein Tier berücksichtigt, bei welchem sich die Läsion, (vermutlich während des Herausziehens der Kanüle) in eine schmale Spur oberhalb der gewünschten Areale ausdehnte, außerdem solche, die laut Paxinos Atlas leicht über die Grenzen der jeweiligen Areale heraus ragten. Bei einem weiteren Tier der **AI-Vehikel/PrL-Chinolinat-Gruppe** gab es eine derartige Spur unilateral (**Abbildung 32 c**); auch dieses Tier wurde in die Auswertung mit einbezogen. Eine exemplarische Dokumentation der unilateral fotografierten **AI-Vehikel/PrL-Vehikel-**, beziehungsweise **AI-Chinolinat/PrL-Chinolinat Behandlung**, ist in **Abbildung 33** dargestellt. Die Ergebnisse des Verhaltensversuchs finden sich in **Abbildung 34**. Die Entwicklung der Katalepsie-Sensitivierung (Von Tag 1 bis Messpunkt F) war in allen vier Versuchstiergruppen signifikant (Friedman-ANOVA: AI-Vehikel/PrL-Vehikel-Gruppe, $\chi^2 = 27$, $p < 0.005$; AI-Vehikel/PrL-Chinolinat $\chi^2 = 24$, $p < 0.005$; AI-Chinolinat/PrL-Vehikel, $\chi^2 = 14$, $p < 0.05$; AI-Chinolinat/PrL-Chinolinat, $\chi^2 = 19$, $p < 0.005$).

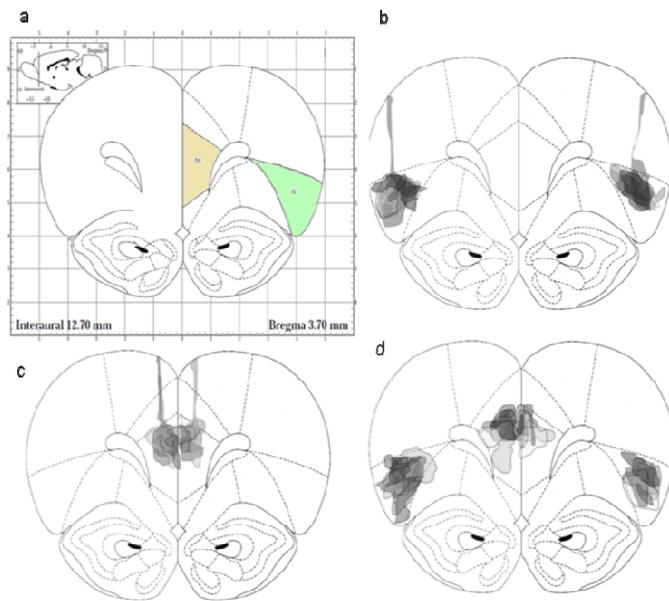


Abbildung 32 Darstellung der Läsionen im PFC

(a) Darstellung des dem Paxinos-Atlas (Paxinos und Watson, 1997) entnommenen Frontalschnittes, der 3.7 mm anterior in Bezug zu Bregma gelegen ist. Die Region in der die Chinolinat-Injektionen bilateral durchgeführt wurden, ist in (a) unilateral dargestellt. Dabei ist der agranuläre insuläre präfrontale Kortex (AI) hellgrün markiert und der prälimbische präfrontale Kortex gelb-braun. Alle in diesem Projekt durchgeführten Chinolinat-Behandlungen wurden in der in a dargestellten Schnittebene durchgeführt. Die mikroskopisch verifizierte Lage und Ausprägung der bilateralen Läsionen im agranulären insulären präfrontalen Kortex ist in (b) für $n = 7$ Tiere, die des prälimbischen Kortex ist in (c) für $n = 7$ Tiere und die der Läsion beider PFC-Regionen in (d), für $n = 7$ Tiere schematisch eingezeichnet.

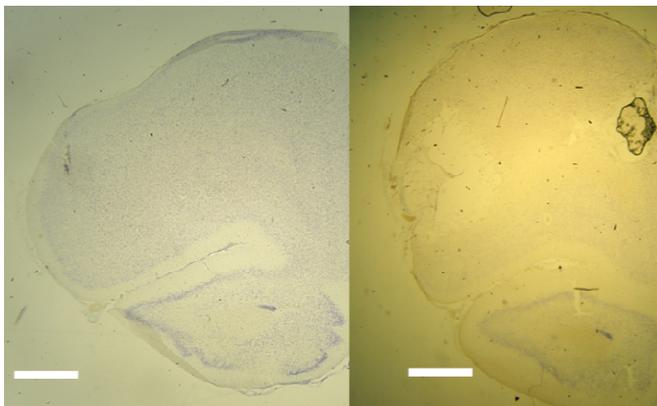


Abbildung 33 Exemplarische Dokumentation einer PFC Läsion

Fotografische unilaterale Dokumentation eines 40 µm dicken Gehirnschnittes nach erfolgreicher Vehikel-Injektion im PFC (linke Aufnahme) und eines 40 µm dicken Gehirnschnittes nach Chinolinat-Injektion im PFC (rechte Aufnahme). Der weiße Balken in beiden Aufnahmen gilt als Maßstab (1 mm).

In allen Versuchstiergruppen wurden die mittleren Abstiegslatenzen des Messpunktes F und des Tages 15 sowohl mit denen am Tag des Kontextwechsels (Tag 14), als auch untereinander verglichen: Bei keiner der vier Gruppen ergab sich ein signifikanter Unterschied beim Vergleich der Abstiegslatenzen des Messpunktes F und des Tag 15. Innerhalb der **AI-Vehikel/PrL-Vehikel-Gruppe** ergab der Vergleich zwischen dem Messpunkt F und dem Tag 14 (Wilcoxon-Test, $p < 0,05$) und zwischen den Tagen 14 und 15 ($p < 0,05$) einen signifikanten Unterschied. Bei der **AI-Vehikel/PrL-Chinolinat-Gruppe** ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Tagen 14 und 15 ($p < 0,05$), während sich beim Vergleich zwischen dem Messpunkt F und dem Tag 14 ein Trend unterschiedlicher Abstiegslatenzen abzeichnete ($p = 0,063$). Die **AI-Chinolinat/PrL-Vehikel-Gruppe** zeigte zwischen den Tagen 14 und 15 einen signifikanten Unterschied ($p < 0,05$), hingegen gab es innerhalb der **AI-Chinolinat/PrL-**

Chinolinat-Gruppe zwischen den Abstiegslatenzen des Messpunktes F und den Tagen 14 und 15 keine signifikanten Unterschiede.

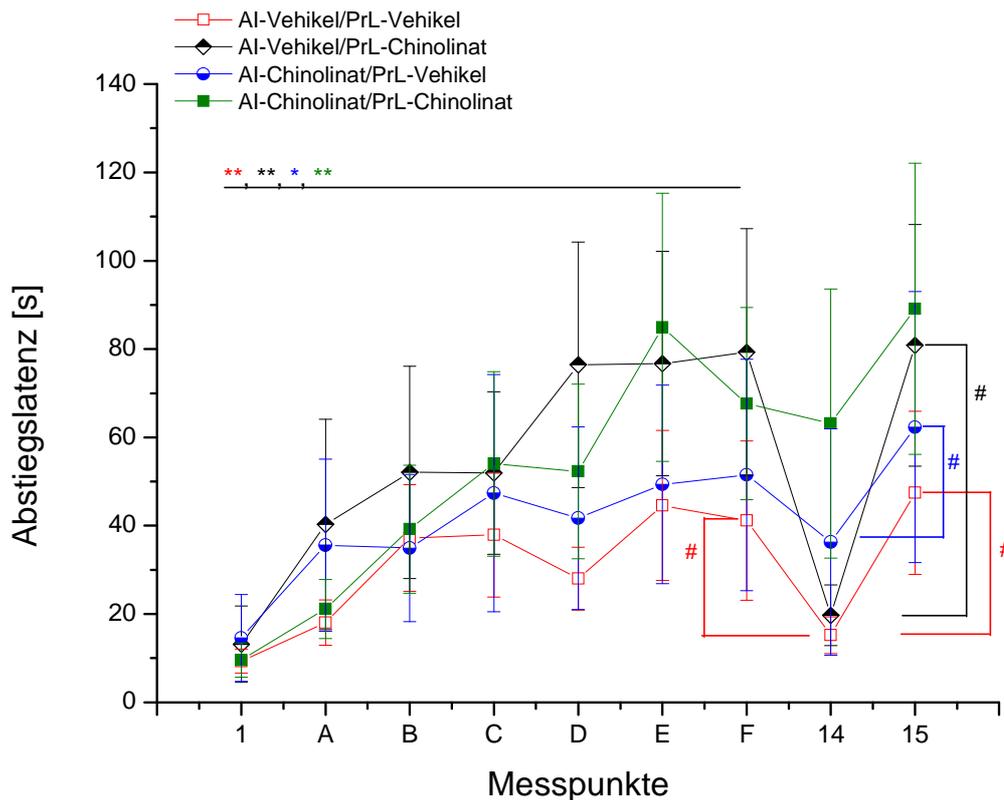


Abbildung 34 Katalapsietest nach Chinolinat-Applikation im PFC

Darstellung der Mittelwerte \pm S.E.M. der Abstiegslatenzen, dabei wurden die Messwerte der Versuchstage (VT) 2 und 3 zu Messpunkt A, die der VT 4 und 5 zu Messpunkt B, die der VT 6 und 7 zu Messpunkt C, die der VT 8 und 9 zu Messpunkt D, die der VT 10 und 11 zu Messpunkt E und die der VT 12 und 13 zu Messpunkt F gemittelt. Alle Versuchsgruppen zeigten eine signifikante **Katalapsie-Sensitivierung** von Tag 1 bis Messpunkt F: ** $p < 0,005$ Al-Vehikel/PrL-Vehikel Gruppe ($n = 9$, rote, ungefüllte Quadrate); ** $p < 0,005$ Al-Vehikel/PrL-Chinolinat-Gruppe ($n = 7$ schwarze, halb gefüllte Rauten), * $p < 0,05$ Al-Chinolinat/PrL-Vehikel-Gruppe ($n = 7$, blaue, halb gefüllte Kreise) und ** $p < 0,005$ Al-Chinolinat/PrL-Chinolinat-Gruppe ($n = 7$, grüne, gefüllte Quadrate). **Kontextwechsel:** Al-Vehikel/PrL-Vehikel-Gruppe: # $p < 0,05$ Messpunkt F vs. Tag 14, # $p < 0,05$ Tag 14 vs. Tag 15, Al-Vehikel/PrL-Chinolinat-Gruppe Trend ($p = 0,063$) Messpunkt F vs. Tag 14 (nicht gezeigt), # $p < 0,05$ Tag 14 vs. Tag 15, Al-Chinolinat/PrL-Vehikel-Gruppe # $p < 0,05$ Tag 14 vs. Tag 15 (Wilcoxon-Test).

Projekt IIb1.2.

Untersuchung zur Rolle des Hippocampus

Nach der mikroskopischen Auswertung der Hirnschnitte innerhalb dieses Projektes konnten die Daten von jeweils $n = 7$ Tieren der **dHipp-Vehikel/vHipp-Vehikel-Gruppe**, der **dHipp-Vehikel/vHipp-Chinolinat-Gruppe** und der **dHipp-Chinolinat/vHipp-Vehikel-Gruppe** verwendet werden. Die Zielregion der Chinolinat-, beziehungsweise Vehikel-Injektionen sind in der **Abbildung 35 a** für die dorsale und **b** für die ventrale Region des Hippocampus dargestellt. Die Ausprägung der Läsionen innerhalb der dHipp-Chinolinat/vHipp-Vehikel Gruppe ist in **Abbildung 35 c**, die der dHipp-Vehikel/vHipp-Chinolinat in der **Abbildung 35 d** dargestellt. Zudem dokumentiert die **Abbildung 36** jeweils einen

unilateral fotografierten dorsalen und ventralen Gehirnschnitt eines im entsprechenden Areal entweder mit Chinolinat oder Vehikel behandelten Gehirns.

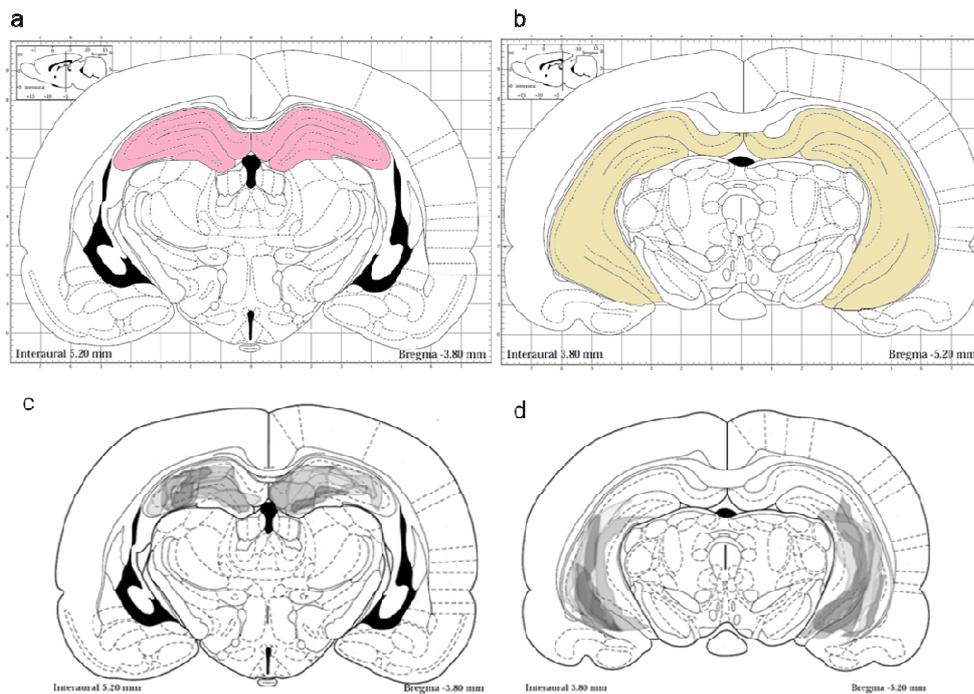


Abbildung 35 Darstellung der Läsionen im Hippocampus

Darstellung der gewünschten Zielregionen des dorsalen (a, rosa Markierung) und ventralen (b, gelbbraune Markierung) Hippocampus, dargestellt in einem Auszug aus dem Anatomischen Atlas von Paxinos (Paxinos und Watson, 1997). Zur Einzeichnung und schematischen Darstellung der tatsächlichen Läsionen wurde ebendieser Atlas verwendet. Die Darstellung der Läsionen der dHipp-Chinolinat/vHipp-Vehikel Gruppe erfolgt in c, mit $n = 7$, die der dHipp-Vehikel/vHipp-Chinolinat Gruppe in Abbildung d, mit $n = 7$.

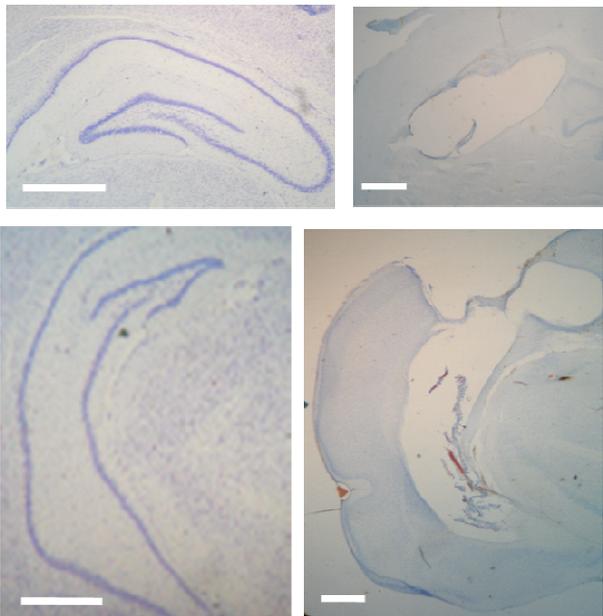


Abbildung 36 Exemplarische Dokumentation einer Hippocampus Läsion

Fotografische unilaterale Dokumentation eines 40 μm dicken Gehirnschnittes nach Vehikel-Injektion im Hippocampus (linke Aufnahmen, oben dorsal unten ventral) und eines 40 μm dicken Gehirnschnittes nach erfolgter Chinolinat-Injektion im Hippocampus (rechte Aufnahmen, oben dorsal unten ventral). Der weiße Balken in beiden Aufnahmen dient als Maßstab (1 mm).

Die Tiere aller drei Behandlungsgruppen zeigten im Verhalten einen signifikanten Anstieg der **Katalepsie-Sensitivierung** innerhalb der ersten sechs Tage (Friedman-ANOVA, dHipp-Vehikel/vHipp-Vehikel-Gruppe $\chi^2 = 50$, $p < 0.0001$, dHipp-Vehikel/vHipp-Chinolinat-Gruppe $\chi^2 = 46$, $p < 0.0001$, dHipp-Chinolinat/vHipp-Vehikel-Gruppe $\chi^2 = 47$, $p < 0.0001$). Die Abstiegslatenz am Tag des **Kontextwechsels** (Tag 7) war innerhalb der dHipp-Vehikel/vHipp-Vehikel-Gruppe signifikant niedriger verglichen mit den Abstiegslatenzen der Tage 6 (Wilcoxon-Test, $p < 0,05$) und 8 ($p < 0,005$). Auch innerhalb der **dHipp-Vehikel/vHipp-Chinolinat-Gruppe** war die Erniedrigung der Abstiegslatenz an Tag 7 signifikant im Vergleich zu der Abstiegslatenz des Tages vor dem Kontextwechsel (Tag 6) ($p < 0,05$). Keinen signifikanten Unterschied erbrachte hingegen der Vergleich der Abstiegslatenzen dieser Gruppe an Tag 7 und 8. Zwischen den Abstiegslatenzen der Tage 6, 7 und 8 ergab sich innerhalb der **dHipp-Chinolinat/vHipp-Vehikel-Gruppe** kein signifikanter Unterschied.

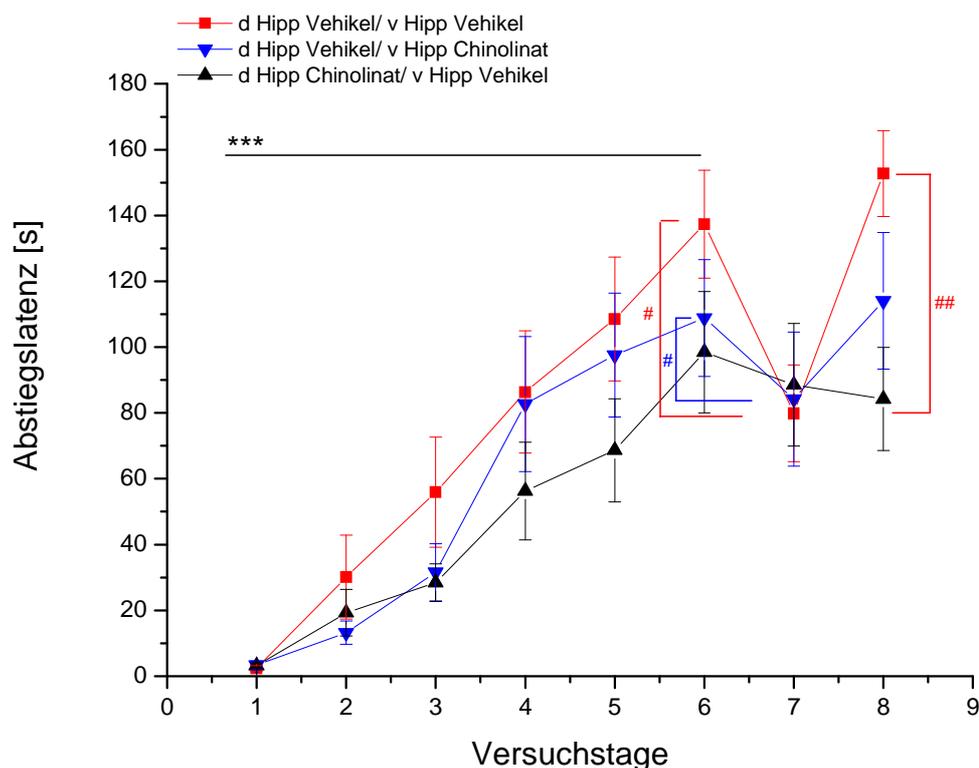


Abbildung 37 Katalepsietest nach Chinolinat-Applikation im Hippocampus

Darstellung der Mittelwerte \pm S.E.M. der Abstiegslatenzen von den Versuchsgruppen des Projektes IIb 1.2. Mit $n = 7$ innerhalb der dHipp-Vehikel/vHipp-Vehikel-Gruppe, der dHipp-Vehikel/vHipp-Chinolinat-Gruppe und der dHipp-Chinolinat/vHipp-Vehikel-Gruppe. **Sensitivierung:** Alle Versuchstiergruppen zeigten von Tag 1 bis Tag 6 einen signifikanten Verlauf der Katalepsie-Sensitivierung $***p < 0.0001$. **Kontextwechsel** (Tag 7): dHipp-Vehikel/vHipp-Vehikel-Gruppe # $p < 0,05$ Tag 6 vs. Tag 7, ## $p < 0,005$ Tag 7 vs. Tag 8, dHipp-Vehikel/vHipp-Chinolinat-Gruppe # $p < 0,05$ Tag 6 vs. Tag 7 (Wilcoxon-Test).

Projekt IIb1.3.

Untersuchungen zur Rolle der Amygdalae

Die mikroskopische Auswertung der Nissl-gefärbten Kryostatschnitte führte dazu, dass insgesamt die Verhaltensdaten von sechs aus ursprünglich acht im Versuch eingesetzten Tieren verwendet werden konnten. Die mikroskopisch verifizierte Lage der Amygdalaläsionen dieser Tiere ist in **Abbildung 38 b** dargestellt. Vergleicht man diese Darstellung mit der ursprünglichen Zielregion der basolateralen Amygdala (BLA) (**Abbildung 38 a**) wird offensichtlich, dass diese nicht exakt lädiert wurde, sondern die Läsionen sich jeweils unregelmäßig über weitere Bereiche der Amygdala erstrecken.

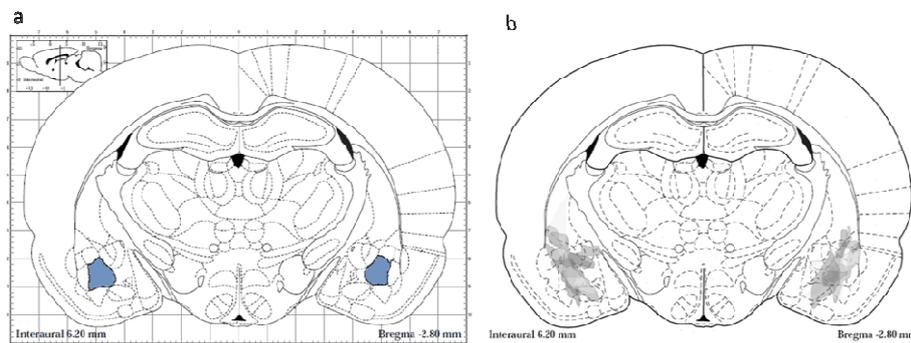


Abbildung 38 Darstellung der Läsionen in der Amygdalae

Darstellung der gewünschten Zielregionen der basolateralen Amygdala (a, blaue Markierung) dargestellt in einem Auszug aus dem anatomischen Atlas von Paxinos (Paxinos und Watson, 1997). Die schematische Darstellung der mikroskopisch verifizierten Lage der Läsionen von insgesamt n = 6 Tieren, ist in b dargestellt.

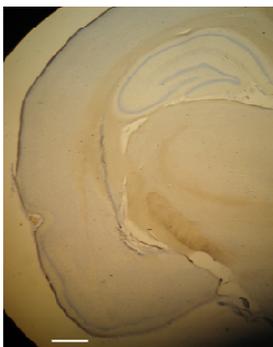


Abbildung 39 Exemplarische Dokumentation einer Amygdala-Läsion

Fotografische unilaterale Dokumentation eines 40 µm dicken Gehirnschnittes eines in der Amygdala mit Chinolinat behandelten Tieres. Der weiße Balken unten links gibt dabei die Größenskalierung an (1 mm).

Die Verhaltensdaten dieses Teilprojektes zeigten vom ersten bis zum siebten Tag einen **signifikanten Anstieg der Abstieglatenz** (Friedman-ANOVA, $\chi^2 = 62$, $p < 0,0001$). Die erniedrigte Abstieglatenz am Tag des **Kontextwechsels** (Tag 8) war sowohl signifikant gegenüber des Vortages (Wilcoxon-Test, $p < 0,05$), als auch im Vergleich zum Tag nach dem Kontextwechsel ($p < 0,05$).

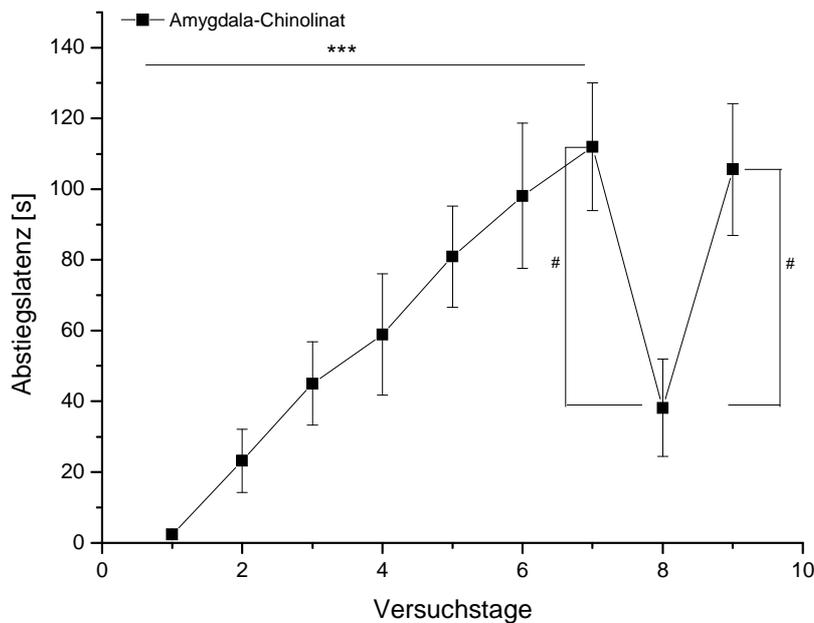


Abbildung 40 Katalapsietest nach Chinolinat-Applikation der Amygdalae

Darstellung der Abstiegslatenzen als Mittelwerte \pm mittleren Standardfehler des Projektes IIb 1.3. Die Amygdala-Chinolinat-Gruppe zeigte innerhalb der Tage 1 bis 7, für $n=6$ Tiere eine signifikante **Katalapsie-Sensitivierung** $***p < 0.0001$. **Kontextwechsel** (Tag 8): $\#p < 0.05$ Tag 7 vs. Tag 8, $\#p < 0.05$ Tag 8 vs. Tag 9 (Wilcoxon-Test).

Projekt IIb 2.

Untersuchung zur Auswirkung einer serotonergen Läsion im präfrontalen Kortex in Bezug auf die Kontextabhängigkeit der Katalapsie-Sensitivierung

Im Projekt IIb 2 wurden lokale Applikationen des serotonergen Neurotoxins 5,7-DHT innerhalb des prälimbischen Anteils des präfrontalen Kortex (PrL-PFC), durchgeführt. Dies sollte Aufschluss darüber geben, welche Auswirkung die serotonerge Läsion in dieser Region auf die Kontextabhängigkeit der Katalapsie-Sensitivierung hat. Zu diesem Zweck wurden vier Versuchstiergruppen eingesetzt. Zwei der vier Tiergruppen erhielten bilaterale 5,7-DHT Injektionen ($6 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ pro Injektionsstelle), während den anderen beiden Gruppen in der gleichen Region das entsprechende Volumen der Trägersubstanz, einer 0,1% igen Ascorbinsäurelösung (Vehikel) verabreicht wurde. Nach einer vierwöchigen Erholungsphase wurde mit allen vier Tiergruppen eine sechstägige Katalapsie-Sensitivierung durchgeführt. Dabei erhielt jeweils eine der 5,7-DHT (**5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe, $n = 9$**) behandelten und eine der Vehikel (**Vehikel/Haloperidol-Gruppe, $n = 8$**) behandelten Tiergruppe 60 Minuten vor dem

täglichen Katalepsietest eine Haloperidol-Injektion, während die andere 5,7-DHT (**5,7-DHT/Saline-Gruppe, n=10**) beziehungsweise Vehikel behandelte Gruppe zum gleichen Zeitpunkt eine Saline-Injektion erhielt (**Vehikel/Saline-Gruppe, n=6**). Nach der sechstägigen Katalepsie-Sensitivierung in Kontext A wurden die Tiere am siebten Tag, bei gleichbleibender Substanz-Behandlung (prä-Test-Injektion durch Haloperidol beziehungsweise Saline) in Kontext B auf ihre Abstiegslatenz hin getestet. An Tag 8 erfolgte schließlich ein weiterer Katalepsietest in Kontext A. Im Anschluss an den Verhaltenstest erfolgte die Dekapitation. Den Gehirnen wurden die zu untersuchenden Regionen (der präfrontale Kortex (PFC), das anteriore (aCPu) und posteriore (pCPu) Caudatoputamen, der Hippocampus und der Nucleus accumbens (Nacc)) entnommen und darin - nach entsprechender Vorbehandlung - jeweils die Mengen der Neurotransmitter Serotonin, Dopamin und deren Metaboliten mittels HPLC analysiert.

Auswertung der Verhaltensdaten

Die Verhaltensdaten des Projektes IIb2 sind in **Abbildung 41** dargestellt. Im Gegensatz zu den Tiergruppen die vor dem Verhaltenstest mit Saline behandelt wurden (5,7-DHT/Saline-Gruppe und Vehikel/Saline-Gruppe), zeigten die Haloperidol-behandelten Tiere, während der Sensitivierungsphase (Tag 1 bis Tag 6) einen signifikanten Anstieg der Abstiegslatenz (Vehikel/Haloperidol-Gruppe: $\chi^2 = 32$, $p < 0,0001$, 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe: $\chi^2 = 47$, $p < 0,0001$). Beim Vergleich zwischen den zwei mit Haloperidol behandelten Gruppen zeigte sich zudem eine stärkere Zunahme der Abstiegslatenz innerhalb der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe an den Tagen 5 und 6. Die verstärkte Abstiegslatenz dieser Gruppe zeigte keine Signifikanz, aber einen Trend an Tag 5 (Mann-Whitney-U-Test, $p = 0,0903$). Innerhalb der Versuchsgruppen wurden die Tage vor (Tag 6) und nach dem Kontextwechsel (Tag 8) jeweils miteinander, sowie mit dem Tag des Kontextwechsels (Tag 7) verglichen. Dabei zeigte sich nur innerhalb der mit Haloperidol behandelten Gruppen jeweils ein signifikanter Unterschied zwischen den Tagen 6 und 7 (Wilcoxon-Test, 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe, $p < 0,001$, Vehikel/Haloperidol-Gruppe, $p < 0,005$), sowie zwischen den Tagen 7 und 8 (5,7-DHT/Haloperidol Gruppe, $p < 0,005$, Vehikel/Haloperidol-Gruppe, $p < 0,005$). Zwischen Tag 6 und 8 gab es in keiner der Gruppen signifikante Unterschiede.

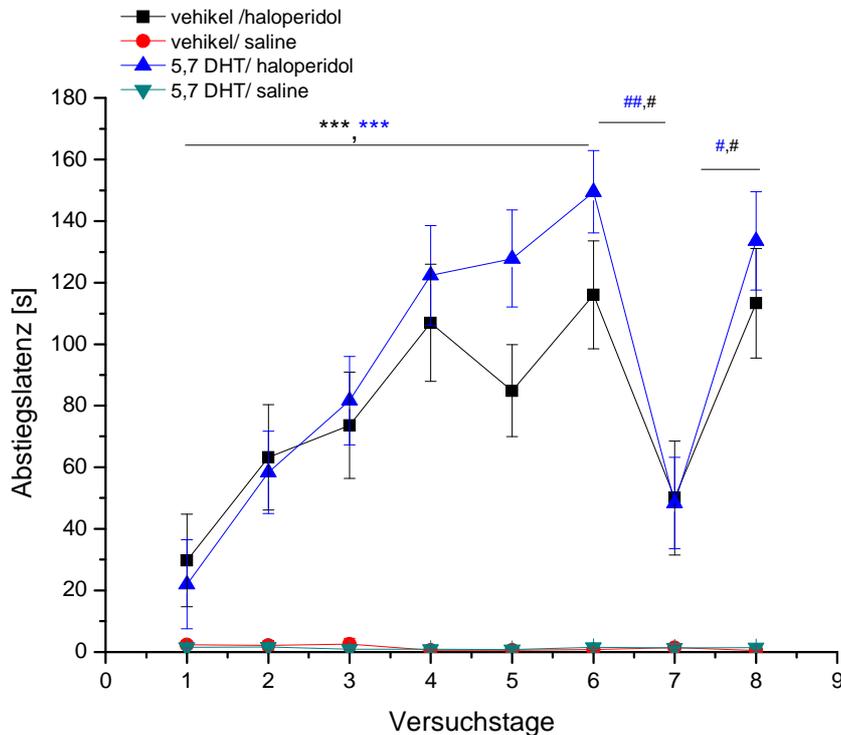


Abbildung 41 Katalapsietest nach serotonerger PFC Läsion

Darstellung der Abstiegslatenzen als Mittelwerte \pm mittleren Standardfehler. **Sensitivierungsphase** (Tag 1 bis 6): *** $p < 0.0001$ Vehikel/Haloperidol-Gruppe, *** $p < 0.0001$. **Kontextwechsel** (Tag 7): 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe ## $p < 0,001$ Tag 6 vs. Tag 7, # $p < 0,005$ Tag 7 vs. Tag 8, Vehikel/Haloperidol-Gruppe # $p < 0,005$ Tag 6 vs. Tag 7, # $p < 0,005$ Tag 7 vs. Tag 8 (Wilcoxon-Test).

HPLC-Auswertung der Gewebeproben unterschiedlicher Gehirnregionen

Nachfolgend sind die Mengen des Neurotransmitters Dopamin (DA) und der dopaminergen Metaboliten DOPAC, 3-MT und HVA, sowie des Neurotransmitters Serotonin (5-HT) und des serotonergen Metaboliten 5-HIAA quantitativ (in pg/mg Frischgewicht) für die untersuchten Gehirnareale (PFC, aCPU, pCPU, Hippocampus und NAcc) der einzelnen Tiergruppen dargestellt. Zudem wurden die jeweiligen enzymatischen Turnoverraten von DA, beziehungsweise 5-HT ermittelt.

Präfrontaler Kortex

Innerhalb des PFC führte die Haloperidolbehandlung (innerhalb der Vehikel/Haloperidol und der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe) zu einem **Anstieg der Dopamin-, DOPAC- und HVA-Menge**, verglichen mit den **Saline behandelten Gruppen** (Vehikel/Saline-, 5,7-DHT/Saline-Gruppe) (Abbildung 42). Die 3-MT Menge war lediglich innerhalb der Vehikel/Haloperidol-Gruppe leicht erhöht. Bezogen auf die HVA Menge war die Erhöhung der Vehikel/Haloperidol-Gruppe signifikant im Vergleich zur Vehikel/Saline-Gruppe (zweifaktorielle ANOVA, $F_{\text{Behandlung}}(1, 29) = 4,96$, $p = 0,034$).

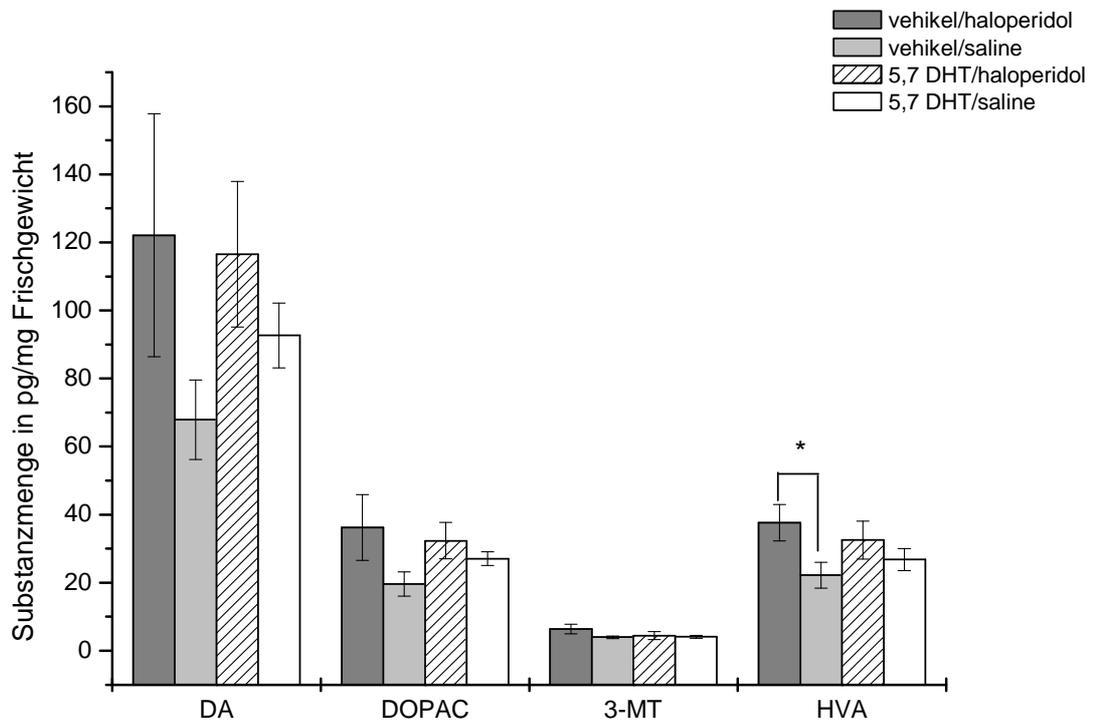


Abbildung 42 Dopamin und dopaminerge Metaboliten im PFC

Darstellung der Substanzmengen des Neurotransmitters Dopamin (DA) und dessen Metaboliten (DOPAC, 3-MT und HVA) in den Gewebeproben des PFC. **HVA:** * $p < 0,05$ Vehikel/Haloperidol Gruppe vs. Vehikel/Saline-Gruppe (post-hoc Fisher LSD-Test).

Die Auswertung der **Serotonin- und 5-HIAA-Menge** (Abbildung 43) ergab für die **mit 5,7-DHT behandelten Gruppen** eine Erniedrigung (Serotonin, zweifaktorielle ANOVA, $F_{\text{Läsion}}(1,29) = 8,18$, $p = 0,008$, 5-HIAA zweifaktorielle ANOVA, $F_{\text{Läsion}}(1,29) = 18,03$, $p = 0,0002$) **gegenüber der Serotonin- und 5-HIAA-Menge innerhalb der mit dem Vehikel behandelten Gruppen**. Diese Verminderung war signifikant hinsichtlich der Serotonin-Menge zwischen der Vehikel/Haloperidol- und 5,7-DHT/Saline-Gruppe, sowie zwischen der Vehikel/Saline- und der 5,7-DHT/Saline-Gruppe. Bezüglich der 5-HIAA-Menge ergab sich eine signifikante Erniedrigung der 5,7-DHT/Haloperidol- und der 5,7-DHT/Vehikel-Gruppe im Vergleich zur Vehikel/Haloperidol-Gruppe. Signifikant war zudem der Unterschied der 5-HIAA-Menge zwischen der Vehikel/Saline-Gruppe und den beiden 5,7-DHT behandelten Gruppen. Unabhängig von der Art der bei der Operation verabreichten Substanz (Vehikel oder 5,7-DHT), zeigten die **mit Haloperidol behandelten Gruppen** jeweils eine **leicht höhere Serotonin-, beziehungsweise 5-HIAA-Menge**. Dieser Unterschied war jedoch weder zwischen den Vehikel- behandelten Gruppen, noch zwischen den mit 5,7-DHT behandelten Gruppen signifikant.

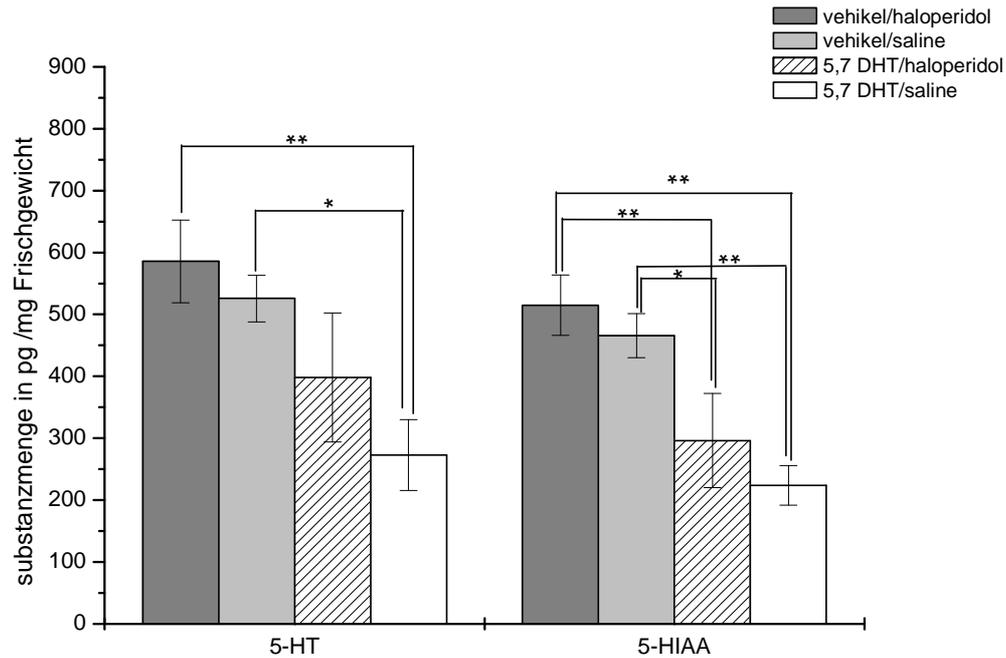


Abbildung 43 Serotonin und 5-HIAA im PFC

Darstellung der Substanzmenge von 5-HT und seinem Metaboliten 5-HIAA innerhalb der unterschiedlichen Tiergruppen innerhalb des PFC. **5HT:** **p < 0.01 Vehikel/Haloperidol-Gruppe vs. 5,7-DHT/Saline-Gruppe, *p < 0.05 Vehikel/Saline-Gruppe vs. 5,7-DHT/Saline-Gruppe, **5-HIAA:** **p < 0.01 Vehikel/Haloperidol-Gruppe vs. 5,7-DHT/Saline-Gruppe, **p < 0.01 Vehikel/Haloperidol-Gruppe vs. 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe, **p < 0.01 Vehikel/Saline-Gruppe vs. 5,7-DHT/Saline Gruppe, *p < 0.05 Vehikel/Saline-Gruppe vs. 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe (post-hoc Fisher LSD-Test).

Für den Turnover (Tabelle 6) ergab sich innerhalb des PFC weder für Dopamin, noch für Serotonin ein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Versuchstiergruppen.

Gruppen (PFC)	Turnover Dopamin	Turnover Serotonin
Vehikel/Haloperidol	0,738 ± 0,076	0,915 ± 0,089
Vehikel/Saline	0,693 ± 0,078	0,906 ± 0,086
5,7-DHT/Haloperidol	0,638 ± 0,064	0,994 ± 0,253
5,7-DHT/Saline	0,693 ± 0,082	1,258 ± 0,289

Tabelle 6 Turnover von DA und 5-HT im PFC

Darstellung der Turnover Mittelwerte im PFC für die einzelnen Tiergruppen für Dopamin und Serotonin unter Angabe der mittleren Fehlerabweichung (±SEM).

Anteriores Caudatoputamen

Innerhalb des anterioren Caudatoputamens (aCPU) ergaben sich für die Dopaminmenge und die Menge der dopaminergen Metaboliten **keine signifikanten Unterschiede** zwischen den einzelnen Tiergruppen (Abbildung 44).

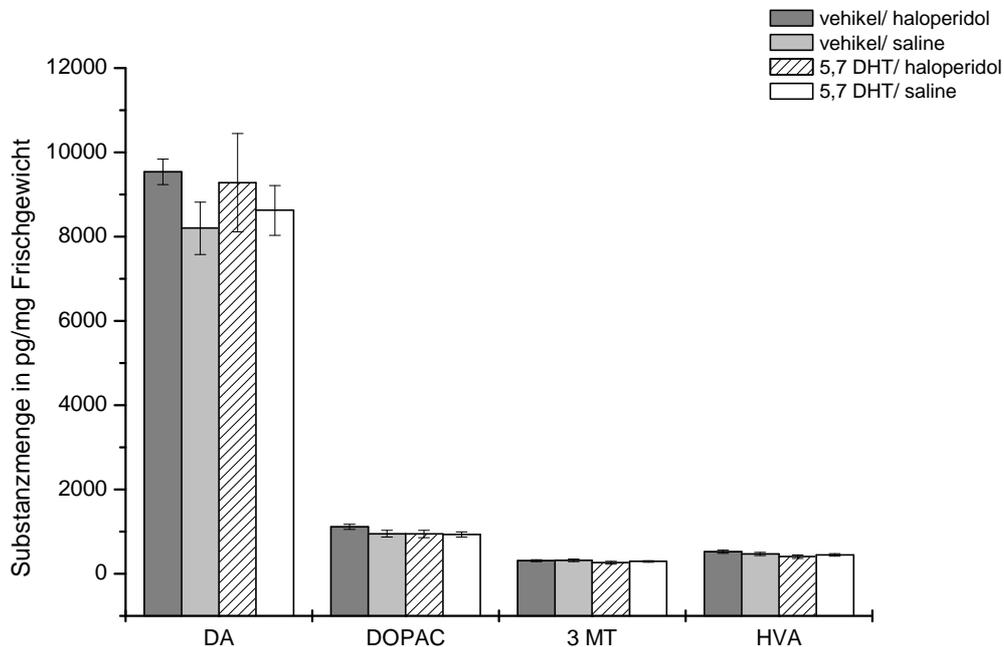


Abbildung 44 Dopamin und dopaminerge Metaboliten im aCPU

Darstellung der Substanzmengen des Neurotransmitters Dopamin (DA) und dessen Metaboliten (DOPAC, 3-MT und HVA) in den Gewebeproben des anterioren Caudatoputamens (aCPU) innerhalb der vier Behandlungsgruppen.

Die Analyse der Serotoninmenge (Abbildung 45) im aCPU zeigte bei den **mit 5,7-DHT behandelten Gruppen eine Erhöhung** im Vergleich zu den Tiergruppen die mit dem Vehikel behandelt wurden zweifaktorielle ANOVA, $F_{\text{Läsion}}(1,29) = 6,87$, $p = 0,014$. Innerhalb der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe erwies sich diese Erhöhung im Vergleich zur Vehikel/Haloperidol-Gruppe als signifikant. Die 5-HIAA-Menge der vier Tiergruppen zeigte hingegen keine signifikanten Unterschiede innerhalb des aCPU. Der **Turnover** (Tabelle 7) des Neurotransmitters **Dopamin** war innerhalb der mit 5,7-DHT behandelten Gruppen niedriger als innerhalb der **Vehikel-behandelten Gruppen** (zweifaktorielle ANOVA, $F_{\text{Läsion}}(1,29) = 6,76$, $p = 0,015$). Diese Erniedrigung war sowohl zwischen der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe und der Vehikel/Haloperidol-Gruppe, als auch zwischen der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe und der Vehikel/Saline-Gruppe signifikant.

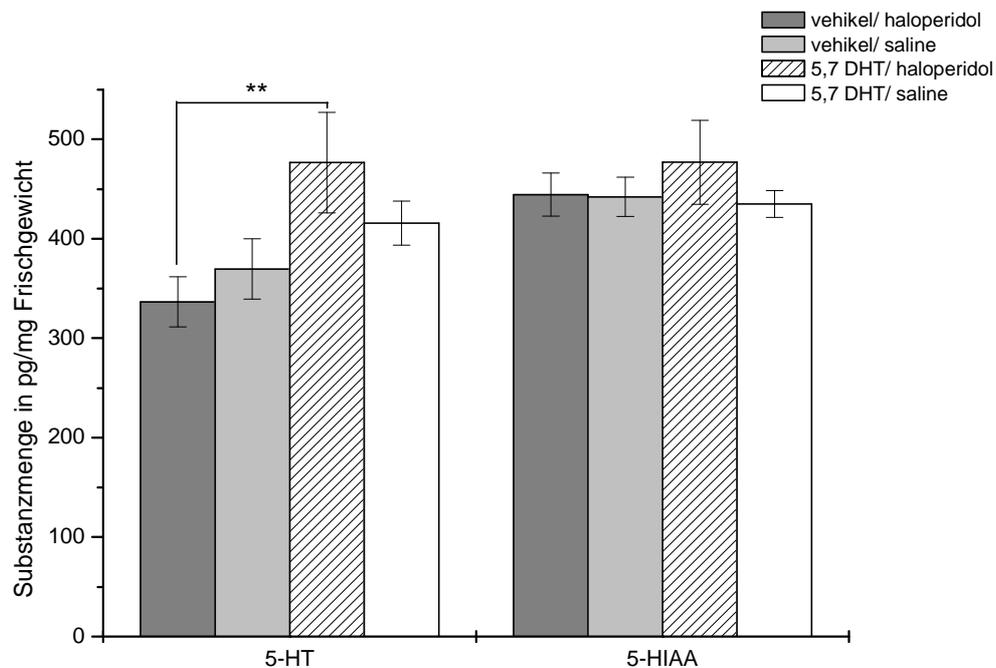


Abbildung 45 Serotonin und 5-HIAA im aCPU

Darstellung der Substanzmenge von 5-HT und seinem Metaboliten 5-HIAA innerhalb der unterschiedlichen Tiergruppen innerhalb des aCPU. **5-HT:** ** $p < 0.01$ Vehikel/Haloperidol-Gruppe vs. 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe (post-hoc Fisher LSD Test).

Bezüglich des **serotonergen Turnovers** ergab sich innerhalb der 5,7-DHT behandelten Gruppen ebenfalls eine Erniedrigung gegenüber den **Vehikel behandelten** Gruppen (zweifaktorielle ANOVA, $F_{\text{Läsion}}(1,29) = 10,39$, $p = 0,003$). Diese Verminderung war in beiden mit 5,7-DHT behandelten Gruppen signifikant verglichen mit der Vehikel/Haloperidol-Gruppe.

Gruppen (aCPU)	Turnover Dopamin	Turnover Serotonin
Vehikel/Haloperidol	0,204 ± 0,012*	1,349 ± 0,070**, **
Vehikel/Saline	0,213 ± 0,009**	1,234 ± 0,102
5,7-DHT/Haloperidol	0,177 ± 0,008*, **	1,040 ± 0,076**
5,7-DHT/Saline	0,195 ± 0,006	1,069 ± 0,053**

Tabelle 7 Turnover von DA und 5-HT im aCPU

Darstellung der Turnover Mittelwerte für die einzelnen Tiergruppen für Dopamin und Serotonin im aCPU unter Angabe der mittleren Fehlerabweichung (\pm SEM) **Turnover Dopamin:** * $p < 0,05$ Vehikel/Haloperidol-Gruppe vs. 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe, ** $p < 0,01$ Vehikel/Saline-Gruppe vs. 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe, **Turnover Serotonin:** ** $p < 0,01$ Vehikel/Haloperidol-Gruppe vs. 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe, ** $p < 0,01$ Vehikel/Haloperidol-Gruppe vs. 5,7-DHT/Saline-Gruppe (post-hoc Fisher LSD Test).

Posteriores Caudatoputamen

Die (Abbildung 46) **Vehikel/Haloperidol-Gruppe** wies innerhalb des posterioren Caudatoputamen die höchste Dopaminmenge auf. Auch wenn im Vergleich zu den anderen drei Gruppen keine signifikante Erhöhung vorlag, war der Unterschied der Dopaminmenge am deutlichsten im Vergleich zur Vehikel/Saline-Gruppe. Ähnliche Gruppen-spezifische Mengenunterschiede deuteten sich bei dem Metaboliten DOPAC an. Jedoch waren hier ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zu verzeichnen. Bei der HPLC-Analyse (Abbildung 47) zeigte sich eine Erniedrigung der **Serotoninmenge** innerhalb der mit Haloperidol behandelten Gruppen, verglichen mit den Saline- behandelten Gruppen (zweifaktorielle ANOVA, $F_{\text{Behandlung}}(1,29) = 8,99$, $p = 0,006$). Bei diesem Vergleich gab es signifikante Unterschiede zwischen der Vehikel/Haloperidol-Gruppe und der Vehikel/Saline-Gruppe, sowie zwischen der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe und der Vehikel/Saline-Gruppe.

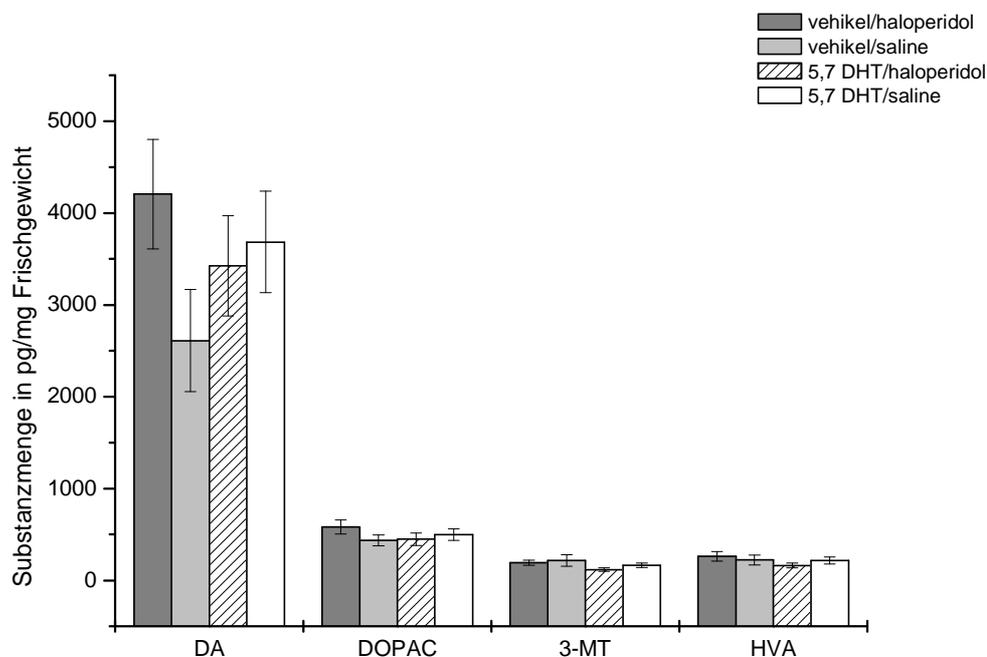


Abbildung 46 Dopamin und dopaminerge Metaboliten im pCPU

Darstellung der Substanzmengen des Neurotransmitters Dopamin (DA) und dessen Metaboliten (DOPAC, 3-MT und HVA) in den Gewebeproben des posterioren Caudatoputamen (pCPU), innerhalb der vier Behandlungsgruppen.

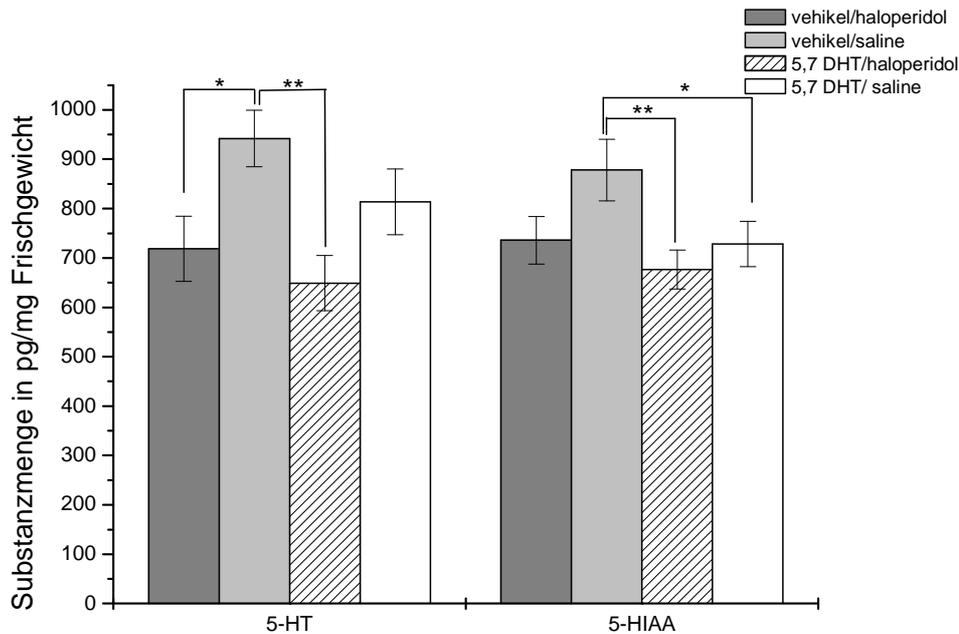


Abbildung 47 Serotonin und 5-HIAA im pCPU

Darstellung der Substanzmenge von 5-HT und seinem Metaboliten 5-HIAA innerhalb der unterschiedlichen Tiergruppen. **5-HT:** **p < 0.01 Vehikel/Saline-Gruppe vs. 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe, *p < 0.05 Vehikel/Saline-Gruppe vs. Vehikel/Haloperidol-Gruppe **5-HIAA:** **p < 0.01 Vehikel/Saline-Gruppe vs. 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe, *p < 0.05 Vehikel/Saline-Gruppe vs. 5,7-DHT/Saline-Gruppe (post-hoc Fisher LSD Test).

Der Gruppenvergleich hinsichtlich des Metaboliten **5-HIAA** ergab **niedrigere Mengen** innerhalb der 5,7-DHT behandelten Gruppen verglichen mit den Vehikel-behandelten Gruppen (zweifaktorielle ANOVA, $F_{Läsion} (1,29) = 4,6$, $p = 0,04$). Dieser Mengenunterschied war signifikant zwischen der 5,7-DHT/Haloperidol- und der Vehikel/Saline-Gruppe, auch zwischen der 5,7-DHT/Saline- und der Vehikel/Saline-Gruppe. Bezüglich des Turnovers konnten weder für Dopamin, noch für Serotonin innerhalb des pCPU-Gewebes signifikante Gruppenunterschiede (Tabelle 8) festgestellt werden.

Gruppen (pCPU)	Turnover Dopamin	Turnover Serotonin
Vehikel/Haloperidol	0,249 ± 0,008	1,065 ± 0,074
Vehikel/Saline	0,652 ± 0,399	0,935 ± 0,041
5,7-DHT/Haloperidol	0,227 ± 0,018	1,094 ± 0,101
5,7-DHT/Saline	0,247 ± 0,013	0,917 ± 0,052

Tabelle 8 Turnover von DA und 5-HT im pCPU

Darstellung der Turnover Mittelwerte für die einzelnen Tiergruppen für Dopamin und Serotonin im pCPU, unter Angabe der mittleren Fehlerabweichung (±SEM).

Nucleus accumbens

Innerhalb des Nucleus accumbens (NAcc) zeigten die mit 5,7-DHT behandelten Gruppen **geringere Dopamin-, DOPAC-, HVA- und 3-MT-Mengen** im Vergleich zu den **Vehikel-behandelten** Gruppen (Abbildung 48) (zweifaktorielle ANOVA: Dopamin: $F_{\text{Läsion}}(1,29) = 4,33$, $p = 0,046$, DOPAC: $F_{\text{Läsion}}(1,29) = 5,17$, $p = 0,03$, HVA: $F_{\text{Läsion}}(1,29) = 6,58$, $p = 0,016$, 3-MT: $F_{\text{Läsion}}(1,29) = 7,81$, $p = 0,009$). Bezogen auf die Dopamin-, DOPAC-, HVA- und 3-MT-Mengen waren diese Verringerungen bei der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe signifikant im Vergleich zur Vehikel/Saline-Gruppe. Die 3-MT-Menge war zudem innerhalb der 5,7-DHT/Saline-Gruppe, verglichen mit der Vehikel/Saline-Gruppe, signifikant erniedrigt. Die Analyse des Neurotransmitters **Serotonin** im NAcc ergab **höhere Mengen** in den mit **5,7-DHT behandelten Gruppen**, verglichen mit den Vehikel-behandelten Gruppen (zweifaktorielle ANOVA: Dopamin: $F_{\text{Läsion}}(1,29) = 16,08$, $p = 0,0004$). Dabei waren die Mengen des Neurotransmitters innerhalb der 5,7-DHT behandelten Gruppen jeweils sowohl gegenüber der Vehikel/Haloperidol-, als auch der Vehikel/Saline-Gruppe gegenüber signifikant erhöht (Abbildung 49).

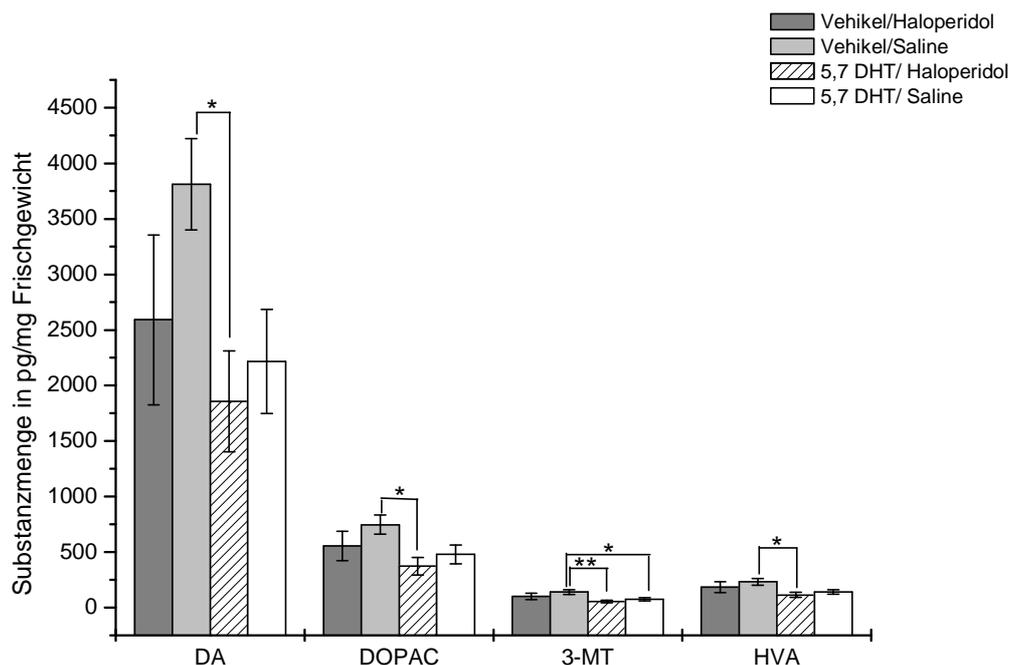


Abbildung 48 Dopamin und dopaminerge Metaboliten im NAcc

Darstellung der Substanzmengen des Neurotransmitters Dopamin (DA) und dessen Metaboliten (DOPAC, 3-MT und HVA) in den Gewebeproben des NAcc, innerhalb der vier Behandlungsgruppen. **DA:** * $p < 0,05$ Vehikel/Saline-Gruppe vs. 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe, **DOPAC:** * $p < 0,05$ Vehikel/Saline-Gruppe vs. 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe, **3-MT:** ** $p < 0,01$ Vehikel/Saline-Gruppe vs. 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe, * $p < 0,05$ Vehikel/Saline-Gruppe vs. 5,7-DHT/Saline-Gruppe, **HVA:** * $p < 0,05$. Vehikel/Saline-Gruppe vs. 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe (post-hoc Fisher LSD Test).

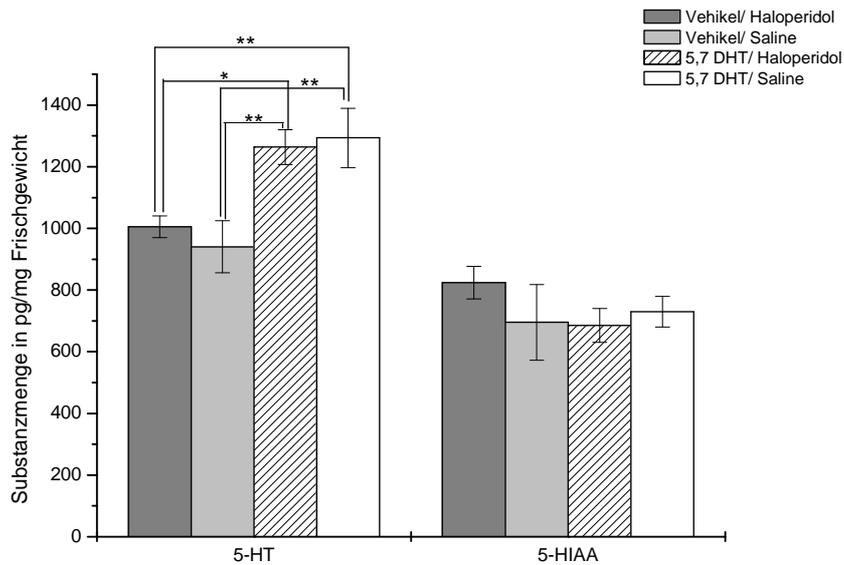


Abbildung 49 Serotonin und 5-HIAA im NAcc

Darstellung der Substanzmenge von 5-HT und seinem Metaboliten 5-HIAA innerhalb der unterschiedlich behandelten Tiergruppen innerhalb des NAcc. **5-HT:** * $p < 0.05$ 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe vs. Vehikel/Haloperidol-Gruppe, ** $p < 0.01$ 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe vs. Vehikel/Saline-Gruppe, ** $p < 0.01$ 5,7-DHT/Saline-Gruppe vs. Vehikel/Haloperidol-Gruppe, ** $p < 0.01$ 5,7-DHT/Saline-Gruppe vs. Vehikel/Saline-Gruppe (post-hoc Fisher LSD Test).

Bei der 5-HIAA-Menge ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen. Für die Turnoverrate (Tabelle 9) ergab sich bezüglich des Neurotransmitters Dopamin zwischen den verschiedenen Gruppen ebenfalls kein signifikanter Unterschied. Die Turnoverrate des **Neurotransmitters Serotonin** war bei den 5,7-DHT-behandelten Gruppen **niedriger** als bei den Vehikel-behandelten Gruppen. (zweifaktorielle ANOVA, $F_{\text{Läsion}}(1,29) = 15,84$, $p = 0,0004$).

Gruppen (NAcc)	Turnover Dopamin	Turnover Serotonin
Vehikel/Haloperidol	0,381 ± 0,029	0,829 ± 0,064 **, **
Vehikel/Saline	0,293 ± 0,018	0,715 ± 0,068 *
5,7-DHT/Haloperidol	0,358 ± 0,043	0,542 ± 0,034 *, **
5,7-DHT/Saline	0,338 ± 0,027	0,583 ± 0,046 **

Tabelle 9 Turnover von DA und 5-HT im NAcc

Darstellung der Turnover Mittelwerte für die einzelnen Tiergruppen für Dopamin und Serotonin unter Angabe der mittleren Fehlerabweichung (\pm SEM) im Nucleus accumbens (NAcc). **Turnover Serotonin:** ** $p < 0,01$ Vehikel/Haloperidol-Gruppe vs. 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe, ** $p < 0,01$ Vehikel/Haloperidol-Gruppe vs. 5,7-DHT/Saline-Gruppe, * $p < 0,05$ Vehikel/Saline-Gruppe vs. 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe (post-hoc Fisher LSD Test).

Dieser Unterschied war signifikant zwischen der Vehikel/Haloperidol-Gruppe und der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe, sowie zwischen der Vehikel/Haloperidol-Gruppe und der 5,7-DHT/Saline-Gruppe. Bezüglich der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe ergab sich zudem eine signifikante Erniedrigung im Vergleich zur Vehikel/Saline-Gruppe.

Hippocampus

Bezüglich der ermittelten Mengen von Dopamin und den Metaboliten DOPAC, 3-MT und HVA (Abbildung 50) sowie dem dazugehörigem Turnover (Tabelle 10) ergaben sich zwischen den einzelnen Tiergruppen keine signifikanten Unterschiede.

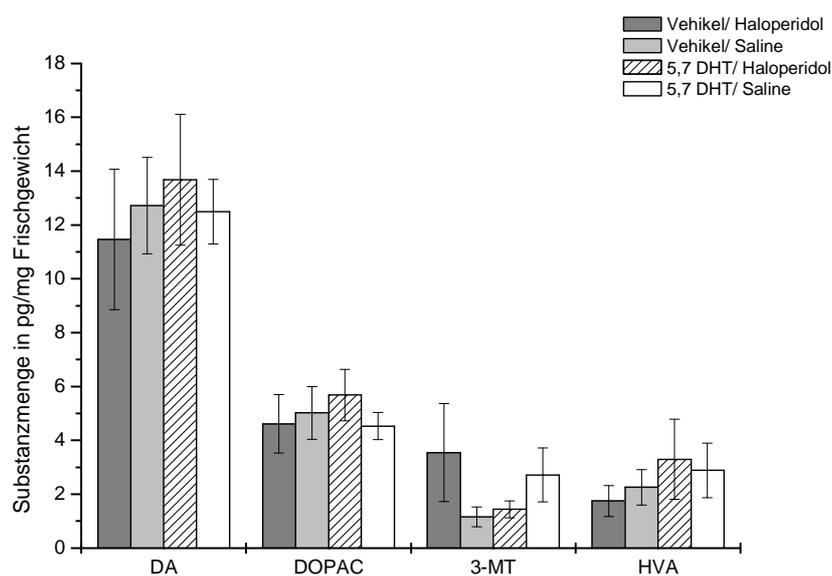


Abbildung 50 Dopamin und dopaminerge Metaboliten im Hippocampus

Darstellung der Substanzmengen des Neurotransmitters Dopamin (DA) und dessen Metaboliten (DOPAC, 3-MT und HVA) in den Gewebeproben des Hippocampus innerhalb der vier Behandlungsgruppen.

Die leichte Verminderung der Serotoninmenge (Abbildung 51) innerhalb 5,7-DHT-behandelten Gruppen ergab im Vergleich zu den Vehikel-behandelten Gruppen keinen signifikanten Unterschied. Im Gegensatz dazu ergab sich bei der Auswertung der Substanzmengen für den serotonergen Metaboliten 5-HIAA eine signifikante Verringerung bei den 5,7-DHT-behandelten Gruppen im Vergleich zu den Vehikel-behandelten Gruppen (zweifaktorielle ANOVA, $F_{\text{Läsion}}(1,29) = 8,03$, $p = 0,008$). Der Unterschied war signifikant zwischen der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe und der Vehikel/Haloperidol-Gruppe, sowie zwischen der 5,7-DHT/Saline und der Vehikel/Haloperidol-Gruppe.

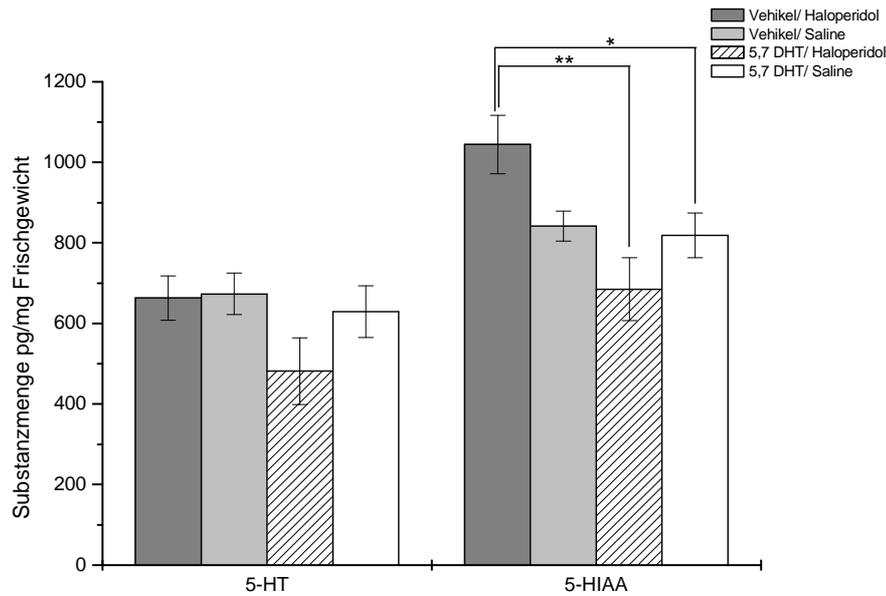


Abbildung 51 Serotonin und 5-HIAA im Hippocampus

Darstellung der Substanzmenge von 5-HT und seinem Metaboliten 5-HIAA innerhalb der unterschiedlichen Tiergruppen innerhalb des Hippocampus. **5-HIAA:** **p < 0.01 Vehikel/Haloperidol-Gruppe vs. 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe, *p < 0.05 Vehikel/Haloperidol-Gruppe vs. 5,7-DHT/+Saline-Gruppe (post-hoc Fisher LSD Test).

Die Serotonin-Turnoverrate ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchstiergruppen.

Gruppen (Hippocampus)	Turnover Dopamin	Turnover Serotonin
Vehikel/Haloperidol	1,104 ± 0,337	1,594 ± 0,062
Vehikel/Saline	0,666 ± 0,096	1,279 ± 0,088
5,7-DHT/Haloperidol	0,905 ± 0,194	1,592 ± 0,163
5,7-DHT/Saline	0,826 ± 0,104	1,361 ± 0,082

Tabelle 10 Turnover von DA und 5-HT im Hippocampus

Darstellung der Turnover Mittelwerte im Hippocampus für die einzelnen Tiergruppen für Dopamin und Serotonin unter Angabe der mittleren Fehlerabweichung (±SEM).

IV Diskussion

7.1. Projekt I

Untersuchungen zur Rolle der Glutamatrezeptoren bei der Konsolidierung der Katalepsie-Sensitivierung

Die über einen Zeitraum von neun Tagen durchgeführte *post-test*- Gabe der Glutamatrezeptor-Antagonisten MK801 (NMDA-Rezeptor-Antagonist) und GYKI52466 (AMPA-Kainat-Rezeptor-Antagonist) führte zu einer **verzögerten Entwicklung der Katalepsie-Sensitivierung**. Dies lässt vermuten, dass das glutamaterge System an der Konsolidierung der Katalepsie-Sensitivierung beteiligt ist. Bereits in anderen Studien konnte gezeigt werden, dass sowohl NMDA - als auch AMPA/Kainat-Rezeptoren eine wichtige Rolle bei der **Konsolidierung** verschiedener Lernprozesse (Ben Mamou et al., 2006; Bortolotto et al., 2003; Collingridge et al., 2013; Cooke und Bliss, 2006; Danysz et al., 1988; Rao und Finkbeiner, 2007; Riedel et al., 2003; Sadler et al., 2007; Sprengel, 2006) einnehmen und insbesondere an der Entwicklung der Psychostimulanzien-induzierten **Sensitivierung** beteiligt sind (Boudreau und Wolf, 2005; Broadbent et al., 2003; Sripada et al., 1998; Wolf, 1998). Dabei hängt die Art der Involvierung der beschriebenen Glutamatrezeptoren bei der Sensitivierungs-Induktion stark von der jeweils untersuchten Substanz ab (Kenny und Markou, 2004; Kim und Vezina, 1998). Da die Induktion eines Sensitivierungs-Experimentes definitionsgemäß die komplette Phase umschreibt, in der eine fragliche Substanz an mehreren, aufeinanderfolgenden Tage verabreicht, und das sensitivierende Verhalten gemessen wird (Thomas et al., 2008), ist mit dieser Bezeichnung nicht klar zwischen Phasen von Akquisition und Konsolidierung zu unterscheiden. Somit ist es in der vorliegenden Arbeit ein Anliegen gewesen, neben der bereits in der Vergangenheit untersuchten Akquisitionsphase (Lanis und Schmidt, 2001; Schmidt et al., 1999) die Beteiligung der Glutamatrezeptoren innerhalb der Konsolidierungsphase zu überprüfen. In der Vergangenheit wurde bereits mit den NMDA-Rezeptor Antagonisten d-CPPene (5mg/ml und 10mg/ml, i.p.), Eliprodil (30mg/ml, i.p.) und Ro25-6981 (15mg/ml, i.p.) (Lanis und Schmidt, 2001), aber auch mit dem hier verwendeten MK801 (Schmidt et al., 1999) eine Untersuchung zur Akquisitionsblockade während der Katalepsie-Sensitivierung durchgeführt (co-test Verabreichung der Antagonisten mit der Katalepsie-auslösenden Substanz Haloperidol). Diese Studien haben gezeigt, dass die genannten NMDA-Rezeptorantagonisten nicht zu einer Akquisitionsblockade führen, jedoch eine starke Zustands-Abhängigkeit (engl.: *state*-

dependency)⁶¹ auslösen. Diese *state-dependency* führte in den genannten Versuchen dazu, dass die Gabe der NMDA Rezeptorantagonisten während der Akquisitionsphase zu einer starken Assoziation führte. Daraus ergab sich die Konsequenz, dass Katalepsie nach der Sensitivierungsphase nur dann mit maximaler Intensität ausgeprägt war, wenn der bei der Akquisitionsphase co-administrierte NMDA Rezeptor-Antagonist entsprechend gleichzeitig mit Haloperidol verabreicht wurde. Da es sich in der hier durchgeführten Untersuchung jedoch um eine **post-test- Verabreichung** des NMDA Rezeptorantagonisten MK801 handelt, konnte bei den behandelten Tieren keine zur co-test- Verabreichung vergleichbare *state-dependency* ausgeprägt werden. Des Weiteren kann durch die beschriebene post-test Verabreichung ausgeschlossen werden, dass der **antikataleptische Effekt**, der nachweislich für den hier verwendeten NMDA Rezeptor Antagonisten MK801 vorliegt (Schmidt und Bubser, 1989), die hier gefundene Verzögerung der Katalepsie-Sensitivierung bewirkt hat. Dies liegt darin begründet, dass MK801 nach dem Verhaltenstest verabreicht worden ist und mit einer Halbwertszeit von 1,9 bis 2 Stunden (nach einer Injektion mit einer Dosis von 2 mg/kg, also dem 8-fachen der hier verwendeten Maximal-Dosis (von 0,25 mg/ml) (Vezzani et al., 1989) vor dem Verhaltenstest am darauffolgenden Tag nicht als Ursache der Verzögerung gelten kann⁶². Mit letzter Sicherheit kann dennoch nicht ausgeschlossen werden, dass die Lernphase der **Akquisition** bei Verabreichung der Glutamatrezeptor-Antagonisten nach dem Katalepsietest noch nicht **vollständig abgeschlossen war**. Deshalb sei an dieser Stelle erwähnt, dass sich die hier verwendete Einteilung und Trennung von Akquisitions- und Konsolidierungs-Phase auf bereits etablierte Literatur stützt, wo entsprechende Manipulationen in der pre-/co-test- bzw. der post-test-Phase, als Manipulationen in den jeweils beschriebenen Lernphasen eingeordnet werden (Abel und Lattal, 2001; Borta und Schwarting, 2005; Fricks-Gleason und Marshall, 2008; Garg und Holland, 1968; McDonald et al., 2005; Rose und Rankin, 2006). Hinsichtlich der verwendeten Testapparaturen ließen sich kleinere Schwankungen beobachten: Der prozentuale Unterschied zwischen den gemittelten Abstiegslatenzen der Haloperidol/Saline- und der Haloperidol/MK801-0.1-Gruppe war im Gittertest geringfügig größer als im Stangentest. Daneben erreichte die Haloperidol/MK801-0.25-Gruppe im Stangentest eine leicht höhere prozentuale Abweichung der gemittelten Abstiegslatenz im Vergleich zur Haloperidol/Saline-Gruppe. Bezüglich des Katalepsieverlaufs zeigte die Haloperidol/Saline-Gruppe im Gittertest einen früher eintretenden - instabileren - Ceiling-Effekt als im Stangentest, was ebenfalls für eine Testapparatur-bedingte Schwankung

⁶¹ Der Begriff der Zustands-Abhängigkeit wurde in Kapitel 2.7.1. definiert, vgl. außerdem (Colpaert, 1991; Overton, 1966)

⁶² Die Halbwertszeit von GYKI52466 wird in der Literatur im Vergleich zu der von MK801 als vier- bis sechsmal kürzer angegeben (Suzuki et al., 2005)

spricht. Die Vermutung, dass die Tiere im Gittertest früher absteigen, da es eines höheren Kraftaufwandes bedarf, die Haltung mit allen vier Pfoten am Gitter im Vergleich zur Stange (auf der sie sich nur mit ihren Vorderpfoten halten mussten, während die Hinterpfoten ruhig auf einem Untergrund auflagen) aufrecht zu erhalten, wäre zwar denkbar, würde jedoch nicht erklären, weswegen die Ergebnisse im zweiten Experiment keinen in diese Richtung weisenden Unterschied zeigten. Beide Test-Varianten gelten als anerkannte Verfahren um Katalepsistärke nachzuweisen (Sanberg et al., 1988). Um dennoch mögliche Schwankungen aufgrund der Wahl der Versuchsausrüstung auszuschließen, wurde in späteren Projekten, der Stangentest dem Gittertest vorgezogen. Durch die Wirkung der Glutamatrezeptor-Antagonisten wurde **keine komplette Blockade** der Katalepsie-Sensitivierung erreicht, eher eine **zeitliche Verzögerung**. Zudem erfuhr auch die Gruppe der mit MK801 behandelten Tiere eine Steigerung der Katalepsie während der Sensitivierung, die sich - wenn auch langsamer - an das Katalepsie-Level der Haloperidol/Saline-Gruppe annäherte. Das Ausbleiben solch einer Blockade ist möglicherweise auf drei Gründe zurück zu führen. Erstens könnte die **Dosierung** von MK801 zu niedrig gewesen sein um einen vollständig blockierenden Effekt hervorzurufen. Jedoch ist die verwendete Dosierung damit begründet, dass toxische Effekte vermieden werden sollten, welche sich in anderen Veröffentlichungen durch die Verwendung einer höheren MK801 Dosis gezeigt hatten (Allen und Iversen, 1990; Hashimoto et al., 2000). Für eine entsprechende Dosisabhängigkeit spricht auch, dass die Applikation der **höheren MK801** (0,25 mg/kg) Dosis eine **effektivere Verlangsamung** der Katalepsie-Sensitivierung ergab, als die niedrigere Dosierung (0,1 mg/kg). Zweitens ist wahrscheinlich, dass neben den NMDA- Rezeptoren noch **weitere Rezeptoren** eine Rolle bei der Konsolidierung der Katalepsie-Sensitivierung einnehmen. Zum einen, weil die NMDA- Rezeptoren wohl während der Akquisitions- (beziehungsweise co-Administration mit Haloperidol) Phase noch keine bedeutsame Wirkung haben (Lanis und Schmidt, 2001; Schmidt et al., 1999). Außerdem scheint der im zweiten Experiment untersuchte AMPA/Kainat Rezeptor ebenfalls eine entscheidende Rolle bei der Konsolidierung der Katalepsie-Sensitivierung einzunehmen. Daneben ist die Involvierung weiterer auch nicht-glutamaterger Transmittersysteme denkbar. Drittens ist es möglich, dass der **Konsolidierungsprozess**, wie oben erwähnt, **bereits vor der post-Test Gabe** der hier verwendeten Glutamatrezeptor-Antagonisten einsetzt. Dies könnte ein weiterer Grund sein, weshalb er nicht stärker blockiert werden konnte. Diese drei Diskussionspunkte sind für das zweite Experiment dieses Projekts von Bedeutung. Auch bei der Verwendung des AMPA/Kainat Rezeptor Antagonisten GYKI52466 wurde

eine Dosis gewählt die niedrig genug war, mögliche toxische Nebenwirkungen (beschrieben in (O'Hearn und Molliver, 2004)) zu vermeiden. Die hier gewählte Dosis von 5 mg/ml reicht jedoch bereits aus, eine Verzögerung der Konsolidierung der Katalepsie-Sensitivierung hervorzurufen. Interessanterweise hat dieser AMPA/Kainat Rezeptor Antagonist in einer früheren Studie nicht zu einem antikataleptischen Effekt in einem akuten Haloperidolmodell geführt (Zadow und Schmidt, 1994). **Auch wenn** durch die post-Testgabe der Glutamatrezeptor-Antagonisten **bereits ausgeschlossen** wurde, dass der für den NMDA Rezeptor Antagonisten MK801 beschriebene antikataleptische Effekt (Schmidt und Bubser, 1989) einen Einfluss auf die Testergebnisse hat, ist durch die Gabe des nicht- antikataleptisch wirkenden Glutamatrezeptor- Antagonisten GYKI52466 (Zadow und Schmidt, 1994) ein weiterer Beweis erbracht, dass **die Wirkung der Glutamat- Rezeptor- Antagonisten** vorwiegend die mutmaßlich in diesem Zeitfenster liegende **Konsolidierung beeinträchtigen** und eben nicht die durch Haloperidol hervorgerufenen Parkinsonsymptome⁶³. Wenn auch der Einwand erbracht werden muss, dass das Zeitfenster der Konsolidierung in den Versuchen des Projektes I nicht eindeutig umrissen werden konnte und die gezeigten Versuche offen lassen, ob weitere Neurotransmitter bei der Entwicklung der Katalepsie-Sensitivierung beteiligt sind, so lassen die Ergebnisse dieses Projektes I dennoch die Annahme zu, dass die hier antagonisierten Glutamatrezeptoren eine wichtige Rolle bei der Entwicklung der Katalepsie-Sensitivierung einnehmen.

7.2. Projekt IIa1

Untersuchungen zum Einfluss diskreter Hinweisreize auf den Verlauf der Katalepsie-Sensitivierung

Die Ergebnisse zur Untersuchung ob taktile beziehungsweise visuelle Hinweisreize allein ausreichen, um die Abstiegslatenz signifikant zu erniedrigen, haben gezeigt, dass die hier dargebotenen Reize in entsprechenden Modalitäten auf den ersten Blick zu schwach waren, um am Tag des Kontextwechsels zu einer signifikanten Reduktion der

⁶³ Zu erwähnen sei an dieser Stelle, dass weitere Studien zu dem AMPA Rezeptor Antagonisten 2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo(f)quinoxaline (NBQX) scheinbar widersprüchliche Ergebnisse bezüglich der antikataleptischen Wirkung zeigten. Während in der Studie von Zadow und Schmidt die bei akut mit Haloperidol behandelten Tieren die systemische Applikation von NBQX keinen antikataleptischen Effekt hervorrief (Zadow und Schmidt, 1994), führte die lokale Mikroinjektion von NBQX in den subthalamischen Nucleus, den Globus pallidus pars interna sowie in die Substantia nigra pars reticulata, nach einer Monoaminentleerung, zu einer Stimulation der motorischen Aktivität, sowie zur Hemmung des Rigors (Klockgether et al., 1991). In einer anderen Studie zeigte der AMPA Rezeptor Antagonist NBQX und der NMDA Rezeptor-Antagonist CPP nur bei Ko-Administration einer Schwellendosis von L-DOPA, nicht jedoch bei der Gabe ohne L-DOPA, einen Effekt bei der Verbesserung der Parkinson-Symptome bei 6-OHDA behandelten Ratten (Loschmann et al., 1991). Scheinbar ist die unterschiedliche Konzipierung der Versuchsdesigns (systemische Applikation vs. Mikroinjektion) ausschlaggebend für die hier erwähnten Unterschiede beim Effekt des AMPA-Rezeptor-Antagonisten NBQX auf die Parkinsonsymptomatik.

Abstiegslatenz zu führen. Bei der Darbietung des veränderten auditorischen Reizes (des Sinustones, mit einer Frequenz von 2 kHz, gegenüber dem sonst dargebotenen weißen Rauschen), kam es am Tag des Kontextwechsels zu einem weiteren, allerdings nicht signifikanten Anstieg der Abstiegslatenz im Vergleich zum Vortag. Interessanterweise wurde bei dem auditorischen Hinweisreiz-Versuch an den beiden Versuchstagen nach dem Kontextwechsel ein signifikanter Abfall der Abstiegslatenz registriert. Die unterschiedlichen Ergebnisse bei visuellen und taktilen Hinweisreizen gegenüber dem auditorischen Hinweisreiz lassen sich vermutlich dadurch erklären, dass diese exogenen Hinweisreize sich nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ unterscheiden. Unter den verwendeten Versuchsbedingungen haben die visuellen und taktilen Hinweisreize allein keinen signifikanten Einfluss auf die Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung. Der auditorische Stimulus hat bei den Versuchstieren vermutlich nicht als „zu schwacher“ Hinweisreiz fungiert, der aufgrund seiner geringen Intensität am Tag des Kontextwechsels zu keiner signifikanten Erniedrigung der Abstiegslatenz geführt hat; er könnte vielmehr als zu starker, stressauslösender Reiz bewirkt haben, dass die Tiere am Tag des Kontextwechsels aufgrund einer *freezing* Reaktion (nicht signifikant) länger in der Versuchsanlage verblieben. Diese eventuell stressauslösende Wirkung des Sinustons könnte wiederum an den darauffolgenden Tagen dazu geführt haben, dass die Tiere sich „in Erwartung“ einer weiteren Gabe dieses mutmaßlich Angst-auslösenden Tons schneller aus der Versuchsanlage heraus befreiten. Dass ein Kontext nicht nur als konditionierter Stimulus bestimmter Lernaufgaben, sondern eben auch als eine Art „Ankündigung“ dieses konditionierten Stimulus wirken kann, wurde bereits 1980 von Nadel und Willner erwähnt (Nadel und Willner, 1980). Es könnte demnach am neunten und zehnten Tag innerhalb des auditorischen Versuches zu einer Verschiebung des mutmaßlichen *freezing* Verhaltens zum *fight or flight* Verhalten gekommen sein. Dieses könnte dazu geführt haben, dass die Tiere durch das signifikant schnellere Absteigen am Tag neun gelernt haben, dass sie (bedingt durch ein insgesamt kürzeres Verweilen in der Versuchsbox, aus der sie direkt nach ihrem Abstieg entnommen wurden) der nunmehr mit Stress (beziehungsweise der Erwartung eines weiteren Stressreizes) assoziierten Versuchsbox schneller „entkommen“ können. Diese Annahme müsste in einem weiteren Versuch überprüft werden, bei dem die Tiere nicht direkt nach dem Abstieg von der Stange, nach dem zweiten Test, aus der Box entnommen werden, sondern auch anschließend noch in der Box verbleiben würden. Da die *freezing* Reaktion als Antwort auf einen bis dato unbekanntem Reiz (im hiesigen Fall den Sinuston) auftreten kann (Miki und Yoshimoto, 2010), während Tiere bei der *fight or flight* Reaktion eher reagieren,

wenn der stressauslösende Reiz bereits bekannt ist (Miki und Yoshimoto, 2010), wäre eine vermutete Verschiebung des Verhaltens nicht undenkbar. Die unmittelbare Gabe des Sinustons führt somit scheinbar nicht, wie vor dem Versuch vermutet, zu einer Erniedrigung der Abstiegslatenz, sondern zu deren (nicht signifikanten) Erhöhung. In der Literatur gelten höher frequente Reize, die auch von den Tieren selbst vokalisiert werden können, als verhaltensrelevant. Ratten sind auf Larynx-Ebene in der Lage, neben den für Menschen wahrnehmbaren Lauten (in einer Frequenz von 2 bis 4 kHz) Ultraschall-Laute zu produzieren (Brudzynski, 2009). Dabei geben Ratten Signale im 20-22 kHz Bereich von sich, wenn sie sich in einer eher aversiven Situation befinden, 50 kHz Vokalisationen erfolgen hingegen in als appetitiv charakterisierten Situationen (Brudzynski, 2009; Burgdorf et al., 2001b; Wohr und Schwarting, 2007, 2013; Yee et al., 2012). Innerhalb der sozialen Kommunikation der Ratten dient die Produktion von Lauten, in 22 kHz-Bereichen dazu, die Artgenossen vor drohenden Gefahren (z.B. vor Fressfeinden) zu warnen. Es ist gezeigt worden, dass sowohl die Wahrnehmung eines natürlich produzierten Lauts in dieser Frequenz, als auch die Wahrnehmung eines **künstlich produzierten** Sinustons von 20 kHz bei adulten Ratten zur Aktivierung des *freezing* oder *fight or flight*- Verhaltens führen kann (Wohr und Schwarting, 2007). Dabei scheint das gezeigte Verhalten jeweils stark davon abzuhängen, welcher Rattenstamm⁶⁴ untersucht und mit welchem Schalldruckpegel der 20 kHz Ton dargeboten wird (Commissaris et al., 2000). Bei dem hier durchgeführten Versuch wurde der beschriebene **2 kHz Sinus Ton** verwendet, da dieser Reiz zum einen noch von der Ratte wahrnehmbar ist und zum anderen unter der Vermutung, dass er eine neutrale, also weder appetitive noch aversive Wirkung auf das Verhalten der Ratten hat. Es ist jedoch auch gezeigt worden, dass Ratten Laute im 2-4 kHz Bereich dann von sich geben, wenn sie Schmerz verspüren (Brudzynski, 2009). Deshalb ergibt sich die Frage, ob die künstliche Darbietung des Sinustons von 2 kHz bei den Ratten nicht doch zu einer entsprechenden Stressreaktion geführt haben könnte. Ob dies tatsächlich der Fall war, müsste überprüft werden. Hierzu könnte innerhalb eines „*elevated plus maze*“(Pellow et al., 1985)⁶⁵ getestet werden, ob der Sinuston von 2 kHz (mit dem gleichem Schalldruckpegel wie in Projekt IIa1) einen

⁶⁴ Commissaris und seine Kollegen verglichen in Ihrer Arbeit das Verhalten von gescheckten Lister Hooded Ratten mit dem der Albino Wistar Ratten in Antwort auf akustische Reize von und unterhalb von 20 kHz. Bei diesem Vergleich stellte sich heraus, dass eher die Lister Hooded Ratten eine lokomotorische Aktivierung mit anschließenden Ruhephasen nach Darbietung eines 7, 12 oder 20 kHz Signals zeigten, wobei bei den niedrigeren Frequenzen von 7 und 12 kHz niedrigere Schalldruckintensitäten eher eine Lokomotion induzierten als bei der Darbietung des 20 kHz Reizes. Hingegen zeigten die Wistar Ratten bei entsprechenden akustischen Signalen eher eine reduzierte Motorik (Commissaris et al., 2000). Bei den in der vorliegenden Arbeit verwendeten Sprague Dawley Ratten handelt es sich wie bei den Wistar Ratten um eine Albino-Zuchtlinie. Die genotypischen Unterschiede, die Rekonstruktion der einzelnen Rattenlinienstammbäume der gescheckten und den Albino-Ratten sind Gegenstand aktueller Forschung (Kuramoto et al., 2012) Zu beachten ist jedoch, dass hier keine Linien-übergreifenden Rückschlüsse bezüglich des Verhaltens in Antwort auf akustische Reize gezogen werden sollten, da auch bei dem Versuchsparadigma, der Präpuls-Inhibition (bei dem ebenfalls akustische Reize verwendet werden), Unterschiede zwischen den Wistar, Lister Hooded und Sprague Dawley Ratten festgestellt wurden (Weiss et al., 2000).

⁶⁵ Bei dieser Verhaltensmessapparatur handelt es sich um ein erhöhtes plus-förmiges Labyrinth in dem die Versuchstiere die Wahl haben, sich zwischen einem geschlossenen und einem offenen Arm hindurch zu bewegen. Dabei ist es erwiesen, dass die Versuchstiere bevorzugt die geschlossenen Arme des Labyrinthes nutzen, und die offenen noch stärker vermeiden, wenn sie Angst empfinden.

anxiogenen Effekt auslöst. Der Sinuston sollte zudem bei unterschiedlichen Schalldruckpegeln verabreicht werden, unter der Fragestellung, ob der jeweils verwendete Schalldruckpegel Einfluss auf die gemessene Reaktion der Tiere haben könnte. Ebenso könnte in diesem Zusammenhang mit Hilfe eines Detektors für Ultraschallfrequenzen (mit der Möglichkeit, den künstlich dargebotenen Sinusreiz heraus zu filtern) geprüft werden, ob Ratten vielleicht sogar mit einer Emission von 20-22 kHz Lauten auf den Sinuston reagieren. Interessant wäre zudem die Messung der Neurotransmitter Acetylcholin innerhalb des anterioren Hypothalamus, des präoptischen Areals, des Bed Nucleus, der Stria Terminalis und des lateralen Septums die im Zusammenhang mit der 22 kHz Vokalisation eine erhöhte Acetylcholinausschüttung aus dem laterodorsal tegmentalen Nucleus erreicht (Brudzynski, 2009). Ein weiterführender Gedankenansatz könnte auch die Veränderung der Neurotransmission sein, die sich bei der 50 kHz Vokalisation ereignet. So ist gezeigt worden, dass sie in Zusammenhang mit einer verstärkten dopaminergen Transmission vom ventral tegmentalen Areal zum Nucleus accumbens (also innerhalb des mesolimbischen Systems) steht (Brudzynski, 2013), und dass die lokale Applikation von Amphetamin die appetitive 50 kHz Vokalisation verstärkt (Burgdorf et al., 2001a). Zwischen der 20 kHz und der 50 kHz Vokalisation scheint es eine Art kompetitiven Zusammenhang zu geben; so führt die Verabreichung von **aversiven Substanzen** neben der Verstärkung der 20 kHz Vokalisation zu einer **Verminderung der 50 kHz Vokalisation** (Burgdorf et al., 2001b). Zudem wurde gezeigt, dass die Ultraschallvokalisation durch eine Manipulation des dopaminergen Systems (insbesondere durch kombinierte Gabe von D1 und D2-Rezeptorantagonisten) herabgesetzt wird (Ringel et al., 2013). Aus einer Studie zur Beziehung zwischen Muttertieren und Nachkommen ist bekannt, dass die Gabe des dualen D1 und D2 Rezeptor Antagonisten Flupentixol die Isolationsrufe der Nachkommen steigert (Muller et al., 2009). Neben einer Beeinträchtigung der Vokalisation ist auch denkbar, dass die Haloperidolwirkung per se durch die Blockade der Dopamin-Rezeptoren auch zu einer veränderten Wahrnehmung des dargebotenen Sinustones geführt hat, der somit ein aversives Verhalten ausgelöst haben könnte. Einen Hinweis auf eine veränderte Wahrnehmung bietet eine Studie, die sich mit D1 und D2 ähnlichen knock-out Mausmutanten befasste und zeigte, dass ein Fehlen der D1 und D2 Rezeptoren eine geringe aber signifikante Auswirkung auf die Basisantwort der Cochlea auf Laute bewirkt (Maison et al., 2012). Dass das Neuroleptikum Haloperidol nicht nur die dopaminergen Rezeptoren des nigrostriatalen Systems beeinflusst (und somit die parkinsonoiden Symptome hervorruft), sondern auch die dopaminergen Rezeptoren des

mesolimbischen Systems (was vermutlich zu dem antipsychotischen Effekt bei der Behandlung von Schizophrenie-Patienten führt) ist aus der Literatur bekannt (Julien, 1997; Wadenberg et al., 2001). Ob diese Veränderung zu der oben vermuteten Verschiebung in Richtung einer aversiven Reaktion geführt haben könnte, bleibt offen. Würde sich diese Vermutung bestätigen, wäre zudem noch zu prüfen, ob die Tiere bei dem Versuch mit dem auditorischen Hinweisreiz tatsächlich die oben vermutete Verschiebung von einer *freezing*- zu einer *fight or flight*-Reaktion durchlaufen haben. Hierzu müssten beispielsweise die bekannten und diese Reaktionen begleitenden physiologischen Veränderungen⁶⁶ gemessen werden. Auch innerhalb bei der Parkinson-Erkrankung gibt es Patienten durch eine ausgeprägte Versteifung ihrer Körperhaltung und dem anfallsartigen Abbruch ihrer Fortbewegung eine Form des *freezings* zeigen (Matar et al., 2013). Laut den Autoren dieser Studie ist dieses *freezing* nicht nur innerhalb einer virtuellen Umgebung messbar, sondern es konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass verschiedene externe Hinweisreize zu einem mehr oder weniger starken *freezing* führen konnten (Matar et al., 2013). Bei den Versuchen zum Einfluss visueller beziehungsweise taktiler Hinweisreize ergibt sich in Projekt IIa1 keinerlei signifikante Erniedrigung der Abstiegslatenz. Da dies nicht unbedingt bedeutet, dass ein Wechsel einzelner Hinweisreize dieser Sinnes-Modalitäten nicht ausreichen um - nach erfolgter Katalepsie-Sensitivierung - solch eine Erniedrigung hervorzurufen, ist folgende Überlegung mit einzubeziehen: Bei bisherigen Versuchen sind die Tiere bereits vor Beginn der Haloperidolwirkung in dem Raum mit der Testapparatur eingebracht worden. Auch an dem Tag des Kontextwechsels wurden die veränderten Parameter den Tieren direkt zu Beginn des Versuches dargeboten. Beim Test der einzelnen Hinweisreize wurden die Tiere zu Beginn des Versuches und der Haloperidolwirkung zwar in den Raum mit der Versuchsbox eingebracht, jedoch allein für den Test in die Boxen mit der Versuchsapparatur. Das bedeutet, die Tiere wurden in allen vorhergehenden Versuchen für länger als 60 Minuten in dem Raum gehalten, in dem auch der Versuch durchgeführt wurde, hingegen verweilten sie während der aktuellen Versuche zu den Hinweisreizen maximal 6 Minuten⁶⁷ (zweimaliges Durchführen des Katalepsiets) in der Box, in der die Versuchsapparatur stand. Diese **kürzere Verweildauer** könnte eine optimalere Assoziation zwischen der unkonditionierten Haloperidolwirkung und den **vermutlich weniger intensiv** wahrgenommenen visuellen beziehungsweise taktilen Hinweisreizen, zusätzlich abgeschwächt haben. Wahrscheinlich ist zudem, dass neben den separat

⁶⁶ Wie beispielsweise die für das *freezing* angenommene Bradykardie gegenüber der höheren Herzschlagrate, die mit der *fight or flight* Reaktion in Verbindung gebracht wird (Miki und Yoshimoto, 2010; Schadt und Hassler, 1998)

⁶⁷ Unter Vernachlässigung der Zeit die für das Einbringen in und das Herausnehmen aus der Versuchsbox verging vgl. Material und Methoden.

dargebotenen Hinweisreizen auch die **Katalepsie-Apparatur** an sich als konditionierter Stimulus gewirkt hat. Das unterschiedliche Kontextkomponenten in unterschiedlichem Ausmaß an einem Assoziationsprozess beteiligt sein können wurde bereits durch ein mathematisches Modell von Rescorla und Wagner beschrieben (aus (Mazur, 2002)). Nach diesem Modell **(6)** kann ein Zusammenhang zwischen der **Veränderung der Assoziationsstärke** eines konditionierenden Stimulus (ΔV_i) innerhalb eines Versuchsabschnittes und der Summe verschiedener konditionierender Stimuli (V_{sum}) über sich wiederholende Versuchsdurchführungen hergestellt werden. Diese Gleichung berücksichtigt die maximale Ausprägung der durch einen unkonditionierten Reiz hervorgerufene Assoziationsstärke (A_j) sowie die **Salienz** (S_i) des einzelnen konditionierenden Stimulus, also die Auffälligkeit eines bestimmten Reizes, die als Maß dafür gelten kann, welche Relevanz das Vorhandensein eines Reizes für die bewusste Wahrnehmung des Versuchstieres hat (Trevino et al., 2011).

$$(6) \quad \Delta V_i = S_i \cdot (A_j - V_{sum})$$

Die Veränderung der Assoziationsstärke des untersuchten konditionierenden Stimulus kann dabei, je nach Salienz (S_i) des jeweiligen Stimulus und dem Einfluss der Assoziation aller in dem Versuch relevanten Stimuli (V_{sum}) entsprechend stark ausgeprägt sein. Im Verlauf einer Konditionierung nähert sich die Assoziationsstärke des konditionierten Stimulus (V_i) an die vom unkonditionierten Reiz ausgehende Assoziationsstärke (A_j) an (Mazur, 2002). In Anlehnung an dieses Modell könnte bezogen auf die Hinweisreiz-bedingten Untersuchungen innerhalb dieses Projektes vermutet werden, dass die Salienz des visuellen Reizes (S_v) und die des taktilen Reizes (S_t) für sich genommen relativ niedrig war. So könnten diese Salienzen bereits während der Sensitivierung durch die Salienz der Katalepsie-Apparatur (S_{Kat}) und insbesondere durch die des auditorischen Hinweisreizes (S_{aud}) in ihrer Assoziationsstärke „überschattet“ worden sein. Solch ein „überschattender Effekt“ (engl.: *overshadowing*) wurde innerhalb des Rescorla-Wagner Modells beschrieben (für Details vgl. (Mazur, 2002)). So kommt es zwar innerhalb der Katalepsie-Sensitivierung zu einer progressiven Steigerung der Assoziation, allerdings könnte dabei der Einfluss des visuellen, beziehungsweise taktilen Hinweisreizes in den entsprechenden Versuchstiergruppen gering ausgefallen und somit auch die Veränderung des taktilen oder visuellen Hinweisreizes am Tag des Kontextwechsels weniger stark ins Gewicht gefallen sein. Bezüglich des taktilen Hinweisreizes ist natürlich auch zu beachten, dass Ratten auch

mit ihren Vibrissen taktile Reize perzeptieren. Aufgrund der Durchführungsmöglichkeiten und einer Publikation (Hughes, 2007) die darauf schließen lässt, dass die Ratten durchaus in der Lage sind, taktile Unterschiede unabhängig von den Vibrissen wahrzunehmen, wurde dieser Aspekt im Projekt IIa1 vernachlässigt. Interessant wäre es dennoch zu untersuchen, ob eine Kombination aus taktiler Wahrnehmung durch die Pfoten der Tiere mit der Wahrnehmung über die Vibrissen vielleicht eine höhere Salienz des taktilen Hinweisreizes bedingen könnte. Der visuelle Hinweisreizwechsel durch die austauschbare Tapete (grau/ schwarz-weiß gestreift) wurde gewählt, da er sich innerhalb der konditionierten Platzpräferenz bereits als unterscheidbarer visueller Stimulus bei Ratten bewährt hatte (Agatsuma et al., 2006). Um bei dem visuellen Hinweisreiz auch eine Modulation der Salienz zu erreichen könnte man den Helligkeitskontrast zwischen den austauschbaren Tapeten erhöhen und beispielsweise eine schwarze (während der Sensitivierung) gegen eine weiße Tapete (während des Hinweisreizwechsels) austauschen. Zwischen dieser Auswahl gibt es laut (Davoody et al., 2011) bei Ratten gewisse Präferenzen für den Aufenthalt in einem entsprechend gestalteten Raum. Ziel der Versuche dieses Projektes war jedoch gerade durch den Wechsel eines möglichst diskreten einzelnen Hinweisreizes (und eben nicht solch einen mit höherer Salienz) heraus zu finden, ob dieser ausreicht um eine Verminderung der hoch-sensitvierten Abstiegslatenz zu erreichen. Um in einem weiteren Versuch zu testen, ob der hier verwendete visuelle und taktile Hinweisreiz ohne den vermuteten „Überschattungs-Effekt“ durch den auditorischen Hinweisreiz ausreichen würde, um am Tag des Hinweisreizwechsels eine verminderte Abstiegslatenz zu induzieren, könnte eine vorangehende Sensitivierung auch ohne das weiße Rauschen erneut durchgeführt werden. Die zu Beginn dieses Abschnittes beschriebenen Quantitätsunterschiede des taktilen und visuellen Hinweisreizes im Vergleich zum auditorischen Hinweisreiz könnten zusammenfassend als Salienzunterschied gewertet werden. Auch in Hinblick auf die Tatsache, dass allen Tieren während der Sensitivierungsphase die gleichen Hinweisreize aller drei Sinnesmodalitäten geboten wurden (taktil: glatter Untergrund und glatte Stange, visuell: Blick auf graue Wand, auditorisch: weißes Rauschen) könnte man davon ausgehen, dass das weiße Rauschen der auffälligste der drei Hinweisreize war, und somit während der Sensitivierung die höchste Salienz eingenommen hat, wodurch möglicherweise die Assoziationsstärke des auditorischen Reizes im Vordergrund stand. In einem weiteren Versuch könnte man versuchen, die Salienzen der einzelnen Hinweisreize einzuordnen um zu klären ob es möglich ist, den Versuch mit Hinweisreizen unterschiedlicher Sinnesmodalitäten, aber gleicher Salienz zu wiederholen. Des

Weiteren bleibt zu klären, welchen **Einfluss die Katalepsie-Apparatur** als solche als konditionierender Stimulus einnehmen könnte. Erwähnenswert ist diesbezüglich eine Publikation von Zahng und Li (Zhang und Li, 2012) die unter anderem gezeigt hat, dass es unter Haloperidoleinfluss zu einer „antipsychotischen Sensitivierung“ kommt, die durch zwei unterschiedliche Testapparaturen getestet werden kann. Dabei wird durch beide Testapparaturen die Inhibition eines bestimmten Verhaltens als Maß der Sensitivierung herangezogen. Die Autoren haben gezeigt, dass es während dieser Sensitivierung zu einer Kontextabhängigkeit bezüglich einer Apparatur kommt⁶⁸. Diese Studie spricht dafür, dass es auch im vorliegenden Projekt neben der Assoziation zwischen dem allgemeinen Kontext und der Haloperidolwirkung (**Umfeld-Assoziation**) auch zu einer direkten Assoziation zwischen dem Testapparat und der Haloperidolwirkung (**Testapparat-Assoziation**) gekommen sein könnte, die unabhängig voneinander zu betrachten sind. Vermutlich überlagert eine stabile Umfeld-Assoziation die Testapparat-Assoziation. Sobald einer der im Umfeld integrierten Hinweisreize zu stark durch Störfaktoren (andere Hinweisreize einer höheren Salienz) beeinträchtigt wird, kann die Testapparat-Assoziation in ihrem Einfluss auf die Assoziation ansteigen. Bei der auditorischen Gruppe könnte die Assoziation zum auditorischen Hinweisreiz während der Sensitivierung zwar (ähnlich wie bei dem Versuch zum taktilen und visuellen Hinweisreiz) aufgrund der kurzen Präsentation moderat abgeschwächt gewesen sein, aber bereits durch die eventuell höhere Salienz des weißen Rauschen (während der Sensitivierungsphase) einen höhere Relevanz hinsichtlich der Assoziationsstärke gehabt haben. Am Tag des Kontextwechsels, könnte sich der, durch das einmalige Erscheinen des Sinustons vermutete Stress zwar durch *freezing*-Verhalten prokataleptisch auf den Versuchstag ausgewirkt, aber zum anderen auch dazu geführt haben, dass die S_{Kat} der vermuteten **Testapparat-Assoziation** durch den starken Kontextwechsel abgeschwächt und diese somit an den darauffolgenden Tagen (bei der auditorischen Gruppe) nicht mehr in voller Stärke ausgeprägt werden konnte. Diese Annahme ist ein Erklärungsmodell, weshalb die **einmalige Darbietung** eines vermutlich Angstauslösenden auditorischen Reizes, die Stabilität der **Testapparat-Assoziation** **beeinträchtigt** haben und die Katalepsie nach dem Kontextwechsel vermindert haben könnte. Die Studie von Amtage und Schmidt (Amtage und Schmidt, 2003) führte bereits früher zu dem Schluss, dass an dem Konditionierungs-Prozess der Haloperidol-

⁶⁸ Dies wird damit begründet, dass Tiere, die in einer Testapparatur das inhibitorische Verhalten sensitiviert haben, bei einem Wechsel zur anderen Testapparatur trotz vorangehender Sensitivierung des inhibitorischen Verhaltens keinen Unterschied zum Verhalten von Tieren zeigten, die zuvor keine Sensitivierung des inhibitorischen Verhaltens erfahren haben. Ein Retest in der Apparatur in der die Sensitivierung stattfand zeigte bei den betreffenden Tiergruppen das zuvor durch die Sensitivierung verstärkt inhibitorische Verhalten erneut. Die Studie von Zahng und Li weist auf den Aspekt hin, dass die sensitivierende Wirkung vor allem bei dem eigentlichen klinischen Einsatz von Haloperidol als typisches Neuroleptikum (aber auch bei dem atypischen Neuroleptikum Olanzapin) als „universelles Muster“ der Wirkungsweise antipsychotischer Substanzen angesehen werden kann.

induzierten Katalepsie-Sensitivierung zwei unterschiedliche Mechanismen beteiligt sind. In der Veröffentlichung wird eine „Kontext-konditionierte Komponente“, die „extingiert werden kann“ beschrieben, während eine weitere „Kontext-abhängige Sensitivierungs-Komponente nicht extingiert werden kann“. Diese Interpretation fußt auf einer Studie in der eine Tiergruppe welche zunächst den Haloperidol-induzierten Sensitivierungsprozess und anschließend eine Extinktion durchlaufen hat, bei Readministration von Haloperidol nach dem Extinktionsprozess immer noch ein signifikant höheres Katalepsie-Level zeigte, als eine andere Tiergruppe, die erstmals mit Haloperidol behandelt wurde⁶⁹. Hier wurde nun die Vermutung aufgestellt, dass es sich bei dem bisher allgemein als Kontext-assoziierten Lernprozess beschriebenen Phänomen vermutlich um eine „Aufspaltung“ der Assoziation handeln könnte, bei der zum einen das Umfeld an sich, zum anderen aber auch die Testapparatur - unabhängig vom Umfeld als assoziativer Anteil verstanden werden könnte. Zu beachten ist natürlich auch, dass selbst wenn man die Katalepsie-Apparatur als eigenständige Kontext-Komponente wertet, auch diese insbesondere durch die visuellen und taktilen Sinnes-Systeme der Versuchstiere wahrgenommen wird⁷⁰. Zusammenfassend lässt dieses Projekt vermuten, dass sich neben der rein physikalischen Stärke eines diskreten Hinweisreizes auch das Salienz-Verhältnis zwischen verschiedenen Hinweisreizen auf den Kontext-abhängigen Assoziationsprozess der Katalepsie-Sensitivierung auswirkt.

7.3. Projekt IIa2

Auswirkungen täglicher Kontext-Veränderungen und einer Sensitivierung in gewohnter Umgebung auf die Entwicklung und Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung

Die tägliche Durchführung eines einmaligen Kontextwechsels (innerhalb der TKK-Gruppe) und die Durchführung der Sensitivierung innerhalb eines bereits bekannten Kontextes (der Tierhaltung, innerhalb der H-Gruppe), hatten im Projekt IIa2 Einfluss auf die Katalepsie-Sensitivierung. Die Sensitivierungsphase (Katalepsie-Entwicklung über die Messpunkte A bis C) zeigte in der **K-Gruppe** einen signifikanten Verlauf der Katalepsie-Sensitivierung. Bei der Entwicklung der Katalepsie-Sensitivierung zeigte sich innerhalb der H-Gruppe zwar auch ein signifikanter Unterschied zwischen den Messpunkten A, B

⁶⁹ Das die Extinktion erfolgreich gewesen war zeigte der Vergleich mit einer Tiergruppe die zunächst parallel zur zuerst beschriebenen Gruppe sensitiviert, dann aber im Anschluß nicht einer Extinktion unterzogen wurde (und im Vergleich zur Gruppe mit der Extinktion ein noch höheres Katalepsielevel beim beschriebenen Retest zeigte).

⁷⁰ Da die Apparatur vor allem in der visuellen Gruppe auch während dem Hinweisreizwechsel konstant blieb, könnte auch dies dazu beigetragen haben, dass der visuelle Hinweisreizwechsel allein nicht zu einer Erniedrigung der Abstiegslatenz geführt hat.

und C, im Vergleich zur K-Gruppe wurde in der H-Gruppe jedoch am Ende der Sensitivierung (Messpunkt C) eine signifikant niedrigere Abstiegslatenz gemessen. Verglichen mit der klassischen Katalepsie-Sensitivierungs-Gruppe hatte die H-Gruppe am Ende der Sensitivierungsphase also nicht die gleiche Katalepsistärke erreicht. Nach einer signifikant höheren Katalepsieausprägung zu Beginn der Sensitivierung (Messpunkt A) war diese innerhalb der TKK-Gruppe im Vergleich zur der Abstiegslatenz der K-Gruppe im weiteren Verlauf (Messpunkt B und C) der Sensitivierung signifikant niedriger. Eine Sichtung der einzelnen Messwerte ergab, dass die signifikante Erhöhung der Abstiegslatenzen am Messpunkt A innerhalb der TKK Gruppe dadurch zustande kam, dass zwei der 10 Tiere bei der Messung am zweiten Versuchstag (in Kontext F) die maximale Abstiegslatenz von 180s zeigten, während bei vier weitere Tiere am Tag 2 Abstiegslatenzen zwischen 42 und 80 Sekunden zu messen waren (der Mittelwert der Messdaten des zweiten Versuchstages lag in der TKK- Gruppe bei $60,8 \pm 21,8$ S.E.M). Am Tag 1 zeigten alle Tiere der TKK Gruppe hingegen geringe Abstiegslatenzen die vergleichbar mit den Abstiegslatenzen der K- und H- Gruppe waren (Mittelwerte an Tag 1 TKK-Gruppe: $0,9s \pm 0,5$ S.E.M; K-Gruppe: $0,2s \pm 0,13$ S.E.M; H-Gruppe: $1,4 \pm 1,19$ S.E.M.). Eine zusätzlich durchgeführte statistische Auswertung bestätigte dies: So ergab der Vergleich zwischen den Abstiegslatenzen an Tag 1 keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen (K-Gruppe vs. TKK-Gruppe, $p=0,26$, K-Gruppe vs. H-Gruppe, $p= 0,55$ und H-Gruppe vs. TKK-Gruppe, $p=0,65$, Mann-Whitney-U-Test). Ein Vergleich zwischen den Werten des zweiten Versuchstages zeigte hingegen signifikante Unterschiede zwischen der TKK- und der K-Gruppe ($p= 0,021$, Mann-Whitney-U-Test). Mit Blick auf den Lageplan wird deutlich, dass die Tiere der TKK-Gruppe am ersten Versuchstag im Kontext G getestet wurden. Dieser Kontext lag, von der Tierhaltung aus gesehen, fast auf dem gleichen Transportweg wie der Kontext F, in dem die Tiere am zweiten Tag getestet wurden. Sowohl in Kontext F als auch in Kontext G wurde den Tieren kein Hintergrundgeräusch vorgespielt, die Versuchsdurchführerin trug in beiden Kontexten dieselbe Kittelfarbe und die Testapparatur war eine glatte Stange. Eine Erhöhung der Abstiegslatenzen von Tag 1 zu Tag 2⁷¹ könnte auf diese zu starken Ähnlichkeiten der Kontexte G und F zurück zu führen sein. Im gesamten Sensitivierungsverlauf ergaben sich innerhalb der TKK-Gruppe keine signifikanten Unterschiede zwischen den gemittelten Messpunkten A, B und C. Dies lässt vermuten, dass der **täglich durchgeführte Kontextwechsel** innerhalb der TKK-Gruppe zu einer **abgeschwächten Assoziation** zwischen Kontext und dem kataleptischen Verhalten

⁷¹ Diese Erhöhung war auch innerhalb der TKK-Gruppe signifikant; der Vergleich der Abstiegslatenzen ergab zwischen Tag 1 und Tag 2 einen signifikanten Unterschied ($p=0,013$, Wilcoxon-Test).

geführt, somit **die Katalepsie-Sensitivierung verhindert hat**. Im Gegensatz zu bisherigen Untersuchungen zur Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung (Amtage und Schmidt, 2003; Klein und Schmidt, 2003), wurde hier erstmals nicht nur ein einmaliger Kontextwechsel nach dem Sensitivierungsprozess, sondern **ein täglicher Kontextwechsel während des Sensitivierungsprozess** durchgeführt. Dieser tägliche Kontextwechsel innerhalb der TKK-Gruppe hat (mit Ausnahme der oben beschriebenen Einschränkung des Abstiegslatenz-Anstieges von Tag 1 zu Tag 2) den Sensitivierungsprozess nachhaltig beeinträchtigt. Im Gegensatz zu den Gruppen des Projektes IIa1 verbrachte die TKK-Gruppe **zwar täglich eine längere Zeitspanne** an dem jeweiligen Ort⁷², an dem der Katalepsietest durchgeführt wurde, aber durch den **täglichen Wechsel des Umfeldes** wurde vermutlich eine stabile Assoziation zwischen diesem und der Haloperidolwirkung verhindert. Dies zeigt, dass es neben der im Projekt I beschriebenen pharmakologisch induzierten (Glutamatrezeptor-Antagonisten) Verlangsamung der Sensitivierung auch auf der Verhaltensebene möglich ist, den Prozess der sonst robusten Katalepsie-Sensitivierung abzuschwächen oder zu behindern. Innerhalb der anderen zwei Versuchstiergruppen zeigte die K-Gruppe erwartungsgemäß den stetigsten Verlauf einer Katalepsie-Sensitivierung. Die Abstiegslatenzen der TKK- und H-Gruppe lagen am Ende der Sensitivierung (Messpunkt C) im Vergleich zu denen der K-Gruppe jeweils signifikant niedriger. Diese Beobachtung impliziert die Frage, weshalb die H-Gruppe während der Sensitivierungsphase keine ähnlich starke Katalepsieausprägung wie die K-Gruppe erreichte, obwohl diese ebenso wie die K-Gruppe während der Sensitivierung keinen Kontextwechsel erfuhr. Eine Erklärung dafür könnte das Phänomen der **latenten Inhibition**⁷³ (Cole et al., 1996; Lubow und Moore, 1959) innerhalb der **H-Gruppe** sein. In Anlehnung an das im vorherigen Kapitel erwähnte Rescorla-Wagner-Modell **(6)**, das eine Veränderung der Salienz (S_i) eines konditionierenden Stimulus in Betracht zieht (Pearce und Hall, 1980), beschreibt die latente Inhibition eine „Retardierung der Konditionierung, die dadurch produziert wird, dass ein konditionierter Stimulus zunächst allein [also ohne zusätzlichen unkonditionierten Stimulus] dargeboten wird (...) und somit zu einer Abschwächung der Salienz dieses Stimulus [für eine nachfolgende Konditionierung] führt“ (Pearce und Hall, 1980). Das Phänomen der latenten Inhibition ist Spezies-übergreifend und wurde bereits bei verschiedenen Lernparadigmen⁷⁴ gezeigt (Lewis und Gould, 2004; Lubow, 1973,

⁷² Vgl. Diskussion zu ProjektIIa1, Aufenthaltsdauer in der Box

⁷³ Die zuvorige Paarung eines irrelevanten Stimulus mit einem Kontext, der später zur Assoziation mit einem biologisch signifikanten Stimulus herangezogen wird, verzögert die Akquisition dieser nachfolgenden Assoziation (Lubow und Moore, 1959).

⁷⁴ Gezeigt wurde die latente Inhibition beispielsweise bei der appetitiven Konditionierung, der Furcht-Konditionierung und Versuchen zur Geschmacksaversion (Hall und Honey, 1989).

2005; Norman und Cassaday, 2004; Radulovic et al., 1998). Bezogen auf die H-Gruppe wäre es also denkbar, dass die Assoziation zwischen Tierhaltung und der während der Sensitivierung durch Haloperidol induzierten Katalepsie dadurch beeinträchtigt wurde, dass die Tiere der H-Gruppe bereits zuvor ohne Haloperidolapplikation **an** den Kontext der **Tierhaltung gewöhnt** waren. Somit könnte die bisherige Assoziation zwischen Umgebung (Raum) und der täglichen Tierhaltungs- und Pflege-Prozedur die Bildung einer neuen Assoziation (zwischen eben diesem Raum und der Haloperidolwirkung) erschwert haben. Der Effekt einer beeinträchtigten Katalepsie-Sensitivierung innerhalb der H-Gruppe, der durch die **latente Inhibition** verursacht worden sein könnte, wäre demnach a priori zu erwarten gewesen. Eine neuere Studie hat gezeigt, dass das Phänomen der latenten Inhibition durch Futter und Wasserdeprivation im Versuchsparadigma der auditorischen Angstkonditionierung beeinträchtigt werden kann (De la Casa, 2013). Diese Studie könnte als Ausgangspunkt dienen um zu überprüfen, ob das hier vermutete Phänomen einer latenten Inhibition tatsächlich vorliegt. Der Kontextwechsel im klassischen Sinn (an Tag 9) hat bei der TKK-Gruppe erwartungsgemäß zu keiner Erniedrigung der Katalepsie-Sensitivierung geführt. Innerhalb der TKK-Gruppe ist dies durch die bereits besprochene fehlende Assoziation zwischen den täglich wechselnden Kontexten zu erklären, wodurch die Versuchsbedingungen an Tag 9 keinen angemessenen Kontextwechsel mehr darstellen. Innerhalb der H-Gruppe gab es erwartungsgemäß eine signifikante Erniedrigung der Abstiegslatenz an Tag 9 verglichen mit Tag 10, beziehungsweise mit der des letzten Messpunktes der Katalepsie-Sensitivierung. Die Tatsache, dass der Abfall der Abstiegslatenz innerhalb der K-Gruppe an Tag 9 sich nicht signifikant von der Abstiegslatenz des Tages 10, beziehungsweise des Messpunktes C unterscheidet, scheint zunächst nicht den Erwartungen zu entsprechen. Es ist jedoch auffällig, dass bei Kontrolle der jeweiligen Kontextbedingungen (Abbildung 19) der Kontext A und B, (abgesehen von Bekleidung und Kopfbedeckung der Versuchsdurchführerin), eher einer Kombination von diskreten visuellen und taktilen Hinweisreizen (graue Wand, glatte Stange, weiche Unterlage) und einem entsprechenden Wechsel (gestreifte Wand, umwickelte Stange, gröbere Unterlage) aus dem Projekt Ila1 entsprechen. Zudem könnte das Radiogeräusch aus Kontext A eventuell von den Ratten nicht gut genug von dem weißen Rauschen in Kontext B diskriminiert worden sein, und wie bereits in der Diskussion des Projektes Ila1 vermutet, genau dieses Rauschen/Radiogeräusch, auch eine erhöhte Salienz des auditorischen Stimulus in Bezug auf den visuellen und taktilen Reiz vorgelegen haben. Dies ist eine mögliche Begründung, wieso es in der K-Gruppe

nicht zu einer signifikanten Erniedrigung der Abstiegslatenz an Tag 9 im Vergleich zum letzten Messpunkt C der Sensitivierung, beziehungsweise Tag 10 gekommen ist. Im Vergleich zur H-Gruppe würde diese Begründung Sinn ergeben, denn bei dem Wechsel von der Tierhaltung (Kontextbezeichnung: Heimkäfig) zum Kontext B erfuhren die Tiere das dort vorgespielte weiße Rauschen (mit mutmaßlich höherer Salienz) zu dem sie zuvor keine Assoziation ausbilden konnten (da innerhalb der Tierhaltung weder Radiogeräusche noch weißes Rauschen vorgespielt wurden). Somit könnte das initial nicht erwartete Ergebnis des nicht signifikanten Abfalls der Abstiegslatenz an Tag 9 innerhalb der K-Gruppe bei näherer Betrachtung die Ergebnisse und Interpretation zum Projekt Ila1 unterstreichen.

7.4. Projekt Ila3

Untersuchung des Novelty Effektes bei der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung

Innerhalb des Projektes Ila3 wurde geprüft, ob die Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung auf Verhaltensebene durch die sogenannte Novelty-Hypothese erklärt werden kann, d.h. ob der **Neuigkeitswert eines Kontextes**, in den die Versuchstiere nach erfolgter Katalepsie-Sensitivierung erstmalig eingebracht wurden, zu einer **reduzierten Abstiegslatenz** führt. Hinweise auf diesen Umstand finden sich in verschiedenen Publikationen (Amtage und Schmidt, 2003; Klein und Schmidt, 2003). Diese Überlegung ist auch insofern interessant, als der Neuigkeitswert eines Reizes auch mit einer **Erhöhung dopaminerg Neurotransmission**, insbesondere über die mesolimbische Projektion, in Verbindung gebracht wurde (Hansen und Manahan-Vaughan, 2012; Legault und Wise, 2001; Ljungberg et al., 1992; Schultz, 1998). Dadurch könnte es theoretisch zu einer Kompensierung der Haloperidol-induzierten dopaminergen Hemmung in der indirekten Basalganglienschleife und somit zu einer motorischen Aktivierung kommen. Um diese Novelty-Hypothese zu prüfen, wurde im Projekt Ila3 versucht, den Neuigkeitswert eines Kontextes (B) durch eine der Sensitivierungsphase vorangehenden, Habituerungsphase zu **reduzieren**. Während dieser fünftägigen Habituerungsphase erhielt die SalineB/HaloperidolA-Gruppe im Kontext B, in dem der spätere Kontextwechsel stattfinden sollte, und die SalineA/HaloperidolA-Gruppe in Kontext A (dem späteren Sensitivierungskontext) 60 Minuten vor dem täglichen Katalepsietest eine Vehikel-Injektion. Bei Zutreffen der

Novelty-Hypothese wäre zu erwarten gewesen, dass die Reduktion der Abstiegslatenz im Rahmen eines Kontextwechsels (in Kontext B) nach erfolgter Katalepsie-Sensitivierung (im Kontext A), bei der SalineB/HaloperidolA-Gruppe eine geringere Ausprägung zeigen würde als die SalineA/HaloperidolA-Gruppe. Die Ergebnisse des Verhaltensversuches des Projektes Ila3 sprechen jedoch gegen die Anwendbarkeit dieser Novelty-Hypothese: weil die SalineB/HaloperidolA-Gruppe, (die bereits in der Habituerungsphase an den Kontext B gewöhnt wurde), keinen signifikant schwächeren Abfall der Abstiegslatenz gezeigt hat. Möglich wäre natürlich, dass die Intensität der hier durchgeführten Habituerung innerhalb der SalineB/HaloperidolA-Gruppe nicht ausreichte, den Novelty-Effekt dieser Gruppe zu unterbinden. Eine zu schwache Habituerung könnte dadurch hervorgerufen worden sein, dass direkt nach der fünftägigen Habituerungsphase die Sensitivierung für beide Gruppen in Kontext A erfolgte, was die Erinnerung an Kontext B innerhalb der SalineB/HaloperidolA-Gruppe durchaus minimiert haben könnte. In einer Studie zur Psychostimulanz-induzierten Sensitivierung mit Amphetamin schwächte eine sechs bis achtstündige Habituerung an einen Kontext vor der Amphetamingabe den akuten Effekt der Amphetaminwirkung stärker ab, als dies bei einer einstündigen Habituerung der Fall war (Crombag et al., 2001). Dies deutet zumindest darauf hin, dass die Stabilität einer Habituerung durch eine noch längere Dauer verstärkt werden kann. Die im vorliegenden Experiment durchgeführte Habituerung könnte aufgrund der längeren Zeitspanne, die durch die Sensitivierungsphase zwischen der Habituerung und der Darbietung des Kontextes B am Versuchstag 17 lag, empfindlich gestört worden sein. In der SalineB/HaloperidolA-Gruppe könnte jedoch auch ein Effekt der latenten Inhibition vermutet werden: Die Tiere dieser Gruppe könnten den Kontext B durch die Habituerungsphase mit einer Vehikelbedingten, kurzen Abstiegslatenz assoziiert haben. Dadurch könnte eine erneute Darbietung des Kontextes B (am Tag des Kontextwechsels) diese (Habituerungs-) Assoziation reaktiviert haben, wodurch eine neuere Assoziation zwischen Kontext B und der durch die Haloperidolwirkung induzierten, längeren Abstiegslatenz gehemmt worden sein könnte. Ein Effekt der latenten Inhibition müsste dann jedoch auch während der Sensitivierungsphase bei der SalineA/HaloperidolA-Gruppe sichtbar sein, und zwar in Form einer langsamer verlaufenden Sensitivierung, da der bereits für die SalineA/HaloperidolA-Gruppe bekannte Kontext A während der Habituerungsphase mit der Saline-Injektion, nicht mit der prokataleptischen Haloperidolwirkung in Verbindung gebracht wurde. Da es während der Sensitivierung beider Gruppen keine signifikanten Unterschiede gab, ist diese Hypothese allerdings eher unwahrscheinlich. Innerhalb der

H-Gruppe des Projektes Ila2 diene das Paradigma der latenten Inhibition als Begründung für einen verflachten Verlauf der Katalepsie-Sensitivierung. Die Zeit die die Tiere innerhalb der Tierhaltung verbrachten bevor der eigentliche Versuch begann, war mit insgesamt zwei Wochen (Ruhephase nach Antransport der Tiere und Eingewöhnungszeit) zum einen etwas länger als der Zeitraum, den die SalineB/HaloperidolA-Gruppe während der Habituiierungsphase (5 Tage) im Kontext B verbrachte. Zum anderen wurde die Tierhaltungsprozedur (Fütterung, Käfigreinigung) innerhalb der H-Gruppe des Projektes Ila2 vermutlich auch mit einer höheren Saliens assoziiert, als die Katalepsiemessung nach Saline-Injektion innerhalb des Kontextes B während der Habituiierungsphase der SalineB/HaloperidolA-Gruppe. Auch in diesem Fall kann die Studie von Crombag und Kollegen vergleichend herangezogen werden: sie zeigte neben dem oben erwähnten Einfluss der Dauer einer Habituiierung auf die akute Amphetaminwirkung, dass die Bildung einer Sensitivierung innerhalb des Heimkäfigs (wie in der H-Gruppe des Projektes Ila2) abgeschwächt ist gegenüber der Sensitivierung innerhalb eines neuen Kontextes, während eine Habituiierung an diesen neuen Kontext (für eine beziehungsweise sechs bis acht Stunden) nicht die Sensitivierung an sich sondern nur die akute Wirkung von Amphetamin beeinträchtigt (Crombag et al., 2001). Somit könnte, wie auch für die vorliegende Arbeit vermutet wurde, eine Gewöhnung an die Tierhaltung/Heimkäfige (im Projekt Ila2, bei der H-Gruppe) mit einer größeren Wahrscheinlichkeit zu einer latenten Inhibition geführt haben, als die Habituiierung an den neuen Kontext B (im Projekt Ila3, bei der SalineB/HaloperidolA-Gruppe). Um auszuschließen, dass die Novelty-Hypothese nicht aufgrund einer zu kurzen Habituiierungsphase oder einer zu langen Sensitivierungsphase verworfen werden muss, und die Tiere der SalineB/HaloperidolA-Gruppe einfach nur zu kurz habituiert oder zu lange sensitiviert worden sein könnten, sind weitere Untersuchungen nötig. Da eine stabile Katalepsie-Sensitivierung mehrere Versuchsdurchgänge benötigt sollte die Sensitivierungsphase nicht gekürzt werden. Sinnvoller wäre es, die Habituiierungsphase nicht auf fünf Tage vor der Sensitivierung zu beschränken sondern anstatt der Durchführung einer mehrtägigen Sensitivierung diese an einigen Tagen zu „durchbrechen“ um für die SalineB/HaloperidolA-Gruppe Tage einzuräumen, an denen die Tiere an Kontext B gewöhnt werden, während die Tiere der SalineA/HaloperidolA-Gruppe in dieser Zeit an einen später nicht mehr relevanten Kontext C gewöhnt werden. Wäre die verminderte Abstiegslatenz vornehmlich ein Novelty bedingter Effekt, müsste bei einer stabilen Habituation ein signifikant geringerer Abfall in der Abstiegslatenz bei der SalineB/HaloperidolA-Gruppe zu verzeichnen sein. Da dies unter den hier

durchgeführten Versuchsbedingungen nicht der Fall war, sollte trotz der genannten Einwände in Erwägung gezogen werden, ob ein Ausscheiden der Novelty-Hypothese in Frage kommt. Wie bereits erwähnt, wird der Novelty-Effekt auf neuronaler Ebene (ähnlich dem Effekt eines belohnenden Reizes) mit einer erhöhten dopaminergen Transmission innerhalb der mesolimbischen Projektion in Verbindung gebracht (Garcia-Garcia et al., 2010; Kakade und Dayan, 2002; Lisman und Grace, 2005; Rangel-Gomez et al., 2013; Sarantis et al., 2012). Darüber hinaus wurde dem Hippocampus, eine maßgebliche Beteiligung am Prozess der Novelty-Detektion zugesprochen, da in dieser Gehirnregion der Abgleich zwischen neuen und bereits gespeicherten Informationen stattfindet (Hansen und Manahan-Vaughan, 2012; Lisman und Grace, 2005; Sarantis et al., 2012). Von Sarantis und Kollegen wurde zudem gezeigt, dass es innerhalb des Hippocampus und des präfrontalen Kortex bei Ratten zu einer Novelty-induzierten, D_1 /NMDA-Rezeptor abhängigen, Phosphorylierung von NMDA und AMPA Rezeptoruntereinheiten und einer Phosphorylierung sowie Aktivierung der extrazellulär regulierten Kinasen 1 und 2 (ERK1/2)⁷⁵ kommt - welche jeweils durch einen Habituationsprozess verhindert werden konnten (Sarantis et al., 2012). Bei der Planung des vorliegenden Projektes, ist davon ausgegangen worden, dass es im Falle eines Novelty-induzierten **Anstieges von Dopamin** zu einer Kompensation der während der Haloperidolwirkung bedingten Hemmung der dopaminergen Neurone (innerhalb der nigrostriatalen Bahn, speziell der D_2 -Rezeptoren) und somit zu einer motorischen Aktivierung bei der Präsentation des neuen Kontextes kommen könnte. Auch wenn eine dopaminerge Aktivierung im Rahmen des Novelty-Effektes laut Literatur maßgeblich innerhalb der mesolimbischen Bahn stattfindet, wurde angenommen, dass diese die motorische Inaktivierung durch Haloperidol innerhalb der nigrostriatalen Bahn kompensieren könnte. Zum einen ist diese Annahme dadurch begründet gewesen, dass generell eine motorische Aktivierung durch Psychostimulanzien ausgelöst werden kann, welche ebenfalls innerhalb der mesolimbischen Bahn zu einer erhöhten dopaminergen Transmission führen (Fernandez-Espejo und Rodriguez-Espinosa, 2011). Zum anderen konnte gezeigt werden, dass es auch durch die Aktivierung der Rezeptoren des endogenen Peptids Neurokinin (NK)⁷⁶ sowohl innerhalb der nigrostriatalen Bahn (über einen NK2-Rezeptoragonisten), als auch innerhalb der mesolimbischen Bahn (über einen NK3-Rezeptoragonisten) zur motorischen Aktivierung und einer Erhöhung des dopaminergen Umsatzes kommt (Elliott et al., 1991). Elliott und Kollegen zeigten

⁷⁵ Diese extrazellulär-signal regulierten Kinasen (ERK) können durch diverse externe Faktoren (wie beispielsweise Wachstumsfaktoren, virale Infekte und Karzinogene) aktiviert werden und nehmen eine Transkriptionsfaktor-regulierende Funktion innerhalb der MAP-Kinase Signaltransduktionskaskade ein (Johnson und Lapadat, 2002).

⁷⁶ zur Synthese und zur neuroanatomischen Lokalisation dieses Peptides vgl. (Folkers et al., 1984; Mileusnic et al., 1999)

außerdem, dass eine periphere Gabe von Haloperidol die durch den NK2 Rezeptoragonisten ausgelöste motorische Aktivierung hemmen kann. Es ist also denkbar, dass eine derartige Hemmung durch die mesolimbische Bahn (über NK3 Rezeptoragonisten) kompensiert werden kann. Für eine Wechselwirkung der mesolimbischen und nigrostriatalen Bahn spricht in diesem Zusammenhang auch eine Studie mit Parkinson-Patienten, die zeigte dass ein Parkinson-induzierter Dopaminverlust insbesondere, wenn er initial innerhalb der linken Hemisphäre auftritt, mit einer Reduzierung des Novelty-Verhaltens einhergeht (Tomer und Aharon-Peretz, 2004). Um die aufgrund der Ergebnisse des Projektes Ila3 vermutete Verwerfung der Novelty-Hypothese im Paradigma der Katalepsie-Sensitivierung überprüfen zu können, wären neben dem oben vorgeschlagenem Verhaltensversuch somit auch molekularbiologische Messungen im Hippocampus interessant. Durch diese könnten in Anlehnung an die Studie von Sarantis und Kollegen (Sarantis et al., 2012) überprüft werden, ob es auch (nach erfolgreicher Katalepsie-Sensitivierung) durch die Darbietung eines neuen Kontextes zu einer Phosphorylierung von NMDA und AMPA Rezeptoruntereinheiten oder der ERK kommt. Es könnte zudem geprüft werden, ob die Gabe eines NK3-Rezeptoragonisten innerhalb der mesolimbischen Bahn die Haloperidol-induzierte Hemmung der motorischen Aktivität kompensiert. Als Alternative zur Novelty-Hypothese ist ein weiteres Modell hinsichtlich der dopaminergen Aktivität denkbar: das sogenannte **Reward Prediction Error Modell**. Dabei handelt es sich um die Annahme, dass durch die Art der Dopamintransmission der Unterschied zwischen einem vorhergesagten belohnenden Ereignis und einer sich tatsächlich ereignenden Belohnung vermittelt werden (Caplin und Dean, 2008). Die im Handbuch zur Belohnung und Entscheidungsfindung (*Handbook of reward and decision making*), durch Tobler und Kobasyashi (Tobler und Kobayashi, 2009) zitierte Arbeit von Schultz (Schultz et al., 1997) zeigt eindrucksvolle Messungen unterschiedlicher Feuerraten bei elektrophysiologischen Ableitungen dopaminergener Neurone im Affenmodell in einem appetitiven Konditionierungsparadigma. Das Reward Prediction Error Modell wurde von Schultz und Kollegen begründet (Mirenowicz und Schultz, 1994; Schultz et al., 1993) und geht davon aus, dass es zu sogenannten übermäßigen Feuerraten (engl.: *bursts*) dopaminergener Neurone kommt, sobald eine unerwartete Belohnung eintritt oder ein Reiz eine derartige Belohnung vorhersagt. Eine erhöhte dopaminerge Feuerrate setzt also auch dann ein, wenn ein Belohnungs-assoziierter/prädiktiver konditionierter Stimulus präsentiert wird. Bei den oben erwähnten Messungen verschob sich die dopaminerge Aktivierung in letzterem Fall auf den Zeitpunkt, an dem der konditionierte Stimulus

gegeben wurde, während bei der Belohnung an sich keine derartige Aktivierung mehr gemessen wurde (Tobler und Kobayashi, 2009). Blieb die durch den konditionierten Stimulus angekündigte Belohnung jedoch aus, so erfolgte zu dem Zeitpunkt an dem die Belohnung erwartet wurde (aber ausblieb) ein Abfall der dopaminergen Feuerrate (Ludvig et al., 2008; Schultz et al., 1997; Tobler und Kobayashi, 2009); bezeichnet als sogenannter negativer Vorhersagefehler (engl.: *negative prediction error*) (Schultz et al., 1997; Tobler und Kobayashi, 2009). Eine nicht vorhergesagte Belohnung, beziehungsweise eine Belohnung die stärker ausfällt als erwartet, führt hingegen zu einem dopaminergen *burst* und gilt als positiver Vorhersagefehler (engl.: *positive prediction error*) (Tobler und Kobayashi, 2009). Die Übertragung dieses Modells auf die Katalepsie-Sensitivierung erscheint zunächst unverständlich, da bei der kontextabhängigen Katalepsie-Sensitivierung bisher davon ausgegangen wurde, dass es sich bezüglich der präsentierten Kontexte um neutrale, also weder aversive noch belohnende, Kontexte handelt. Es lässt sich jedoch vermuten, dass der Abstieg (oder das Abnehmen der Tiere nach maximal 180 s) der **Vermeidung einer negativen Erfahrung** gleich kommt, da die Tiere (wie in diesem Projekt unter Salinebehandlung gezeigt) normalerweise nicht freiwillig an der Katalepsie-Apparatur verweilen (Sanberg et al., 1988). Mit Hilfe der Cyklovoltammetrie⁷⁷ wurde in einer Studie gezeigt, dass ein Stimulus der zunächst **mit einem aversiven Ereignis (Fußschock)** assoziiert ist, zu einer **Hemmung** der Dopaminausschüttung führt. Hingegen führte ein Stimulus der mit der **Vermeidung des aversiven Ereignis** (Erlernen der Möglichkeit, durch Tastendruck den Fußschock innerhalb kurzer Zeit nach einem Warnton zu vermeiden) assoziiert wird, zu einer **Erhöhung** der Dopamintransmission (Oleson et al., 2012). Man geht davon aus, dass die erhöhte Dopaminfreisetzung als verstärkendes Signal dazu beiträgt, dass ein bestimmtes Verhalten erlernt wird (Oleson et al., 2012; Schultz, 2010; Tobler und Kobayashi, 2009). In Anlehnung an das Schultz'sche Reward Prediction Modell könnte der Kontext A den konditionierten Stimulus für das Verharren an der Katalepsie-Apparatur (das „NoGo“-Verhalten) darstellen, die mutmaßliche Erhöhung der Dopamin-Aktivität könnte dann zu Beginn der Sensitivierung beim Absteigen der Tiere erfolgen, also beim Vermeiden der unangenehmen Situation. Eine erhöhte Dopamin-Aktivität könnte sich verstärkend auf den Lernprozess des „NoGo“- Verhaltens auswirken. Blicke der konditionierte Stimulus (im Falle des Kontext B) aus, würde das bis zu diesem Zeitpunkt mit dem Kontext A assoziierte „NoGo“-Verhalten nur in geringerem Maß ausgeführt, vergleichbar zu einer früheren Phase der Sensitivierung in Kontext A. In

⁷⁷ Bei der Cyklovoltammetrie handelt es sich um eine zeitlich und räumlich sehr hoch auflösbare Methode um *in vivo* Echtzeitmessungen der extrazellulären Neurotransmitterkonzentration durchzuführen (Robinson et al., 2003).

Bezug auf die beschriebene Differenzierung zwischen dem umgebenden Kontext (Umfeld-Assoziation) auf der einen, und der Katalepsie-Apparatur (Testapparatur Assoziation) auf der anderen Seite (vgl. Diskussion zum Projekt IIa2), würde diese Hypothese auch erklären, warum es zwar zu einer signifikanten Erniedrigung der Abstiegslatenz in Kontext B kommt, aber das Ausgangsniveau der Abstiegslatenz vor der Sensitivierung in Kontext A nicht ganz erreicht wird, da neben dem Umfeld vermutlich auch die Testapparatur assoziiert wurde, welche im Kontext B ebenfalls vorhanden ist. Abschließend lässt sich sagen, dass es weiterer Versuche bedarf, um die Novelty-Hypothese gänzlich auszuschließen und die Übertragbarkeit des Reward-Prediction Modells auf das Paradigma der Katalepsie-Sensitivierung zu überprüfen. Neben dem erwähnten Verhaltensversuch (der das Maß der Habituation erhöhen soll) wäre die Durchführung eines Katalepsieversuches mit kombinierter Cyclovoltammetrie ein probates Verfahren, um die tatsächlichen Veränderungen der dopaminergen Transmission innerhalb der mesolimbischen und nigrostriatalen Projektion während der haloperidolinduzierten Katalepsie-Sensitivierung (in Kontext A) und dem anschließenden Kontextwechsel (in Kontext B) zu detektieren, somit den Lernprozess der kontextabhängigen Katalepsie-Sensitivierung in Hinblick auf die zwei unterschiedlichen Theorien besser einordnen zu können.

7.5. Projekt IIb1

Anatomische Untersuchungen zur Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung

Im Rahmen von Projekt IIb1 wurden zunächst mittels Chinolinat Transmitterunspezifische Läsionen in den Arealen des präfrontalen Kortex, des Hippocampus und der Amygdalae durchgeführt. Nach einer Erholungsphase wurde mit jeder Versuchstiergruppe dieses Projekts eine Katalepsie-Sensitivierung mit anschließendem Kontextwechsel und einem erneuten Katalepsietest im Sensitivierungskontext durchgeführt. Nach Dekapitation der Tiere wurden die Läsionsorte mikroskopisch verifiziert. Dabei ergab sich, dass einige Läsionen nicht exakt platziert waren. Die tatsächlich lädierten Gebiete innerhalb des prälimbischen und agranulär insulären präfrontalen Kortex waren zwar vor allem in den gewünschten Regionen lokalisiert, umfassten jedoch auch partiell Gebiete über die Zielregionen hinaus. Bei vorgesehenen Läsionen innerhalb der basolateralen Amygdala wurde aus Gründen der Diskrepanz

zwischen Ziel- und tatsächlich verifizierter Läsion, die Bezeichnung der „Amygdalaläsion“ eingeführt, da die Läsionen sich hier definitiv nicht eindeutig auf das Gebiet der BLA beschränkten. Weniger dramatisch waren Abweichungen innerhalb der Hippocampusläsionen, weshalb die Daten dieser Versuchsreihe in Bezug auf den Läsionsort auch als die verlässlichsten gewertet werden können. Nichtsdestotrotz liefern die Ergebnisse des Projektes IIb1 aus allen Teilprojekten interessante Hinweise bezüglich der Lokalisation der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung.

IIb1.1. Präfrontaler Kortex

Innerhalb dieses Versuches wurden dreizehn Sensitivierungstage angesetzt, an Tag 14 erfolgte der Kontextwechsel und an Tag 15 wurde der Retest innerhalb des Sensitivierungs-Kontextes durchgeführt. Die auffällig lange Sensitivierungsphase wurde aufgrund von in unregelmäßigen Abständen auftretendem Baulärm innerhalb des Gebäudes gewählt. Mit dieser verlängerten Sensitivierungsphase sollte sichergestellt werden, dass die Tiere vor dem Kontextwechsel ein stabiles Sensitivierungslevel erreichten. Für die Auswertung wurden die Messwerte aus selbigem Grund ab dem zweiten bis einschließlich dreizehnten Versuchstag paarweise gemittelt. Trotz dieser unregelmäßigen Störungen ergab sich für alle vier Versuchstiergruppen ein signifikanter Verlauf der Sensitivierung. Dies ist interessant, da im Rahmen der Psychostimulanz-induzierten Sensitivierung gezeigt werden konnte, dass eine Läsion innerhalb des medialen präfrontalen Kortex (also der Region, in der sich der prälimbische präfrontale Kortex befindet) zu einer Beeinträchtigung der Induktion dieses Lernparadigmas führte (Cador et al., 1999; Steketee und Kalivas, 2011). Dabei scheint sowohl die Art der Läsion, als auch die der psychoaktiven Substanz eine Rolle zu spielen. So blockierten Läsionen im medialen präfrontalen Kortex mit Ibotenat in der Studie von Cador und Kollegen eine Amphetamin-induzierte Sensitivierung, während in einer weiteren Studie durch eine Chinolinat-Läsion innerhalb des gesamten präfrontalen Kortex und dem prälimbischen Kortex zwar eine Kokain-induzierte, nicht aber die aber eine Amphetamin-induzierte Sensitivierung gehemmt werden konnte (Tzschentke und Schmidt, 2000b). Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen der Psychostimulanz-induzierten Sensitivierung, lassen die vorliegenden Ergebnisse vermuten, dass der präfrontale Kortex in den untersuchten Teilregionen nicht bei der Entwicklung der Katalepsie-Sensitivierung involviert ist. Neben dem Sensitivierungsverlauf im allgemeinen, und den genannten Studien zur Rolle des präfrontalen Kortex innerhalb der Psychostimulanz-induzierten

Sensitivierung im speziellen, sollte das Hauptaugenmerk der hier vorliegenden Studie vor allem auf dem Einfluss der Chinolinat Applikation innerhalb des präfrontalen Kortex auf die Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung gelegt werden. Dabei war das Verhalten der AI-Vehikel/PrL-Vehikel-Gruppe zunächst insofern erwartungsgemäß, als dass sich sowohl zwischen den Abstiegslatenzen des Messpunktes F und des Tag 14, wie auch zwischen den Abstiegslatenzen der Tage 14 und 15, nicht jedoch zwischen den Abstiegslatenzen des Messpunktes F und des Tag 15 ein signifikanter Unterschied zeigte. Dies entsprach den Erwartungen, da die so gezeigte Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung innerhalb der als Kontrollgruppe dienenden AI-Vehikel/PrL-Vehikel-Gruppe mit den Daten anderer Katalepsieversuche (Klein und Schmidt, 2003; Schmidt et al., 1999) zu vereinbaren war. Bemerkenswert war, dass es **weder innerhalb der AI-Vehikel/PrL-Chinolinat-Gruppe, noch innerhalb der AI-Chinolinat/PrL-Vehikel-Gruppe** einen signifikanten Unterschied zwischen den Abstiegslatenzen am Messpunkt F und dem Tag 14 gab. Allerdings zeigte sich ein Trend zwischen den Abstiegslatenzen des Messpunktes F und dem Tag 14 ($p = 0,063$) innerhalb der **AI-Vehikel/PrL-Chinolinat-Gruppe**. Die Analyse der Rohdaten zeigte zudem, dass eines von insgesamt sieben, in dieser Gruppe verwendeten, Tiere einen Anstieg der Abstiegslatenz von Messpunkt F (17 Sekunden) zu Versuchstag 14 (41 Sekunden) zeigte, was in Hinblick auf die geringe Tiergruppengröße, dazu geführt haben könnte, dass der Unterschied zwischen Messpunkt F und Tag 14 bei der statistischen Analyse nur einen Trend, jedoch keine Signifikanz ergab. Innerhalb der **AI-Chinolinat/PrL-Chinolinat-Gruppe konnte kein signifikanter Unterschied** der Abstiegslatenzen zwischen **Messpunkt F und Tag 14**, sowie zwischen den Tagen **14 und 15 gemessen werden**. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass der PFC im allgemeinen eine moderate Rolle bei der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung einnehmen könnte - wobei der agranulär insulären Region des PFC dabei eher ein Einfluss zukommt als der prälimbischen. Für letztere ist zu vermuten, dass diese eher nicht an der Kontextabhängigkeit beteiligt ist. Dies ist insofern interessant, als in den meisten verhaltens-pharmakologischen Studien bisher vor allem der mediale PFC (in dem der prälimbische PFC lokalisiert ist) mit der Kontextabhängigkeit bei verschiedenen Lernparadigmen, wie beispielsweise der erwähnten Psychostimulanz-induzierten Sensitivierung (Cador et al., 1999; Steketee und Kalivas, 2011; Tzschentke und Schmidt, 2000b), der kontextbezogenen Angst-Konditionierung (Corcoran und Quirk, 2007) oder der visuellen Kontext-Aufgaben (Bussey et al., 1997; Hyman et al., 2012; Lee und Shin, 2012) in Verbindung gebracht wird. Seltener wird der agranulär insuläre PFC in diesem

Zusammenhang erwähnt. Vor allem Di Pietro und Kollegen untersuchten die Rolle des dorsalen agranulären insulären PFC bei Kokain-Selbstadministration (Di Pietro et al., 2006; Di Pietro et al., 2008). Es wurde gezeigt, dass der dorsale agranuläre insuläre PFC insbesondere bei der Hinweisreiz-bedingten und hier vor allem bezogen auf den Licht-Geruchs-bedingten Hinweisreiz während eines Reinstatement-Tests bei (Di Pietro et al., 2006) Kokain-Selbstadministration eine wichtige Rolle einnimmt. Die Rolle des prälimbischen PFC wurde innerhalb der Aufrechterhaltung und des Reinstatement-Tests in der gleichen Studie eher den Licht-Geräusch-bedingten Hinweisreizen zugeschrieben (Di Pietro et al., 2006). Das hier vorliegende Teilprojekt zeigt zusammenfassend, dass eine eher moderate Beteiligung an der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung der untersuchten PFC-Regionen vermutet werden sollte. Ob sich dabei Hinweisreiz-bedingte funktionelle Unterscheidungen ergeben, wie sie innerhalb der Studien von Di Pietro und Kollegen bei ihren Versuchen zur Kokain-Selbstadministration gefunden wurden, könnte in einer weiteren Studie untersucht werden, in welcher zwischen entsprechenden Hinweisreizen differenziert werden müsste. In Anlehnung an die Diskussion des Projekts Ila1 müsste dabei jedoch die Salienz der einzelnen Hinweisreize bei deren Auswahl berücksichtigt werden. Weiterhin sollte ausgeschlossen werden, dass die Regionen, die während der Chinolinat-Injektionen zusätzlich leicht lädiert wurden, die hier vorliegenden Versuchsergebnisse nicht verfälscht haben könnten. Dies sollte durch gezielte Läsionen der unmittelbar an die untersuchten Regionen angrenzenden Gebiete erfolgen. Es handelt sich insbesondere um die **an den agranulären insulären PFC** angrenzenden Regionen des primär motorischen Kortex und den lateralen orbitofrontalen Kortex, sowie die an den **prälimbischen PFC angrenzenden Regionen** des ventralen cingulären Kortex (Cg1) und den daran dorsal angrenzenden sekundär motorische Kortex, (der beim Herausziehen der Injektionskanüle innerhalb einzelner Tiere der AI-Vehikel/-PrL-Chinolinat-Gruppe ebenfalls mit dem Chinolinat in Kontakt gekommen ist). Bezüglich der Regionen des motorischen Kortex weisen zumindest einige Studien an Primaten darauf hin, dass diese bei der Änderung eines Kontextes in einem assoziativen Lernprozess eine Rolle spielen könnten (Carpenter et al., 1999; Sanes und Donoghue, 2000; Zach et al., 2008). Der prälimbischen PFC ist, wie in der Einleitung erwähnt, innerhalb des medialen PFC einzuordnen und entspricht der Cg3 Region anderer PFC-Nomenklaturen. Die in Einzelfällen leicht lädierte Cg1 Region liegt dorsal des prälimbischen PFC und wurde neben diesem hinsichtlich ihrer Rolle bei der kontextabhängigen Psychostimulanzien-induzierten Sensitivierung in einer anderen Studie untersucht (Liao und Lin, 2008). Dabei

stellte sich heraus, dass die Läsionen in der eher dorsal gelegenen Cg1 Region weder die sonst stärkere Sensitivierung in einer Testbox, noch die sonst weniger stark ausgeprägte Sensitivierung im Heimkäfig abschwächten, während die Läsion in der Cg3 Region (also des prälimbischen PFC) vor allem die Entwicklung einer sonst stabilen Sensitivierung innerhalb der Testbox beeinträchtigt (Liao und Lin, 2008). Die auch in der Studie von Liao und Lin erwähnte Arbeit von Tzschentke und Schmidt zeigte zudem, dass die Läsionen unterschiedlicher Subregionen des medialen PFC verschiedene Effekte auf die konditionierte Platzpräferenz unterschiedlicher Substanzen hatten⁷⁸ (Tzschentke und Schmidt, 1999), deshalb erscheint es unter anderem nicht unerheblich zu sein, der Rolle der Cg1 Region auch im Rahmen der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung nochmals auf den Grund zu gehen. Nur so könnte eine Beteiligung dieses und der die Zielregionen umgebende Areale an der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung ausgeschlossen, beziehungsweise die Interpretation der vorliegenden Ergebnisse zu einem falsch positiven Ergebnis vermieden, werden. Auch wenn die eindeutige Interpretation der hier gezeigten mutmaßlichen Beteiligung des agranulär insulären präfrontalen Kortex an der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung noch durch weitere Versuche untermauert werden sollte, ist sie aufgrund der gefundenen Ergebnisse zumindest denkbar. Zudem ist es möglich, dass die in der Literatur oft beschriebene reziproke Interaktion des präfrontalen Kortex mit dem Hippocampus (Dalley et al., 2004; Groenewegen et al., 1997; Hyman et al., 2012) auch bei der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung eine Rolle spielen könnte. Entsprechend sollen die Ergebnisse der Chinolinat-Injektion innerhalb der dorsalen und ventralen Hippocampusregion im Folgenden diskutiert werden.

IIb1.2. Hippocampus

Die Entwicklung der Sensitivierung von Tag 1 bis 6 verlief in allen Gruppen des Teilprojektes IIb1.2. signifikant. Zudem ergaben sich starke Hinweise darauf, dass der Hippocampus an der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung beteiligt ist: Während es innerhalb der dHipp-Vehikel/vHipp-Vehikel-Gruppe bei Kontextwechsel (Tag 7) eine signifikante Erniedrigung der Abstiegslatenz im Vergleich zum vorhergehenden und darauffolgenden Tag gab, wurde nur innerhalb dHipp-Vehikel/vHipp-Chinolinat-

⁷⁸ Dabei führten die Läsionen innerhalb des infralimbischen, prälimbischen und anterior cingulären PFC jeweils zu einer Beeinträchtigung der konditionierten Platzpräferenz (CPP) des NMDA –Rezeptor antagonisten CGP37849, während es bezüglich der CPP mit Morphin nur durch die Läsion des infralimbischen und der CPP mit Kokain nur durch die Läsion des prälimbischen PFC zu Beeinträchtigungen kam.

Gruppe eine signifikante Erniedrigung zwischen der Abstiegslatenz der Tage 6 und 7 gemessen. In der dHipp-Chinolinat/vHipp-Vehikel-Gruppe fanden sich zwischen der Abstiegslatenz an Tag 6, 7 und 8 keine signifikanten Unterschiede. Somit scheint der Hippocampus, insbesondere der dorsale Anteil ähnlich wie bei anderen kontextabhängigen Lernprozessen (Broadbent und Clark, 2013; Hall et al., 2000; Maren et al., 2013; Wang et al., 2012) in die kontextabhängige Katalepsie-Sensitivierung involviert zu sein. Der abgeflachte Verlauf zwischen den Versuchstagen 6, 7 und 8 war am markantesten innerhalb der dHipp-Chinolinat/vHipp-Vehikel-Gruppe. Dem dorsalen Hippocampus wird in der Literatur eine wichtige Rolle bei der Akquisition und Konsolidierung kontextabhängiger Gedächtnisprozesse zugesprochen (Maren und Hobin, 2007), wie beispielsweise bei der kontextabhängigen Angst Konditionierung (Anagnostaras et al., 2001; Misane et al., 2013) oder dem kontextabhängigen Kokain-bezogenen Reinstatement⁷⁹ (Fuchs et al., 2005). Bezogen auf den ventralen Anteil des Hippocampus konnte insbesondere in räumlichen Lernversuchen (die durch die Läsion des dorsalen und des gesamten Hippocampus beeinträchtigt wurden) gezeigt werden, dass die Läsion der ventralen Hippocampus-Region keine Beeinträchtigung dieser Aufgaben zur Folge hatte (Bannerman et al., 1999). Anagnostaras und Kollegen erwähnen zudem, dass die ventralen Anteile des Hippocampus bei der Furchtkonditionierung aufgrund ihrer starken Projektionen zur Amygdala eine Rolle spielen könnte (Anagnostaras et al., 2001). Auch die Veröffentlichung von Kjelstrup und Kollegen unterstreicht die bereits umrissene Diskrepanz (siehe auch (Moser und Moser, 1998)) zwischen der dorsalen und ventralen Hippocampus-Region bei Aufgaben, die sowohl räumliche (kontextuelle), als auch Angst-bezogene Aspekte berücksichtigt: So zeigten Tiere mit ventraler Hippocampusläsion nicht nur eine verlängerte Aufenthaltsdauer innerhalb der offenen Arme eines Labyrinthes (*engl.: open plus maze*) während die im dorsalen Hippocampusanteil lädierten Tiere und die Sham-lädierten Tiere eher von den offenen Labyrinth-Armen fern blieben (Kjelstrup et al., 2002) zudem wurde bei den Tieren mit ventraler Hippocampusläsion eine niedrigere Kortisonausschüttung innerhalb einer stark beleuchteten Umwelt gemessen (Kjelstrup et al., 2002). Eine weitere Veröffentlichung geht zudem davon aus, dass ein durch eine ventrale Hippocampusläsion induzierter anxiolytischer Effekt, trotz starker neuronaler Verknüpfung zur Amygdala (vgl. unter anderem (Petrovich et al., 2001) aus (McHugh et al., 2004)), einem anderen Mechanismus unterliegt, als der anxiolytische Effekt der durch

⁷⁹ Bei dem Reinstatement handelt es sich bei Versuchstieren um den Rückfall ins sogenannte „seeking“, also dem Verlangen nach einer Droge, nachdem mit den Versuchstiere zunächst eine „Selbst-Verabreichungs-Training“ zum Erhalt der Droge und eine anschließende Extinktion dieses Verhaltens durchgeführt wurde (Shalev et al., 2002).

Beeinträchtigung der Amygdala hervorgerufen werden kann (McHugh et al., 2004). Die beschriebenen Studien sollten bei der Diskussion dieses Teilprojektes berücksichtigt werden. So ist festzuhalten, dass ein vermutlich kontextbezogenes Ausbleiben einer verminderten Abstiegslatenz an Tag 7 sich sowohl bezogen auf den Tag vor Kontextwechsel (Tag 6), als auch auf den Tag nach dem Kontextwechsel (Tag 8) vor allem innerhalb der dHipp-Chinolinat/vHipp-Vehikel-Gruppe abzeichnet. Dies ist mit bisherigen Literatur-Erkenntnissen zu vereinbaren, die davon ausgehen, dass der dorsale Anteil des Hippocampus eher in kontext/platzbezogene Lernaufgaben involviert ist, als der ventrale. Ein bisher unberücksichtigter, aber nicht zu vernachlässigender Aspekt ist der Unterschied zwischen dem Vergleich der Abstiegslatenz am Tag des Kontextwechsels (**KW-Tag**), dem letzten Tag der Sensitivierung (**letzter Sens.-Tag**) und dem Vergleich zwischen der Abstiegslatenz am KW-Tag und dem Tag nach dem Kontextwechsel (**Retest-Tag**). Dabei fällt auf, dass sowohl die AI-Chinolinat/PrL-Vehikel- als die AI-Vehikel/PrL-Chinolinat-Gruppe des Projektes IIb1.1. keine signifikanten Unterschiede zwischen dem KW-Tag und dem letzten Sens.-Tag zeigten⁸⁰, während ein signifikanter Unterschied zwischen dem KW-Tag und dem Retest-Tag bestand. Bei der dHipp-Vehikel/vHipp-Chinolinat-Gruppe des Projektes IIb1.2. verhielt es sich bei diesem Vergleich genau umgekehrt. Was zu diesem Unterschied zwischen den beiden Gruppen des Projektes IIb1.1 und der dHipp-Vehikel/vHipp-Chinolinat-Gruppe des Projektes IIb1.2. führt, bleibt zu überprüfen. Ein möglicher Erklärungsansatz wäre der, dass Studien zum Arbeitsgedächtnis gezeigt haben, dass der präfrontale Kortex eher an der Speicherung und Prozessierung von kurzfristigen Informationen beteiligt ist, während die hippocampale Funktion eher dann involviert ist, wenn das Arbeitsgedächtnis für längere Zeit aufrechterhalten wird (Yoon et al., 2008). Allerdings ist dieser Erklärungsansatz mit Vorsicht zu bewerten, da die meisten Studien die sich mit diesem Aspekt beschäftigen (Lee und Kesner, 2003; Yoon et al., 2008), vor allem die Rolle des dorsalen Hippocampus untersucht haben und nicht die des ventralen. Außerdem ist fraglich, ob bei der Zeitspanne zwischen Sens.-Tag und Retest-Tag überhaupt von Arbeitsgedächtnis gesprochen werden darf. Nichtsdestotrotz wäre eine weitere Untersuchung dieses Zusammenhanges wünschenswert. So könnte beispielsweise eine Versuchsgruppe verwendet werden, die sowohl innerhalb des ventralen Hippocampus, als auch im agranulär insulären bzw. prälimbischen PFC mit einer Chinolinat-Injektion vorbehandelt wurde, um diesem Ergebnis weiter auf den Grund zu gehen. Neben der mutmaßlichen Beteiligung des dorsalen Hippocampus und der aus dem Projekt IIb1.1.

⁸⁰ Bei diesem Vergleich ist natürlich zu berücksichtigen, dass es innerhalb der AI-Vehikel/PrL-Chinolinat-Gruppe zwar keinen signifikanten Unterschied, aber einen Trend zu diesem Unterschied gab.

hervorgehenden Vermutung, dass insbesondere der agranulär insuläre PFC einen moderaten Anteil zur kontextabhängigen Komponente der Katalepsie-Sensitivierung beiträgt, wurde in der vorliegenden Arbeit zudem ein Vorversuch zur Beteiligung der Amygdalae an der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung durchgeführt.

IIb1.3. Amygdala

Da die Tiere im Vorversuch des Projektes IIb1.3. jeweils einen signifikanten Unterschied in der Abstiegslatenz zwischen dem Tag des Kontextwechsels (Tag 8) und den Tagen 7 beziehungsweise 9 zeigten, lassen diese Ergebnisse vermuten, dass die Amygdala nicht an der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung beteiligt ist. Diese Vermutung sollte dennoch vorsichtig formuliert werden, da die Läsionen, wie bereits zu Beginn dieses Abschnittes erwähnt, nicht sauber abzugrenzen waren und nicht ausgeschlossen werden kann, dass die Läsion der gesamten Amygdala oder, wie ursprünglich gewünscht, abgrenzend auf die basolaterale Amygdala ein anderes Bild ergeben hätte. Ähnlich wie für den Hippocampus wurde von Fuchs und Kollegen auch dem PFC sowie der basolateralen Amygdala bei kontextabhängigen Kokain-bezogenem Reinstatement, eine funktionelle Beteiligung zugesprochen (Fuchs et al., 2005). Eine andere Studie hat gezeigt, dass Neuronen der lateralen Amygdala vor allem dann ihre Feuerrate erhöhen, wenn ein CS außerhalb des Kontextes präsentiert wird, in welchem die Extinktion einer vorangehenden Angstkonditionierung, bei der dieser CS ebenfalls involviert war, stattgefunden hat, nicht aber, wenn der CS im Extinktionskontext präsentiert wurde (Hobin et al., 2003). Auch bei dem oben erwähnten Reinstatement (Rückfallverhalten) handelt es sich um einen Gedächtnisprozess, bei dem ein zuvor erlerntes Suchtverhalten zunächst eine Extinktion durchlaufen hat, bevor das Reinstatement (ausgelöst durch einen bestimmten Kontext) dieses Suchtverhalten wieder auslöst. Es wäre also denkbar, dass auch bei der kontextabhängigen Katalepsie-Sensitivierung eine Beteiligung der Amygdala erst dann augenscheinlich wird, wenn das durch Haloperidol-induzierte Sensitivierungsverhalten in einem weiteren Kontext extingiert und anschließend durch Rückführung in den Sensitivierungskontext wieder ausgelöst (wenn auch abgeschwächt, denn es gibt ja eine nicht extingierbare Komponente (vgl. (Amtage und Schmidt, 2003)) würde. Hobin und Kollegen begründen dieses Phänomen bei der Furchtkonditionierung mit der Ambiguität, die ein CS erlangt nachdem er im Rahmen des Konditionierungstrainings erst mit einem furchterregenden Schock (US) und während der Extinktion eben nicht mit diesem Schock gepaart wird (Hobin et al., 2003). Es wäre

interessant herauszufinden, ob eine solche Ambiguität auch bei der kontextabhängigen Katalepsie-Sensitivierung durch eine veränderte Feuerrate von Neuronen innerhalb der Amygdala kodiert werden könnte. Im diesen Zusammenhang sei jedoch auch erwähnt dass es, wie im Rahmen des ersten Projektes der vorliegenden Arbeit bereits hinsichtlich eines möglichen therapeutischen Ansatzes beschrieben, von Vorteil wäre, die Entwicklung der Katalepsie-Sensitivierung zu blockieren, da eine Extinktion eben zu dem Problem eines möglichen „Rückfallverhaltens“ führen kann. Die im ersten Projekt gezeigte Involvierung glutamaterger Rezeptoren ist diesbezüglich bereits ein wichtiger Ansatz. Um allerdings den gesamten Mechanismus zu verstehen, wäre die erwähnte Untersuchung hinsichtlich der Involvierung der Amygdala bei extingierter Katalepsie-Sensitivierung von Vorteil. Ein weiterer bisher noch nicht diskutierter Aspekt ist die Rolle der Amygdala bei emotionsbezogenen Lernparadigmen und solchen, die das kognitive Filtervermögen, (im speziellen die sogenannte Präpuls-Inhibition⁸¹, vgl. hierzu die Studie von (Wan und Swerdlow, 1997)) betreffen. Im vorliegenden Projekt wurde ein neutraler Kontextwechsel an Tag 8 verwendet. Würde sich nun durch weitere Untersuchungen zum Beispiel ergeben, dass der in Projekt IIa1 verwendete akustische Hinweisreiz tatsächlich zu einem stressgesteuerten Verhalten geführt hat, wäre es interessant, diesen Versuch unter zusätzlicher Einbeziehung einer Amygdalaläsion zu wiederholen. Dies könnte Aufschluss darüber geben, ob die Amygdala erst dann funktionell an der kontextabhängigen Katalepsie-Sensitivierung beteiligt ist, wenn der entsprechende Kontext durch das Auslösen entsprechender Emotionen charakterisiert werden kann. Auch die Rolle des ventralen Hippocampus könnte in diesem Zusammenhang nochmals untersucht werden, da dieser wie bezüglich Projekt IIb1.2. diskutiert, ebenfalls mit Angst-bezogenen Gedächtnisinhalten in Verbindung gebracht worden ist. Zusammenfassend lässt sich aus diesem Teilprojekt also schließen, dass die Amygdala in dem hier untersuchten Maße nicht an der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung beteiligt ist, es allerdings untersuchenswert wäre, ob dies sich ändert sobald der Kontext/ oder Hinweisreiz einen emotionsauslösenden Charakter hat; außerdem wie die Amygdala an der Kontextassoziation beteiligt ist, nachdem das sensitivierte Verhalten einer Extinktion unterzogen wurde.

⁸¹ Die Präpuls-Inhibition beschreibt die Verminderung einer Schreckreaktion (engl.: *startle reaction*) auf einen Schreckreaktions-auslösenden Stimulus, durch die vorherige Darbietung eines schwächeren Stimulus. Diese Präpuls-Inhibition ist insbesondere bei Schizophreniepatienten gestört und wird deshalb im Tiermodell herangezogen um die Symptomatik der fehlenden sensomotorischen „Ausblendefähigkeit“ (engl.: *sensimotory gating*) zu untersuchen (Swerdlow und Geyer, 1998). Die basolaterale Amygdala scheint bei in die Regulation dieser Präpuls-Inhibition involviert zu sein (Wan und Swerdlow, 1997).

7.6. Projekt IIb2

Untersuchung zur Auswirkung einer serotonergen Läsion im präfrontalen Kortex in Bezug auf die Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung

In diesem Projekt wurden zwei Tiergruppen innerhalb des prälimbischen (PrL-) Anteils des medialen präfrontalen Kortex (mPFC) mit einer 5,7-DHT-Injektion (gelöst in Ascorbinsäure) behandelt, während zwei weitere Gruppen im gleichen Areal eine Vehikelläsion (mit Ascorbinsäure) erhielten. Der Verhaltensversuch (Messung der Abstiegslatenz über 8 Tage mit Kontextwechsel am siebten Tag) erfolgte für alle Tiergruppen vier Wochen postoperativ; dabei erhielt jeweils eine der mit 5,7-DHT behandelten Tiergruppe 60 Minuten vor dem täglich durchgeführten Katalepsietest eine Haloperidol-Injektion (**5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe**) während die andere, mit 5,7-DHT behandelte, Gruppe stattdessen eine Saline-Injektion zum selben Zeitpunkt erhielt (**5,7-DHT/Saline-Gruppe**). Von den zwei Vehikel-lädierten Gruppen erhielt eine Gruppe analog zur 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe eine Haloperidol-Injektion (**Vehikel/Haloperidol-Gruppe**), 60 Minuten vor dem täglich durchgeführten Verhaltensversuch, während die zweite scheinladierte Gruppe (**Vehikel/Saline-Gruppe**) zum entsprechenden Zeitpunkt mit einer Saline-Injektion behandelt wurde.

Verhaltensversuch

Wie zu erwarten, führte die Haloperidol-Injektion sowohl bei der **5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe**, als auch bei der **Vehikel/Haloperidol-Gruppe** zu einer signifikanten Katalepsie-Sensitivierung. Interessant daran war, dass die Tiere der **5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe** an den letzten zwei Tagen der Katalepsie-Sensitivierung eine (nicht signifikant, Trend an Tag 5: $p = 0,0903$) höhere Abstiegslatenz zeigten als die Tiere der **Vehikel/Haloperidol-Gruppe**. Dieser Befund innerhalb der Verhaltensdaten erlaubt die Annahme, dass die 5,7-DHT-Injektion **innerhalb der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe zu einer dezenten Beschleunigung** der Katalepsie-Sensitivierung geführt hat. Bezüglich dieser Beschleunigung, hervorgerufen durch die Kombination der lokalen 5,7-DHT- und der systemischen Haloperidol-Injektion, könnte angenommen werden, dass der im Projekt IIa3 diskutierte und durch Haloperidol induzierte Mechanismus des „NoGo“-Lernens durch die 5,7-DHT-Injektion in den PFC geringfügig verstärkt wurde. Dieses Ergebnis steht einer von Bechara (Bechara, 2007) durchgeführten Studie gegenüber, in der gezeigt wurde, dass eine 5,7-DHT-Injektion **im medialen Vorderhirnbündel (MFB)**,

sowie im **Striatum** zu einer Verlangsamung der Katalepsie-Sensitivierung führten. Über einen **generellen Zusammenhang** zwischen **5,7-DHT-induzierten Läsionen** und der systemischen **Haloperidol-Applikation** wurden auf verhaltenspharmakologischer Ebene besonders im Rahmen der Schizophrenieforschung Studien durchgeführt: so wurde gezeigt, dass die Gabe von Haloperidol die, durch eine 5,7-DHT-Injektion innerhalb der medialen Raphé Kerne hervorgerufene Beeinträchtigung der **Präpuls-Inhibition**, wieder zu einem normales Präpuls-Verhalten zurück führt (Kusljic et al., 2006) Andere Verhaltensstudien haben gezeigt, dass die durch 5,7-DHT ausgelöste Läsion im **NAcc** (Loskutova, 1999) (insbesondere in dessen **Kern-Region**, engl.: *core* (Nelson et al., 2012)) zu einer Störung der **latenten Inhibition** führt. Dabei handelt es sich um ein Verhalten, dass durch Haloperidol potenziert werden kann (Williams et al., 1997). Zudem konnte gezeigt werden, dass die systemische Gabe von Haloperidol einer Störung der latenten Inhibition vorbeugt (Loskutova, 1999). Somit zeigte sich in den genannten Studien, dass sowohl eine 5,7-DHT Behandlung im Striatum und MFB (Bechara, 2007), als auch in einer der Ursprungsregionen der serotonergen Projektionen, (den medialen Raphé Kernen) (Kusljic et al., 2006) sowie innerhalb des NAcc core (Nelson et al., 2012), auf der Verhaltensebene eine zu Haloperidol gegensätzliche Wirkung hatten. Bei den Befunden zur latenten Inhibition ist jedoch auch zu erwähnen, dass eine serotonerge Läsion des **Nucleus accumbens** in der **äußeren Region** (engl.: *shell region*) eine ähnliche Wirkung hat wie die Verabreichung von Haloperidol - nämlich zur Potenzierung der latenten Inhibition führen kann (Nelson et al., 2012). Das ist bemerkenswert, da dieses Ergebnis zeigt, dass selbst innerhalb einer Gehirnregion fein abgegrenzte Läsionsorte darüber entscheiden, ob **ein Haloperidol-induziertes Verhalten** durch eine lokale 5,7 DHT-Behandlung abgeschwächt oder potenziert wird. Dieser generelle Zusammenhang zwischen einer serotonergen Läsion und der Wirkung des Dopamin D₂-Rezeptorantagonisten Haloperidol bedarf demnach weiterer Untersuchungen in verschiedenen Gehirnarealen, um den Gesamtzusammenhang zwischen serotonergen und dopaminergen Transmittersystemen und deren Auswirkungen auf Verhaltensebene zu verstehen. Für die vorliegende Arbeit sind die Untersuchungen von Nelson und Kollegen aufschlussreich, da die hier gezeigte (nicht signifikante) Zunahme der Katalepsie-Sensitivierung durch die Kombination der 5,7-DHT-Injektion innerhalb des PrL-PFC und der systemischen Haloperidol-Injektion bezüglich der Katalepsie-Sensitivierung zu einem von einer Studie von Bechera unterschiedlichen Ergebnis führt: Dort wurde bei gleicher Substanzapplikation im Striatum und dem MFB eine Verlangsamung der Haloperidol-induzierten Katalepsie-Sensitivierung nachgewiesen

(Bechara, 2007). Bei der **Kontextabhängigkeit** der Katalepsie-Sensitivierung ergab sich in der vorliegenden Studie kein Unterschied zwischen der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe und der Vehikel/Haloperidol-Gruppe. Auch dieses Ergebnis erscheint konträr zu den Daten von Bechara (Bechara, 2007), in dieser Arbeit wurde aufgezeigt, dass sowohl eine serotonerge Läsion im Striatum, als auch im (dieses serotonerg innervierenden) MFB zu einer Blockade der Kontextabhängigkeit führen. Von Relevanz ist zudem ein Vergleich des Ergebnisses des vorliegenden Projektes mit den Ergebnissen des Projektes IIb1.1.: Während die Transmitter-unselektive Chinolinat-Läsion innerhalb der AI-Vehikel/PrL-Chinolinat-Gruppe dazu führte, dass diese Gruppe im Verhalten zwar einen Trend ($p = 0,063$), aber keinen signifikanten Unterschied zwischen den Abstiegslatenzen am Tag des Kontextwechsels und dem Vortag (dem letzten Sensitivierungstag) zeigte, konnte hier ein signifikanter Unterschied zwischen den Abstiegslatenzen diesen beiden Versuchstagen festgestellt werden. Dieses Ergebnis liefert zumindest einen weiteren Hinweis darauf, dass die im Projekt IIb1.1. angezweifelte Beteiligung des prälimbischen PFC an der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung, wohl auch nicht über einen serotonergen Mechanismus vermittelt wird.

HPLC-Analyse

Zur Verifizierung der 5,7-DHT-Injektion im PrL-PFC und ihrer Auswirkungen auf einige der mit diesem Areal in Verbindung stehender Regionen, wurde mittels HPLC-gestützter Auswertung der Neurotransmittergehalte in den relevanten Hirnarealen gemessen.

PFC

Die prägnantesten Ergebnisse der HPLC-Auswertung im PFC sind nochmals zusammengefasst in **Tabelle 11** und **Tabelle 12** dargestellt. Bei der neurochemischen Auswertung im PrL-PFC stellte sich heraus, dass die **5-HT-Menge** nur innerhalb der **5,7-DHT/Saline-Gruppe** gegenüber der Vehikel/Saline-Gruppe bzw. Vehikel/Haloperidol-Gruppe **signifikant** um 48,15% bzw. 53,48% **erniedrigt** war. Hingegen war der Anteil des serotonergen Metaboliten **5-HIAA** sowohl in der **5,7-DHT/Saline-Gruppe** (mit 51,95% gegenüber der Vehikel/Saline-Gruppe und mit 56,54% gegenüber der Vehikel/Haloperidol-Gruppe), als auch in der **5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe** (mit 36,42% gegenüber der Vehikel/Saline-Gruppe und mit 42,50% gegenüber der Vehikel/Haloperidol-Gruppe), signifikant erniedrigt. Hinsichtlich der Turnoverrate ergaben sich für den Neurotransmitter Serotonin und dessen Metaboliten keine signifikanten Unterschiede. Bezüglich der 5,7-DHT/Saline-Gruppe könnte dies durch eine gleichzeitige

Erniedrigung des Transmitters und seines Metaboliten zu erklären sein, wodurch sich demzufolge auch keine Unterschiede in deren Verhältnis ergeben. Bezüglich der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe scheint dieses Ergebnis weniger eindeutig. Da bei der HPLC jedoch sowohl die extrazelluläre (bei erhöhter Feuerrate erhöht) als auch die intrazelluläre Serotoninmenge (der vesikulären Speicher) gemessen werden, die in der Summe als Nenner des Quotienten gilt, der bei der Berechnung des Turnovers mit der Menge des extrazellulären Metaboliten ins Verhältnis gesetzt wird, könnte man davon ausgehen, dass durch die Läsion zumindest die serotonerge Feuerrate innerhalb der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe nachgelassen hat. Dies könnte erklären, weshalb es zwar zu keiner signifikanten Reduktion der Serotoninmenge innerhalb dieser Gruppe gekommen ist, es aber trotz der signifikant erniedrigten 5-HIAA Menge im Gesamtbild wie bei der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe ebenfalls zu keiner signifikanten Reduktion des Turnovers kam. Aufgrund dieser Befunde muss davon ausgegangen werden, dass das Neurotoxin 5,7-DHT insbesondere in der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe nur **moderat** zu einer Läsion im PrL-PFC geführt hat. Dieser Befund wirft die Frage auf, welchen Einfluss die im Verhaltensversuch verwendete Injektion des Neuroleptikums Haloperidol auf die serotonerge Läsion gehabt haben könnte, d.h. ob **Haloperidol** bei der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe im PrL-PFC **eventuell zu einer Kompensierung** der durch die Läsion eigentlich erwarteten geringeren 5-HT Menge gegenüber den Kontrollgruppen geführt haben könnte. Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass die alleinige Gabe von Haloperidol in der **Vehikel/Haloperidol-Gruppe** zu einer leichten, wenn auch nicht signifikanten prozentualen Erhöhung der 5HT bzw. 5HIAA Menge im Vergleich zur Vehikel/Saline-Gruppe geführt hat. Dies weist zumindest auf einen Kompensationsmechanismus bezüglich der Serotoninmenge durch Haloperidol hin. Zudem stellte sich in einer Studie von Barkai und Kollegen heraus, dass eine chronische Haloperidolgabe innerhalb der zerebrospinalen Flüssigkeit zu einem erhöhten Serointurnover führte, was sie anhand von einem gemessenen Anstieg des Metaboliten 5HIAA postulierten (Barkai et al., 1984). Diese Messung innerhalb der zerebrospinalen Flüssigkeit lässt zwar keine Aussage über die Veränderungen innerhalb bestimmter Gehirnareale zu, ist aber dennoch ein Hinweis auf einen das serotonerge System beeinflussenden Mechanismus durch Haloperidol. In einer weiteren Arbeit konnte hingegen eine Haloperidol-induzierte, moderate Erniedrigung von 5HIAA innerhalb des Striatums und des Hippocampus gemessen werden (Burnet et al., 1996). Während sich diese Studien allgemein auf reine Haloperidol-induzierte Auswirkungen auf das serotonerge Transmittersystem beziehen, ist auf den verhaltensbiologischen

Zusammenhang zwischen dem Neuroleptikum Haloperidol und serotonergen Läsionen bereits im Abschnitt zu den Verhaltensdaten des vorliegenden Projektes eingegangen worden. Es finden sich weiterhin molekularbiologische Studien, welche die **dopaminerg-serotonerge Wechselwirkung auf Rezeptorebene** aufarbeiten, insbesondere bei der Erforschung der Wirkungsweise atypischer und typischer Neuroleptika (zu letzteren wird Haloperidol zugeordnet) und deren Nebenwirkungen (zu welchen u.a. die durch Haloperidol verursachte Katalepsie zählt) wurde oben genannter Zusammenhang mehrfach untersucht (zusammenfassend vgl. (Kapur und Remington, 1996; Olijslagers et al., 2006)).

betreffende Substanz (Neurotransmitter/Metabolit)	Gruppe	prozentuale Abweichung der Substanz-Menge bezogen auf die Vehikel/ Saline-Gruppe \pm S.E.M.
5-HT	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-48,15 % * \pm 10,93
5-HT	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-24,31% \pm 19,82
5-HT	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	+11,46% \pm 12,72
5-HIAA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-51,95%** \pm 8,94
5-HIAA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-36,42%* \pm 16,29
5-HIAA	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	+10,57% \pm 10,45
DA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	+36,53% \pm 13,99
DA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	+ 71,60% \pm 31,46
DA	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	+79,88% \pm 52,56
HVA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	+ 46,40% \pm 25,09
HVA	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	+ 69,38%* \pm 23,87

Tabelle 11 Darstellung einiger prozentualer Veränderungen der Transmitter und Metabolitenmenge im PFC bezogen auf die Vehikel/Saline-Gruppe

Der prozentuale Anteil der Substanzmenge mit dem mittleren Standardfehler (\pm S.E.M.), (der jeweils in der linken Spalte angegebenen Substanz) einer bestimmten Gruppe (mittlere Spalte) wurde in dieser Tabelle im Vergleich zur entsprechenden Substanzmenge der Vehikel/ Saline-Gruppe im PFC angegeben. Abkürzungen: DA, Dopamin; HVA, Homovanillinsäure; 5-HT, Serotonin; 5HIAA, 5-Hydroxyindolessigsäure.

betreffende Substanz (Neurotransmitter/Metabolit)	Gruppe	prozentuale Abweichung der Substanz Menge bezogen auf die Vehikel/ Haloperidol-Gruppe \pm S.E.M.
5-HT	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-53,48% ** \pm 6,81
5-HT	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-32,38% \pm 17,78
5-HIAA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-50,54% ** \pm 6,27
5-HIAA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-42,50% ** \pm 14,73
DA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-24,10% \pm 7,78
DA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-4,60% \pm 17,49

Tabelle 12 Darstellung einiger prozentualer Veränderungen der Transmitter und Metabolitenmenge im PFC bezogen auf die Vehikel/Haloperidol-Gruppe

Angegeben ist der prozentuale Anteil der Substanzmenge (\pm S.E.M.) (rechte Spalte), der (in der linken Spalte angegebenen) Substanz, einer bestimmten Gruppe (mittlere Spalte). Dieser Anteil bezieht sich hier auf die entsprechende Substanzmenge der Vehikel/Haloperidol-Gruppe im PFC. Abkürzungen: vgl. Tabelle 11.

So wurde vermutet, dass insbesondere die **Auto-Inhibition dopaminerger D₂ Neurone** innerhalb des VTA und der SN (die das Striatum über die nigrostriatale Bahn innerviert) **durch die Aktivierung von 5-HT Rezeptoren** (im VTA vermutlich über den 5-HT₂-Rezeptor) erhöht werden kann und dass dieser Mechanismus durch den Einsatz von atypischen Neuroleptika (mittels Blockade der 5HT₂-Rezeptoren) entsprechend moduliert werden könnte (zusammenfassend vgl. (Olijslagers et al., 2006)). Ein ähnlicher Mechanismus ist auch im **medialen Teil des präfrontalen Kortex** identifiziert worden, dabei wurde gezeigt, dass die Blockade des 5-HT_{2A} Rezeptors bei gleichzeitiger Blockade des dopaminergeren D₂-Rezeptors zu erhöhter Dopaminfreisetzung führt, ein Mechanismus, der offensichtlich über die Aktivierung des 5-HT_{1A} Rezeptors gesteuert wird (Ichikawa et al., 2001). Die Schizophrenieforschung schreibt den atypischen Neuroleptika, gerade aufgrund der Wirkungen auf die serotonergen Rezeptoren, ein geringeres extrapyramidales Nebenwirkungsspektrum als den typischen Neuroleptika zu (Bardin et al., 2007; Burnet et al., 1996; Olijslagers et al., 2006). In einer Studie von Bartool und Kollegen wurde zudem gezeigt, dass Haloperidol-induzierte extrapyramidale Nebenwirkungen durch den serotonergen 5HT_{1A} Agonisten 8-Hydroxy-2-(di-n-Propylamino) Tetralin (8-OH-DPAT) reduziert werden können (Bartool und Haleem, 2008). Dass Haloperidol als typisches Neuroleptikum jedoch ebenfalls, wenn auch in einem geringeren Ausmaß (Burnet et al., 1996), mit dem serotonergen System in Wechselwirkung treten kann, wurde bereits gezeigt (Barkai et al., 1984; Burnet et al., 1996). Wie könnte ein mutmaßlicher Kompensationsmechanismus einer serotonergen Läsion durch Haloperidol aussehen? Neben generellen Wechselwirkungen dopaminerger

und serotonerger Rezeptoren wird bezüglich des **umgekehrten Falles**, nämlich dass statt im serotonergen im **dopaminergen System Läsionen** durchgeführt wurden, bereits ein **Kompensationsmechanismus** vermutet, der **über das serotonerge System** verläuft. Dieser Mechanismus wird auch unter dem Begriff der „falschen Transmitter Hypothese“ beschrieben und geht von einer Freisetzung von Dopamin aus serotonergen Neuronen-Termini aus. Involviert sind dabei vermutlich die G_i-Protein gekoppelten 5-HT_{1A} und 5-HT_{1B} Rezeptoren, zudem scheint er bei L-DOPA induzierten Dyskinesien eine tragende Rolle einzunehmen (Carta et al., 2007). Da im vorliegenden Projekt jedoch **keine spezifische Hemmung bestimmter serotonerger Rezeptoren vorliegt**, sondern die 5,7-DHT Läsion lediglich die serotonergen Neurone innerhalb des PrL Anteils des mPFC lädieren sollte, ist zunächst nicht nachvollziehbar, **welcher Mechanismus** zwischen der **serotonergen Läsion** und der **Haloperidolwirkung** zu einer unvollständigen Läsion des serotonergen Systems innerhalb der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe geführt haben könnte. In der Literatur findet hinsichtlich einer serotonergen Läsion und konsekutiver 5-HT Erhöhung über das dopaminerge System keine Beschreibung eines Kompensationsmechanismus. Dennoch ist durch die beschriebene generelle Verbindung serotonerger und D₂-dopaminerger Aktivität nicht auszuschließen, dass es zu einem Haloperidol-induzierten Kompensierungsprozess bezüglich der 5-HT Menge gekommen sein könnte. Betrachtet man diesbezüglich die anatomischen Verknüpfungen, käme auch eine kompensatorische Wirkung über die **glutamaterge Projektion** des medialen präfrontalen Kortex zu den dorsalen Raphé Kernen infrage (Etiévant et al., 2011), welche ihrerseits möglicherweise unter dem **Einfluss von Haloperidol** zu einer höheren serotonergen Rückprojektion in den PFC geführt haben könnten. Dass die Innervierung des PFC Einfluss auf die Neurotransmission der dorsalen Raphé Kerne hat, wurde auch von Jankowski und Seesack untersucht (Jankowski und Sesack, 2004). Die Ergebnisse dieser Studie lassen vermuten, dass die Projektion des **PFC zu den dorsalen Raphé Kernen** entweder **indirekt** (über GABAerge Neurone) oder über **direkte** Synapsenbildung mit serotonergen Neuronen innerhalb der dorsalen Raphé Kerne die serotonerge Aktivität letzterer zu beeinflussen vermag (Jankowski und Sesack, 2004). Welche Rolle eine systemische Haloperidolapplikation dabei einnehmen könnte, bleibt spekulativ. Angemerkt sei diesbezüglich, dass innerhalb des **Projektes I** der vorliegenden Arbeit bereits gezeigt worden ist, dass es Hinweise darauf gibt, dass Glutamat zumindest über die NMDA und AMPA/Kainat Rezeptorwirkung an der Entwicklung der **Haloperidol-induzierten Katalepsie-Sensitivierung** beteiligt sein könnte. Dies wurde durch eine verlangsamte Sensitivierung bei systemischer post-Test

Gabe des NMDA Rezeptor Antagonisten MK801, bzw. dem AMPA/Kainat Rezeptor Antagonisten GYKI52466 gezeigt. Um die Hypothese zu untermauern, dass eine glutamaterge Rückprojektion vom PFC zu den dorsalen Raphé Kernen (entweder direkt auf serotonerge Neurone oder indirekt über GABAerge Neurone) Einfluss auf die Entwicklung der Katalepsie-Sensitivierung hat, müsste jedoch eine lokale Transmitter-spezifische Läsion oder Applikation der entsprechenden Antagonisten im mPFC, bzw. dessen Projektion zu den dorsalen Raphé Kernen, durchgeführt werden. Dass Haloperidol **unabhängig von der serotonergen Läsion** innerhalb des PFC nicht zu einer signifikanten Veränderung der Dopamin-Menge, jedoch zur **Veränderung der HVA-Menge**, geführt hat, ist ebenfalls der Tabelle 11 zu entnehmen. Diese Erhöhung der HVA-Menge ist vereinbar mit den Untersuchungen von Chang und Kollegen (Chang et al., 1989). Hier wurde bereits früher gezeigt, dass es aufgrund einer chronischen Haloperidolgabe (von 0,01-1 mg/kg Körpergewicht, in dem vorliegenden Projekt waren es 0,25 mg/kg Körpergewicht) zu einer Erhöhung der HVA-Menge innerhalb des PFC kommt. Erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang auch, dass es durch die Kombination aus Haloperidol und der Läsion innerhalb der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe zwar auch zu einer leichten Erhöhung der HVA-Menge gegenüber der Vehikel/Saline-Gruppe kam, diese Erhöhung jedoch nicht signifikant war. Dieses Ergebnis lässt darauf schließen, dass die 5,7-DHT Läsion einen Einfluss auf die vermutete Haloperidol-induzierte HVA-Menge erzielt haben könnte. Insgesamt scheint die 5,7-DHT Läsion allein jedoch keinen Einfluss auf das dopaminerge System innerhalb des PFC gehabt zu haben. Bezüglich der dopaminergen Turnoverrate fanden sich ebenfalls keine signifikanten Gruppenunterschiede. Durch Verwendung des Dopamin-Wiederaufnahmehemmers Nomifensin konnte eine gleichzeitige Läsion der dopaminergen Neurone somit offenbar verhindert werden. Auch wenn bei dieser Aussage zu beachten ist, dass es mittlerweile Zweifel gibt, ob 5,7-DHT tatsächlich über den Wiederaufnahmemechanismus in die serotonergen Neurone transportiert wird (Choi et al., 2004). Es stellt sich die Frage, ob (bezüglich der Nomifensin-Behandlung) dopaminerge Neurone überhaupt über den Weg des Wiederaufnahmemechanismus durch 5,7-DHT geschädigt werden könnten. Während eine Läsion der serotonergen Ursprungsregion (Raphé Kerne) (Critchley et al., 1992; Hall et al., 1999; Yalcin et al., 2008) sowie eine Ventrikelläsion mit 5,7-DHT (Kostowski et al., 2004) vor allem auf eine experimentell induzierte Beeinträchtigung des gesamten serotonergen System abzielen (Ludwig und Schwarting, 2007), liegt mit der hier durchgeführten 5,7-DHT Applikation im PrL-PFC eine 5,7-DHT Läsion innerhalb einer **serotonergen Zielstruktur** der Raphé

Kerne vor. Eine Applikation von 5,7-DHT in serotonerge Zielstrukturen wurde neben der bereits oben beschriebenen Arbeit von Bechara (Bechara, 2007) auch von anderen Autoren im Striatum (Ludwig und Schwarting, 2007), oder dem Nucleus accumbens (Nelson et al., 2012) sowie den zuführenden serotonergen Projektionen zum Hippocampus (Lehmann et al., 2002) durchgeführt. Um im vorliegenden Projekt den Einfluss der Applikation von 5,7-DHT in den PrL Anteil des mPFC auf das Caudatoputamen, den Nucleus Accumbens und den Hippocampus zu untersuchen, wurden auch in diesen Arealen im Rahmen der HPLC-Analyse Untersuchungen zum Gehalt von Serotonin (und dessen Metaboliten 5-HIAA) sowie von Dopamin (und den Metaboliten DOPAC, 3-MT und HVA) durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Analyse werden nachfolgend diskutiert. Für die HPLC-Auswertung im PFC lässt sich zusammenfassend festhalten, dass der Einfluss von Haloperidol vermutlich eine stärkere serotonerge Läsion innerhalb der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe verhindert hat. Die signifikante Reduzierung des Metaboliten 5HIAA innerhalb der 5,7-DHT-behandelten Gruppen spricht, neben der signifikanten 5-HT Reduktion innerhalb der 5,7-DHT/Vehikel-Gruppe, jedoch für die Wirksamkeit des serotonergen Neurotoxins innerhalb des PFC. Des Weiteren scheint die Neuroprotektion dopaminergischer Neurone durch Nomifensin erfolgt zu sein.

aCPU/pCPU

Die wichtigsten Ergebnisse der HPLC-Auswertung innerhalb des anterioren (aCPU) sind in der **Tabelle 13** und **Tabelle 14**, die des posterioren Caudatoputamens (pCPU) in der **Tabelle 15** und **Tabelle 16** zusammengefasst. Innerhalb **beider Strukturen** haben sich **keine signifikanten Veränderungen** in den unterschiedlichen Tiergruppen zwischen der Menge des Neurotransmitters **Dopamin** und dessen Metaboliten ergeben. Es konnte lediglich eine Läsions-unabhängige, nicht-signifikante Zunahme der Dopamin und HVA-Menge innerhalb der Vehikel/Haloperidol-Gruppe verglichen mit der Vehikel/Saline-Gruppe festgestellt werden. Im Vergleich der Ergebnisse zwischen der Vehikel/Haloperidol-Gruppe und der Vehikel/Saline-Gruppe bezüglich der HVA-Menge im CPU mit den Ergebnissen der Arbeit von Chang und Kollegen (Chang et al., 1989), ergeben sich auch hier, wie bereits bei den Ergebnissen der HVA-Menge innerhalb des PFC erwähnt, Parallelen: so zeigten die Autoren, dass eine chronische Behandlung von Haloperidol in einer niedrigen Dosierung von 0,01-1 mg/kg Körpergewicht zwar ebenfalls zu einem Anstieg der HVA Menge im Striatum führte, dieser Anstieg jedoch abgeschwächt wurde, wenn die Tiere mit einer Dosierungsreihe von 0,05-1 mg/kg

Haloperidol behandelt wurden. Die hier verwendete Haloperidoldosierung von 0,25 mg/kg liegt bereits zu Beginn über der von (Chang et al., 1989) verwendeten Anfangsdosierung ihrer zweiten Dosierungsreihe.

betreffende Substanz (Neurotransmitter/Metabolit)	Gruppe	prozentuale Abweichung der Substanz-Menge bezogen auf die Vehikel/ Saline-Gruppe \pm S.E.M.
5-HT	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	+12,49 \pm 5,10
5-HT	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	+29,94 \pm 13,67
5-HT	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	-8,96 \pm 6,84
5-HIAA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-1,83 \pm 3,02
5-HIAA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	+7,81 \pm 9,55
5-HIAA	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	+ 0,48 \pm 4,86
DA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	+ 5,20 \pm 7,20
DA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	+ 13,20 \pm 14,19
DA	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	+ 18,35 \pm 3,72
HVA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-13,89 \pm 8,51
HVA	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	+11,08 \pm 8,58

Tabelle 13 Darstellung einiger prozentualer Veränderungen der Transmitter und Metabolitenmenge im aCPU bezogen auf die Vehikel/ Saline-Gruppe

Angegeben ist (in der dritten Spalte) der prozentuale Anteil einer Substanzmenge (\pm S.E.M.), bezogen auf die Vehikel/ Saline-Gruppe im aCPU. Dabei sind die entsprechenden Substanzen in der ersten Spalte und die Gruppe von welcher der prozentuale Anteil dieser Substanz ermittelt wurde in der zweiten Spalte angegeben. Abkürzungen: DA, Dopamin; HVA, Homovanillinsäure; 5-HT, Serotonin; 5HIAA, 5-Hydroxyindolessigsäure.

betreffende Substanz (Neurotransmitter/Metabolit)	Gruppe	prozentuale Abweichung der Substanz-Menge bezogen auf die Vehikel/ Haloperidol-Gruppe \pm S.E.M.
5-HT	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	+23,57 \pm 8,59
5-HT	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	+41,64 ^{ns} \pm 15,02
5-HIAA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-2,11 \pm 3,01
5-HIAA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	+7,30 \pm 9,50
DA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-9,58 \pm 8,19
DA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-2,71 \pm 12,19

Tabelle 14 Darstellung einiger prozentualer Veränderungen der Transmitter und Metabolitenmenge im aCPU bezogen auf die Vehikel/ Haloperidol-Gruppe

Angabe des prozentualen Anteils (\pm S.E.M.) einer Substanzmenge (Spalte links), einer bestimmten Gruppe (mittlere Spalte) an der Gesamtmenge selbiger Substanz innerhalb der Vehikel/Haloperidol-Gruppe im aCPU. Abkürzungen: DA, Dopamin; 5-HT, Serotonin; 5HIAA, 5-Hydroxyindolessigsäure.

Dies könnte bedeuten, dass hier ein ähnlicher Mechanismus greift und eine möglicherweise zu Beginn noch erhöhte HVA Menge innerhalb der Vehikel/Haloperidol-Gruppe gegenüber der Vehikel/Saline-Gruppe sich nach der chronischen Gabe von 0,25 mg/kg am Ende des Versuches nicht mehr signifikant auswirkte.

betreffende Substanz (Neurotransmitter/Metabolit)	Gruppe	prozentuale Abweichung der Substanz-Menge bezogen auf die Vehikel/ Saline-Gruppe \pm S.E.M.
5-HT	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-13,60 \pm 7,07
5-HT	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	- 31,08 ** \pm 5,93
5-HT	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	-23,70* \pm 7,01
5-HIAA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-17,09* \pm 5,24
5-HIAA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-22,95** \pm 4,48
5-HIAA	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	-16,20 \pm 5,5
DA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	+41,15 \pm 23,46
DA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	+ 31,22 \pm 20,94
DA	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	+ 61,16 \pm 22,87
HVA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-27,62 \pm 11,83
HVA	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	+17,63 \pm 23,66

Tabelle 15 Darstellung prozentualer Veränderung der Transmitter und Metabolitenmenge im pCPU bezogen auf die Vehikel/ Saline-Gruppe

Angabe des prozentualen Anteils einer Substanzmenge (\pm S.E.M.), (der jeweils in der linken Spalte angegebenen Substanz) einer bestimmten Gruppe (mittlere Spalte) im Vergleich zur entsprechenden Substanzmenge innerhalb der Vehikel/Saline-Gruppe im pCPU.

Ob die HVA-Menge zu Beginn der chronischen Haloperidolgabe von 0,25 mg/kg auch im vorliegenden Projekt innerhalb der Vehikel/Haloperidol-Gruppe, gegenüber der Vehikel/Saline-Gruppe signifikant erhöht war, könnte überprüft werden, indem man die Dopaminmenge (und die zugehörigen Metaboliten) in einem weiteren Versuch durch eine *in vivo* Studie *via* Mikrodialyse zu unterschiedlichen Versuchszeitpunkten analysiert. Bei der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe kam es im aCPU auch zu einer leichten, nicht signifikanten Zunahme der Dopaminmenge gegenüber der 5,7-DHT/Saline-Gruppe gekommen ist (Abbildung 44). Vermutlich ist auch diese nicht signifikante Zunahme auf eine Haloperidolwirkung zurück zu führen. Diese leichte nicht signifikante Erhöhung der Dopamin Menge hat in Bezug zu einer leichten aber nicht signifikanten Erniedrigung der Metabolitenmenge innerhalb des aCPU zur signifikanten Verringerung des Turnovers (Tabelle 7) der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe gegenüber der Vehikel/Saline-Gruppe ($p < 0,01$) beziehungsweise gegenüber der Vehikel/Haloperidol-Gruppe ($p < 0,05$) geführt.

betreffende Substanz (Neurotransmitter/Metabolit)	Gruppe	prozentuale Abweichung der Substanz-Menge bezogen auf die Vehikel/ Haloperidol-Gruppe \pm S.E.M.
5-HT	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	+13,24 \pm 9,26
5-HT	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-9,68 \pm 7,77
5-HIAA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-1,07 \pm 6,26
5-HIAA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-8,08 \pm 5,32
DA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-12,42 \pm 13,15
DA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-18,58 \pm 12,99

Tabelle 16 Darstellung prozentualer Veränderung der Transmitter und Metabolitenmenge im pCPU bezogen auf die Vehikel/ Haloperidol-Gruppe

Darstellung des prozentualen Anteils der Substanzmenge (\pm S.E.M.), der jeweils in der linken Spalte angegebenen Substanz einer bestimmten Gruppe (mittlere Spalte) im Vergleich zur entsprechenden Substanzmenge innerhalb der Vehikel/ Haloperidol-Gruppe im pCPU.

Bei einem differenzierten Blick auf den anterioren und posterioren Anteil des Caudatoputamens fällt auf, dass es sich zwischen der 5,7-DHT/Haloperidol- und der 5,7-DHT/Saline-Gruppe innerhalb des pCPU (auch nicht signifikant) bezüglich der Dopaminmenge genau konträr verhält (Abbildung 46). Dieser leichte (nicht signifikanter) Anstieg der Dopaminmenge in der 5,7-DHT/Saline-Gruppe ergibt mit einem ebenfalls leichten (nicht signifikanten) Anstieg dopaminerger Metaboliten jedoch keine Veränderung innerhalb der zugehörigen dopaminergen Turnoverrate im pCPU. Innerhalb des pCPU wurde zudem keine signifikante Erniedrigung des dopaminergen Turnovers innerhalb der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe gefunden (Tabelle 8). Dieses Ergebnis stellt einen der **Unterschiede** zwischen dem aCPU und pCPU dar. Auch hinsichtlich der Turnover Rate des Neurotransmitters Serotonin fällt auf, dass die beiden **mit 5,7-DHT-behandelten** Gruppen innerhalb des aCPU eine Erniedrigung bezogen auf die Vehikel-behandelten Gruppen zeigten (Tabelle 7), wobei diese Verminderung hier jeweils zwischen beiden 5,7-DHT-behandelten Gruppen und der Vehikel/Haloperidol-Gruppe eine Signifikanz ($p < 0,01$) zeigten. Bezüglich der serotonergen Turnoverrate ergaben sich für das pCPU keine signifikanten Gruppenunterschiede (Tabelle 8). Bei der Betrachtung der Serotonin-Menge gab es innerhalb der beiden Strukturen des Caudatoputamens ebenfalls Differenzen: Während im **aCPU** innerhalb der **Vehikel/Haloperidol-Gruppe eine leichte, nicht signifikante Abnahme** gegenüber der Vehikel/Saline-Gruppe gefunden wurde, kam es in der **5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe** innerhalb dieser Region

zu einer ebenfalls **nicht signifikanten** Zunahme der 5-HT-Menge gegenüber der Vehikel/Saline-Gruppe (Tabelle 13). Hingegen gab es innerhalb des **pCPu** im Vergleich zur Vehikel/Saline-Gruppe sowohl innerhalb der **Vehikel/Haloperidol-Gruppe** (zu einem **23,7 % igem**) als auch in der **5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe** zu einem (**31 % igem**) signifikantem **Verlust** (Tabelle 15) der 5-HT-Menge. Diese Differenz zwischen anterioren und posterioren CPu bezüglich der **5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe** scheint auch im Vergleich zur **Vehikel/Haloperidol-Gruppe** Bestand zu haben. So zeigte sich eine **signifikante Zunahme der 5HT-Menge** von **41,6%** innerhalb der aCPU Gruppe (Tabelle 14) jedoch eine nicht signifikante Abnahme der 5-HT-Menge in der **5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe** im pCPu (Tabelle 16). Ähnliche Unterschiede deuteten sich auch bei der Analyse der **5-HIAA-Menge** in beiden Regionen des CPu an; so zeigte sich im aCPu eine nicht signifikante Erhöhung der 5-HIAA Menge in der **5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe** gegenüber der **Vehikel/Haloperidol-Gruppe** (Tabelle 14). während derselbe Vergleich im pCPu eine nicht signifikante Verminderung der 5-HIAA Menge im Vergleich zwischen der **5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe** zur **Vehikel/Haloperidol-Gruppe** hervorbrachte (Tabelle 16). In die gleiche Richtung deuten die Resultate hinsichtlich der 5-HIAA Menge im Vergleich zwischen der **5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe** und der Vehikel/Saline-Gruppe. Innerhalb dieses Vergleichs zeigte sich eine, nicht signifikante Zunahme der 5HIAA Menge in der **5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe** im aCPU (Tabelle 13), während die **22,95% ige** Abnahme der 5-HIAA Menge im pCPu bei der **5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe**, im Vergleich zur Vehikel/Saline-Gruppe deutlich signifikant war (Tabelle 15). Allgemein lässt sich also festhalten, dass es bezogen auf die Serotonin-Menge und dessen Metaboliten innerhalb der **5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe** im aCPu eher eine Zunahme im Vergleich zu den Vehikel-behandelten Gruppen gab, während innerhalb der gleichen Gruppe im pCPU diesbezüglich eher eine Reduktion zu verzeichnen war. Diese, aufgrund der fehlenden Signifikanzen einiger Gruppenvergleiche, mit Vorsicht zu betrachtenden Unterschiede zwischen dem aCPu und dem pCPu werfen dennoch folgende Frage auf: Wenn der Vergleich zwischen **Vehikel/Haloperidol-Gruppe** und Vehikel/Saline-Gruppe, also die Verwendung von Haloperidol **unabhängig von der 5,7-DHT Behandlung im PrL-PFC**, doch sowohl innerhalb des aCPu (nicht signifikant) als auch innerhalb des pCPu (signifikant) zu einem Verlust von 5-HT führt - wie kommt es durch die 5,7-DHT-Behandlung innerhalb des PrL Anteils des PFC bei der **5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe** dann dazu, dass sich im aCPu eine Zunahme von 5-HT (die jedoch auch nur gegenüber der **Vehikel/Haloperidol-Gruppe** signifikant ist) abzeichnet? Ein Erklärungsansatz des sich andeutenden Unterschiedes zwischen dem anterioren und posterioren

Caudatoputamen könnte zum einen in der **unterschiedlichen neuronalen** Vernetzung beider Regionen (Alexander et al., 1986; Carter, 1982; Miyachi et al., 1997) liegen, beziehungsweise durch die in der Literatur beschriebenen **unterschiedlichen Gradienten des dopaminergen und serotonergen Transmittergehaltes** innerhalb des Caudatoputamens (Beal und Martin, 1985). Bezogen auf die **Innervierung des CPu aus kortikalen Regionen** ist durch Untersuchungen an Primaten bekannt, dass unterschiedliche Regionen des Striatums **aus unterschiedlichen Regionen des PFC** innerviert werden. So fassten Leh und Kollegen zusammen, dass aus dem **medialen und dorsalen PFC** vor allem Projektionen zur **dorsalen und zentralen Kopfregion des Nucleus Caudate** verlaufen, die **orbitale und inferiore** Region des PFC hingegen vor allem in den **ventromedialen** Anteil des zentralen **Caudate Kernes** projizieren, während es **weniger starke präfrontale** Projektionen zur **Schwanzregion des Caudate und zum Putamen** gibt (Leh et al., 2010). Auch andere Arbeiten wiesen bereits früher darauf hin, dass der **anteriore** Teil des Striatums bei Primaten stark durch den **dorsolateralen PFC** innerviert wird, während der **posteriore** Anteil des Striatums vor allem durch den **sensomotorischen, prämotorischen, supplementär- und primär-motorischen Regionen** erhält⁸² (Alexander et al., 1986; Miyachi et al., 1997). Auch wenn sich die genannten Arbeiten auf Gehirne von Primaten beziehen und man aufgrund des anatomischen Unterschiedes zum Striatum der Ratte keinen direkten Vergleich ziehen kann (Pan et al., 2010), wurde im Striatum der Ratte bereits in den sechziger Jahren eine topografische Organisation in Bezug auf den Kortex durch Webster beschrieben (Webster, 1961). Diese Organisation wurde 21 Jahre später in der Arbeit von Carter aufgegriffen (Carter, 1982), der beschrieb, dass eine Läsion der rostral-medialen Region des PFC bei Ratten zu einer Störung der glutamatergen Innervierung des anterioren Striatums führt, während die Läsion des caudal gelegenen Teils des frontalen Kortex eher die Innervierung des posterioren Striatums beeinträchtigt (Carter, 1982). Somit ist es denkbar, dass auch bei der Ratte eine unterschiedliche Projektion aus dem PFC zum anterioren, respektive posterioren, Caudatoputamen zu einer entsprechend unterschiedlichen Modulation des in der jeweiligen Zielregion vorhandenen Neurotransmittergehaltes führen kann. Zu beachten ist dabei vor allem, dass bei Ratten, wie erwähnt, bereits im nicht-invasiven Zustand ein unterschiedlicher Dopamin und Serotoningradient im pCPu und aCPu demonstriert wurde: in der Veröffentlichung von

⁸² Funktionell scheinen die unterschiedlichen Projektionen zwischen PFC und Striatum innerhalb verschiedener neuronaler Kreisläufe auch unterschiedliche Verhaltensmuster zu bedienen (Leh et al., 2010; Mestres-Misse et al., 2012). In der Arbeit von Leh und Kollegen wurde zusammenfassend zwischen der limbischen Projektion (die unter anderem vom orbitalen und medialen PFC zum rostroventral gelegenen Caudate-Putamen und dem NAcc verläuft), der assoziativen (Projektion vom lateralen PFC zum Kopf des Caudate und dem rostralen Putamen), so wie der sensomotorischen Projektion (Projektion von den somatosensorische, primärmotorische Areale und dem SMA zum caudale lateral gelegenen Putamen (Leh et al., 2010) differenziert.

Beal und Martin (Beal und Martin, 1985) wurde gezeigt, dass die topografische Konzentrationsverteilung der genannten Transmitter innerhalb des Caudatoputamens diametral entgegengesetzt verläuft. Übereinstimmend mit den in dieser Veröffentlichung genannten Gradienten wurde auch in dem vorliegenden Projekt innerhalb des aCPu der Vehikel/Saline-Gruppe ein höherer DA Anteil festgestellt als innerhalb des pCPu ($68\% \pm 6,78$ weniger DA im pCPu als im aCPu *, $p < 0,005$, t-Test), während der serotonerge Anteil im pCPu um über $61\% \pm 3,22$ höher lag als im aCPu. (*, $p < 0,005$, t-Test). Diese Berechnung zeigt jedoch auch, dass der prozentuale Verlust von Serotonin sich innerhalb der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe im pCPU deshalb im Verhältnis zur Vehikel/Saline-Gruppe (-31,09%) signifikant darstellt, da es sich absolut gesehen (bezogen auf den Mittelwert) um einen stärkeren Wert (von 292,75 pg/mg Frischgewicht) handelt, als der absolute Wert (von 107 pg/mg Frischgewicht) der die nicht signifikante prozentuale Erhöhung (von 28,94%) der Serotoninmenge im aCPU desselben Gruppenvergleichs angibt. Unter Einbeziehung der präfrontalen Projektion zum posterioren CPU könnte es in der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe zu einer direkten oder indirekten Verminderung der 5-HT-Menge gekommen sein, so könnte das präinvasive Mengen-Verhältnis von 5-HT zum aCPU bei dieser Überlegung berücksichtigt werden. Allerdings wäre wegen der bereits diskutierten überwiegenden Projektion des PFC zum anterioren Bereich des CPU eine Modulation des pCPU eher über indirekte Projektion denkbar. Eine spekulative Überlegung wäre die Umkehr der bereits im vorhergehenden Kapitel angesprochenen „falschen Transmitter Hypothese“. Dabei könnte unter Haloperidoleinfluss über dopaminerge Neurone innerhalb des anterioren Caudatoputamens ein (durch die 5,7-DHT-Behandlung im PrL-PFC bewirkter) Kompensationsmechanismus ausgelöst worden sein, welcher innerhalb der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe dazu geführt haben könnte, dass die Läsion im PrL-PFC in dieser Gruppe weniger stabil war, als in der 5,7-DHT/Saline-Gruppe. Zu dieser Spekulation passt, dass die 5,7-DHT/Haloperidol Gruppe innerhalb des aCPU im Vergleich zu den anderen Gruppen dieser Region, die höchste 5-HT-Menge zeigte. Bezogen auf die 5HT-Menge im aCPU ist weiterhin augenfällig, dass es nur zwischen den beiden **mit Haloperidol behandelten** Gruppen (5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe und Vehikel/Haloperidol-Gruppe) zu einem signifikanten Unterschied kam, was eher auf einen durch die im PrL-PFC durchgeführte Läsion verursachten Effekt hinweist, als auf einen Haloperidol-induzierten Effekt. Auch hier könnte eine **indirekte Innervierung** vom PFC über subcorticale Kerne zum aCPU eine Rolle spielen. Es ist bekannt, dass Projektionen des **PFC** in der Lage sind, dopaminerge Transmissionen im NAcc und SN

zu modulieren (Sesack und Pickel, 1992). Somit könnte vermutet werden, dass sich diese **Modulation** der **dopaminergen Transmission** des **SN** (die vornehmlich ins CPU projiziert) **durch die 5,7-DHT-Behandlung im PrL Anteil des PFC** verändert, was sich rückwirkend auf die A9 Projektion (zwischen SN und Striatum) auswirkt. Eine solche indirekte Modulation erklärt jedoch nicht, weshalb es nicht insgesamt zu einer signifikanten Beeinträchtigung der Dopaminmenge innerhalb des CPU gekommen ist und warum eine mögliche indirekte Modulierung wohl eher nicht über die erwähnten dopaminergen Bahnen verläuft. Die beschriebene neuronale Verknüpfung zwischen dem PFC und dem NAcc könnte jedoch in der nachfolgenden Diskussion zur HPLC-Auswertung innerhalb des NAcc relevant sein.

NAcc

Eine Zusammenfassung der wichtigsten prozentualen Abweichungen der Transmitter- und Metaboliten-Mengen der HPLC-Auswertung, innerhalb des NAcc in Bezug zur Vehikel/Saline-Gruppe, sind der **Tabelle 17** und im Vergleich zur Vehikel/Haloperidol-Gruppe der **Tabelle 18** zu entnehmen. Dabei sind die **signifikante Erhöhung** der **5-HT Menge** innerhalb der **beiden 5,7-DHT behandelten** Gruppen sowie die **signifikante Erniedrigung der DA-Menge** (und der gemessenen Metaboliten dieses Neurotransmitters) **der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe** gegenüber der Vehikel/Saline-Gruppe wohl die herausstechendsten Ergebnisse. Bezüglich der **5-HT-Menge** kam es innerhalb der **5,7-DHT/Saline-Gruppe** zu einer 37,6% igen Erhöhung in Vergleich zur Vehikel/Saline-Gruppe, während sie im Vergleich zur Vehikel/Haloperidol-Gruppe um 28,7% erhöht war. Die prozentuale Erhöhung der **5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe** gegenüber der Vehikel/Saline-Gruppe bzw. der Vehikel/Haloperidol-Gruppe ähnelt mit 34,4 % beziehungsweise 25,7% stark der zuvor erwähnten prozentualen Erhöhung der 5,7-DHT/Saline-Gruppe, bleibt jedoch in beiden Vergleichen leicht unter dem prozentualen Anteil der anderen Gruppen. Mit der signifikanten Erhöhung der 5-HT-Menge innerhalb der beiden 5,7-DHT behandelten Gruppen, bei gleichzeitig nicht signifikanter Veränderung der 5-HIAA Menge, lässt sich auch deren Verringerung des Turnovers gegenüber den beiden Vehikel-behandelten Gruppen erklären. Hinsichtlich des Verlustes der **DA Menge** zeigte sich in der **5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe** eine prozentuale Erniedrigung von 51% gegenüber der Vehikel/Saline-Gruppe. Bezüglich der dopaminergen Metaboliten war die DOPAC-Menge im gleichen Gruppenvergleich um 50%, die **3-MT-Menge** um 61% und die HVA-Menge um 51% erniedrigt. Eine signifikante 47% ige Erniedrigung der 3-MT-Menge zeigte sich auch innerhalb der **5,7-DHT/Saline-**

Gruppe verglichen mit der Vehikel/Saline-Gruppe. Bei gleichzeitiger Verminderung der DA-Menge und den zugehörigen Metaboliten, lässt sich bei der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe auch erklären, weshalb der Quotient aus beiden in der Turnover-Berechnung keinen signifikanten Unterschied zu den Kontrollgruppen ergeben hat. Um der Interpretation dieser Ergebnisse eine Basis zu geben, sollen nachfolgend die in der Literatur beschriebenen neuronalen direkten und indirekten Verknüpfungen zwischen dem PFC und dem NAcc rekapituliert werden.

betreffende Substanz (Neurotransmitter/Metabolit)	Gruppe	prozentuale Abweichung der Substanz-Menge bezogen auf die Vehikel/ Saline-Gruppe ± S.E.M.
5-HT	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	+37,80** ± 10,22
5-HT	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	+34,40** ± 6,02
5-HT	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	+6,92 ± 3,70
5-HIAA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	+4,97 ± 7,20
5-HIAA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-1,40 ± 7,91
5-HIAA	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	+ 18,54 ± 7,68
DA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-41,88 ± 12,30
DA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-51,27* ± 11,93
DA	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	-32,00 ± 20,05
HVA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-39,80 ± 8,20
HVA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-50,88* ± 8,68
DOPAC	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-35,85 ± 11,23
DOPAC	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-50,02* ± 10,44
3MT	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-46,68* ± 10,80
3MT	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-60,86** ± 8,40

Tabelle 17 prozentuale Abweichung der Transmitter und Metaboliten - Menge im NAcc verglichen mit der Vehikel/ Saline-Gruppe

Bezogen auf die Transmitter (DA, 5-HT) bzw. Metaboliten (HVA, DOPAC, 3MT, 5-HIAA) -menge sind die prozentualen Abweichungen (± S.E.M.) der (in der mittleren Spalte aufgelisteten) Gruppen von der entsprechenden Menge der jeweiligen Substanz in der Vehikel/ Saline- Gruppe in der rechten Spalte angegeben.

So ist bekannt, dass der **PrL-PFC** vor allem in die **core Region** des NAcc **glutamaterge Projektionen** entsendet (Vanderschuren und Kalivas, 2000) zudem wird der NAcc durch das **VTA dopaminerg** innerviert, welches seinerseits ebenfalls glutamaterge Projektionen aus dem PFC erhält und zu diesem dopaminerge Rückprojektionen entsendet (Tzschentke und Schmidt, 2003; Vanderschuren und Kalivas, 2000). Bezüglich dieses Projektions-Kreislaufs ist bekannt, dass eine **serotonerge Innervierung des**

mPFC den **DAergen Input in den mPFC** verändern kann; ob es dabei zu einer Erhöhung der DA Freisetzung, oder einer Erniedrigung kommt, hängt davon ab, ob der 5-HT_{2A} (Erhöhung), oder der 5-HT_{2C} (Erniedrigung) Rezeptor aktiviert wird (Olijslagers et al., 2006).

betreffende Substanz (Neurotransmitter/Metabolit)	Gruppe	prozentuale Abweichung der Substanz-Menge bezogen auf die Vehikel/ Haloperidol-Gruppe \pm S.E.M.
5-HT	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	+28,69* \pm 9,56
5-HT	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	+ 25,70* \pm 5,63
5-HIAA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-11,45 \pm 6,07
5-HIAA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-16,82 \pm 6,67
DA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-14,53 \pm 18,09
DA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-28,34 \pm 17,55

Tabelle 18 prozentuale Abweichungen der Transmitter und Metaboliten-Menge im NAcc verglichen mit der Vehikel/ Haloperidol-Gruppe

Die in der rechten Spalte angegebenen prozentualen Abweichungen von der Transmitter-/Metabolitenmenge (\pm S.E.M.) beziehen sich innerhalb dieser Tabelle auf die entsprechende Menge in der Vehikel/ Haloperidol-Gruppe.

Serotonerg werden der mediale PFC und der NAcc vor allem aus der dorsalen Region der Raphé Kerne innerviert (Brown und Molliver, 2000; Kriegebaum et al., 2010; Mantz et al., 1990; Van Bockstaele et al., 1993; Vertes, 1991), die Untersuchungen mittels retrograder Immunfluoreszenz Markierungen, von Van Bockstaele und Kollegen haben gezeigt, dass Neurone die den NAcc innervieren vor allem aus dem **seitlichen Flügel der dorsalen Raphé Kerne** entspringen und solche, die den medialen PFC innervieren, vorwiegend aus der **Mittellinie der dorsalen Raphé Kerne**. Zudem zeigten ihre Ergebnisse eine deutlich **stärkere Innervierung** des **NAcc**. In der Veröffentlichung sind außerdem sowohl getrennt verlaufende Projektionen (serotonerger und nicht-serotonerger Art), als auch solche, die sowohl zum mPFC als auch zum NAcc verlaufen (Van Bockstaele et al., 1993) beschrieben. Die serotonergen Projektionen zum NAcc bestehen entweder aus schmalen serotonergen Fasern oder sind durch ausgeprägte Varikositäten gekennzeichnet; zudem unterscheiden sie sich in der Expression der Serotonintransporter (Brown und Molliver, 2000). Außerdem ist bekannt, dass der PFC exzitatorische Projektionen in die dorsalen und medianen (Jankowski und Sesack, 2004; Uylings et al., 2003) Raphé Kerne entsendet. Die Projektion zwischen dem medialen PFC und den dorsalen Raphé Kernen scheint dabei eine wichtige Rolle bei dem

Verhalten auf kontrollierbaren und nicht-kontrollierbaren Stress einzunehmen (Amat et al., 2005). Laut Interpretation der Studie von Jankowski und Seesack sind Projektionen in die dorsalen Raphé Kerne auf GABAerge Neuronen präsennter, als solche die direkt auf serotonerge Neurone der dorsalen Raphé Kerne projizieren (Jankowski und Sesack, 2004). Diese in der Literatur beschriebenen neuronalen Verknüpfungen lassen die **Annahme** zu, dass die **präfrontale Rückprojektion** zu den dorsalen Raphé Kernen (die ihrerseits den NAcc serotonerg innervieren), derart durch die Behandlung mit 5,7-DHT im Prälimbischen PFC **moduliert** worden sein könnte, dass es zu einer **verstärkten serotonergen Ausschüttung in den NAcc** gekommen ist. Konform zu dieser Hypothese **könnten also GABAerge** Interneurone innerhalb der Raphé Kerne, (die normalerweise exzitatorisch durch den PFC innerviert werden und somit die serotonerge Ausschüttung zu anderen Kerngebieten inhibieren) durch **diese Modulation gehemmt worden sein**, was im Fall der vorliegenden Hypothese zu einer Disinhibition serotonerger Fasern und somit zu einer erhöhten 5-HT Transmission zum NAcc geführt haben könnte. Zudem könnte eine **derartige Modulation** aber auch zu einer **Verstärkung der synaptischen Verknüpfung** zwischen der serotonergen Projektion vom dorsalen Raphé Kern zum NAcc geführt haben. Es wäre also möglich, dass es durch die sogenannte postläsionale „reaktive Synaptogenese“ (nach (Hamori, 1990) erstmals durch (Matthews et al., 1976) beschrieben) zu einem verstärkten Auswachsen synaptischer Verknüpfungen gekommen sein könnte. Innerhalb der Raphé Kerne wurde eine derartiges Auswachsen synaptischer Verknüpfungen (engl.: *sprouting*) zwischen dem medianen Raphé Kernen und dem dorsalen Hippocampus beschrieben (Zhou und Azmitia, 1986). In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass nicht nur die eigentlich lädierte Region vom sprouting betroffen war (nämlich der dorsale Hippocampus beziehungsweise die dort hin verlaufende neuronale Bahn von den Raphé Kernen, dem *Cingulum bundle-induseum griseum*) sondern, dass es ebenfalls zu einem **sprouting einer zweiten wichtigen synaptischen Verknüpfung, der fornix-fimbria** kam (Zhou und Azmitia, 1986). Eine aus diesen Ergebnissen resultierende Frage wäre also, ob es möglich ist, dass eine Projektion aus einer bestimmten Region (im hier vorliegenden Fall von den dorsalen Raphé Kernen) deren Neurotransmission aufgrund der Läsion einer Zielstruktur (im hier vorliegenden Fall der mediale PFC) zum Erliegen kommt, diese Neurotransmission durch einen Kompensations-Mechanismus wie das *sprouting* verstärkt in die synaptische Verknüpfung einer weiteren Zielstruktur (im hier vorliegenden Fall, dem Nucleus accumbens) ausschütten könnte. Diese Hypothese müsste jedoch durch immunocytochemische serotonerge Färbungen überprüft werden. Würde sie sich

bestätigen bliebe zu klären, ob Haloperidol dieses *sprouting* vermindern kann, da sich sowohl im Vergleich mit der Vehikel/Saline-Gruppe als auch mit der Vehikel/Haloperidol-Gruppe jeweils eine moderat stärkere Erhöhung der 5-HT Menge ergab, wenn nur die 5,7-DHT-Behandlung, aber **keine** zusätzliche Haloperidolbehandlung stattgefunden hat. In Zusammenschau mit der Hypothese des *sproutings* könnte auch die serotonerge Turnoverrate im NAcc interpretiert werden. So könnte die **signifikante Erniedrigung der Turnoverrate** zwischen der Vehikel/Haloperidol-Gruppe und der beiden 5,7-DHT-behandelten Gruppen (beziehungsweise zwischen der Vehikel/Saline-Gruppe und der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe) durch einen Anstieg von Serotonin, oder durch die erhöhte serotonerge Innervierung (und somit auch einer erhöhten Anzahl an vesikulären Serotoninspeichern) zu erklären sein. Im Gesamtbild ergibt sich ein erniedrigter Turnover im Verhältnis zu einer gleichbleibenden Menge des Metaboliten 5-HIAA (eventuell verursacht durch eine gleichbleibende Feuerrate und somit auch keiner erhöhten Synthese des Abbauproduktes von Serotonin). Hinweise darauf, dass Haloperidol einen Einfluss auf das Nervenwachstum im allgemeinen (gemessen an dem Einfluss auf die **frühe Genexpression, Transkriptionsfaktoren, Nervenwachstumsfaktoren**) und das *sprouting* im speziellen haben kann, wurde durch mehrere Studien belegt (Alleva et al., 1996; Critchlow et al., 2006; Donohoe et al., 2008). Einige, die zu der genannten Hypothese passen würden haben gezeigt, dass Haloperidol in der Lage ist den Nervenwachstumsfaktor zu vermindern, auch wenn dies lediglich bei Mäusen und im Hypothalamus gezeigt wurde, könnte dies ein wichtiger Hinweis sein, warum Haloperidol das hier vermutete *sprouting* beeinträchtigt haben könnte (Alleva et al., 1996). In einer anderen Studie wurde gezeigt, dass der sogenannte sigma 1 Rezeptor, der durch den Nervenwachstumsfaktoren aktiviert werden kann, (wodurch das *sprouting* von Neuriten ausgelöst wird (Takebayashi et al., 2002)), zwar in seiner Bindungsfähigkeit durch Haloperidol gehemmt wird, allerdings nicht in der Lage ist, die Menge an mRNA dieses Rezeptors zu beeinträchtigen (Inoue et al., 2000). Eine andere Studie hingegen hat gezeigt, dass Haloperidol das *sprouting* positiv beeinflussen kann; so zeigten die Untersuchungen von Tripanichkul und Kollegen, dass Haloperidol bei gesunden Ratten zum *sprouting dopaminerger Neurone* führt (Tripanichkul et al., 2003). Interessant ist allerdings dass die Autoren in derselben Studie herausgefunden haben, dass das *sprouting* durch Haloperidol verhindert wurde wenn gleichzeitig eine Läsion der substantia nigra pars compacta vorlag (Tripanichkul et al., 2003). Diese und andere Ergebnisse lassen keine eindeutige Aussage darüber zu, ob die Vermutung, dass es im vorliegenden Projekt zu einem kompensatorischen *sprouting* zwischen dem dorsalen

Raphé Kern und dem NAcc gekommen sein könnte, und ob die Haloperidolwirkung dieses hypothetische *sprouting* beeinträchtigt haben könnte. Dennoch bieten sie einen Ansatzpunkt für diesbezügliche weitere Untersuchungen. Die Abnahme der Dopaminmenge und seiner Metaboliten vor allem innerhalb der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe im NAcc könnte über eine läsionsbedingte funktionelle Änderung der oben beschriebenen Verknüpfung zwischen dem PFC und dem VTA erfolgt sein. Auch in diesem Fall könnte die 5,7-DHT-Behandlung innerhalb des prälimbischen PFC dazu geführt haben, dass dessen glutamaterge Projektion zum VTA (beschrieben in (Tzschentke und Schmidt, 2003; Vanderschuren und Kalivas, 2000)) derart moduliert wurde, dass dies zu funktionellen Beeinträchtigungen der dopaminergen Afferenzen des VTA zum NAcc geführt haben könnte. Eine derartige Beeinträchtigung könnte beispielsweise über Acetylcholinrezeptoren erfolgt sein, diese Vermutung rührt daher, dass in der Literatur davon berichtet wird, die Aktivierung von muscarinergen Acetylcholinrezeptoren des VTA führe zu einer Stimulation der DA Freisetzung (Gronier et al., 2000). Erwähnenswert in diesem Zusammenhang ist auch eine Studie die darüber berichtet, dass es im Rahmen eines Nikotin-Entzugs durch die s.c. Gabe von Mecamylamin (einem nicotinergen Acetylcholin-Rezeptor Antagonisten (Bacher et al., 2009)) bei Ratten, wie im vorliegenden Projekt zu einer Dopamin-Reduktion und seinen Metaboliten innerhalb des NAcc kommt, während der mediale PFC bei gleicher Behandlung keine derartige Reduktion erfährt (Hildebrand et al., 1998). Die acetylcholinerge Innervierung der VTA erfolgt über das Tegmentum Pontis, sowie den laterodorsalen Kern des Tegmentum (Tolu et al., 2013). Beide Kerne werden ihrerseits glutamaterg durch den PFC innerviert (Del Arco und Mora, 2008). Um diese Hypothese bezüglich der verminderten DA-Menge, respektive deren Metaboliten innerhalb der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe im NAcc zu überprüfen, könnte man den Versuch mit einer durch den Neurotransmitter Acetylcholin erweiterten, HPLC-Analyse erneut durchführen.

Hippocampus

Die Prozentualen Abweichungen der Transmitter und Metabolitenmengen von der Vehikel/Saline- bzw. von der Vehikel/Haloperidol-Gruppe wurden für einige Ergebnisse der HPLC-Auswertung im Hippocampus in der Tabelle 19 bzw. Tabelle 20 nochmal herausgegriffen. Dabei zeigte sich vor allem hinsichtlich der Menge des **Metaboliten 5-HIAA** eine signifikante **Erniedrigung** innerhalb der **beiden 5,7-DHT-behandelten Gruppen**, im Vergleich zur Vehikel/Haloperidol-Gruppe. Bei diesem Vergleich kam es in der 5,7-DHT/Saline-Gruppe zu einer 21,57% igen Verminderung und in der 5,7-

DHT/Haloperidol-Gruppe zu einer 40,42% igen Erniedrigung. Die 5-HT-Menge der beiden 5,7-DHT behandelten Gruppen ergab darüber hinaus eine nicht-signifikante Erniedrigung in Vergleich zur Vehikel/Haloperidol-Gruppe haben, wodurch der Quotient von 5-HIAA Menge und 5-HT-Menge bei der Turnover-Berechnung keinen signifikanten Unterschied ergab. Verglichen mit der HPLC-Auswertung des **PFC fällt auf, dass es im Hippocampus ähnlich wie in dieser Gehirnregion** zu einer Erniedrigung der 5-HIAA-Menge in den mit 5,7-DHT behandelten Gruppen gegenüber der Vehikel/Haloperidol-Gruppe gekommen ist. Zwar findet man im PFC solch eine Reduktion der 5HIAA Menge in den 5HT-behandelten Gruppen auch in Bezug auf die **Vehikel/Saline-Gruppe**; gegenüber der **Vehikel/Haloperidol-Gruppe** ist sie jedoch auch im PFC leicht stabiler. Dies mag damit zusammenhängen, dass die PFC die Zielregion der 5,7-DHT-Behandlung lokalisiert war, wodurch der Verlust der 5-HIAA Menge in diesem Areal innerhalb der 5,7-DHT-behandelten Gruppen noch deutlicher ausgeprägt ist. Dass der Verlust der 5-HIAA Menge im Gruppenvergleich innerhalb des Hippocampus in dieselbe Richtung weist wie in der HPLC-Analyse innerhalb des PFC, könnte entweder auf eine neuronale Verknüpfung des Hippocampus mit dem PFC, oder indirekten Verknüpfungen beider Regionen über eine neuronale Schleife zurück zu führen sein, welche auch die Raphé Kerne einschließt. Der Hippocampus wird wie der PFC aus dem dorsalen (B7), aber auch aus den medianen Raphé Kernen (B8) serotonerg innerviert (Almada et al., 2009; Azmitia und Segal, 1978; Mokler et al., 1998). Dabei projizieren die Fasern der **medianen Raphé-Kerne** (B8) vor allem in Richtung **dorsaler Hippocampus** (Adams et al., 2013; Geyer et al., 1976; Zhou und Azmitia, 1986) während der **ventrale Hippocampus** vornehmlich durch die **dorsalen Raphé Kerne** innerviert wird (Adams et al., 2013; Mokler et al., 1998). Einige dieser Axone innervieren innerhalb des Hippocampus GABAerge, Calbindin-haltige Interneurone, und sind somit in der Lage, hippocampale inhibitorische neuronale Verschaltungen zu modulieren (Freund et al., 1990). Mokler und Kollegen beschreiben, dass die serotonerge Neurotransmission per se durch diverse Rückkopplungsschleifen und **Autorezeptoren** reguliert wird: so gibt es zwischen den medianen und dorsalen Raphé Kernen eine **reziprok- inhibitorische Verknüpfung**, die entweder GABAerg oder serotonerg reguliert wird (Mokler et al., 1998).

betreffende Substanz (Neurotransmitter/Metabolit)	Gruppe	prozentuale Abweichung der Substanz-Menge bezogen auf die Vehikel/ Saline-Gruppe \pm S.E.M.
5-HT	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-8,53 \pm 9,55
5-HT	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-28,50 \pm 12,27
5-HT	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	-1,53 \pm 8,18
5-HIAA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-2,64 \pm 6,57
5-HIAA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-26,05 \pm 9,25
5-HIAA	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	+24,13 \pm 8,58
DA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-1,73 \pm 9,10
DA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	+7,54 \pm 19,08
DA	Vehikel/ Haloperidol-Gruppe	-79,50 \pm 18,08

Tabelle 19 **prozentuale Abweichung der Transmitter und Metaboliten - Menge im Hippocampus
verglichen mit der Vehikel/ Saline-Gruppe**

Dargestellt von links nach rechts: Die Substanzen (Transmitter oder Metaboliten), die Gruppen in denen die jeweilige Menge dieser Substanz im Hippocampus gemessen wurde und die prozentuale Abweichung (\pm S.E.M.) dieser Menge von der Menge der gleichen Substanz innerhalb der Vehikel/ Saline-Gruppe im Hippocampus.

betreffende Substanz (Neurotransmitter/Metabolit)	Gruppe	prozentuale Abweichung der Substanz-Menge bezogen auf die Vehikel/ Haloperidol-Gruppe \pm S.E.M.
5-HT	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-5,08 \pm 9,70
5-HT	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-27,39 \pm 12,46
5-HIAA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	-21,57* \pm 5,29
5-HIAA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	-40,42** \pm 7,45
DA	5,7 DHT/ Saline-Gruppe	+9,10 \pm 10,49
DA	5,7 DHT/ Haloperidol-Gruppe	+19,40 \pm 21,19

Tabelle 20 **prozentuale Abweichung der Transmitter und Metaboliten - Menge im Hippocampus
verglichen mit der Vehikel/ Haloperidol-Gruppe**

Hier angegebene prozentuale Abweichungen (\pm S.E.M.) der jeweiligen Transmitter- bzw. Metaboliten-Mengen (dritte Spalte) beziehen sich auf die entsprechende Substanzmenge in der Vehikel/ Haloperidol-Gruppe im Hippocampus.

Die negative Rückkopplung der Serotonintransmission wird demnach entweder somatodentritisch (über 5-HT_{1A} und 5-HT_{1D} Rezeptoren), am präsynaptischen Terminus (über 5-HT_{1B} Rezeptoren), oder (über 5-HT_{1A} Rezeptoren) an den postsynaptischen, GABAergen Interneuronen des Hippocampus reguliert (Mokler et al., 1998). Da bei der HPLC-Messung der gesamte Hippocampus analysiert und nicht zwischen seinem

dorsalen und ventralen Anteil differenziert wurde, bleibt zu klären, ob es durch die Läsion im PrL-PFC zu einer Modulation gekommen ist, die vornehmlich zu einer Reduktion der 5-HIAA Menge im ventralen Anteil oder im dorsalen Anteil des Hippocampus geführt haben könnte, oder ob es diesbezüglich keinen Unterschied zwischen beiden Regionen gibt. Gäbe es einen Unterschied, wäre zu klären, ob die oben genannte reziproke Verknüpfung zwischen den medianen und dorsalen Raphé Regionen bei einer lokal begrenzten Reduktion der 5-HIAA Menge innerhalb der 5,7-DHT behandelten Gruppen eine Rolle spielen könnte. Diese Differenzierung erscheint insofern interessant, als das Ergebnis im Projekt IIb1 eine Involvierung, insbesondere des dorsalen, jedoch eine weniger starke des ventralen Hippocampus in der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung vermuten lässt. Auch im Hinblick darauf wäre es erstrebenswert, in einem weiteren Versuch den Hippocampus serotonerg im ventralen, respektive dorsalen Anteil zu lädieren. Unterschiede bei der Verhaltensantwort in einem vom PFC abhängigen Verhalten, (der hemmenden Kontrolle impulsiver Verhaltensweisen), wurden bereits bei der Läsion der dorsalen, respektive ventralen Läsion des Hippocampus von Abela und Kollegen gezeigt (Abela et al., 2013); während sich die Tiere mit der dorsalen Hippocampus-Läsion in dieser Studie wie die Kontrollgruppe mit Scheinläsion verhielten, zeigten die Tiere mit der ventralen Hippocampus-Läsion ein von dieser Kontrollgruppe abweichendes Verhalten. Erst eine zusätzliche Applikation des Serotoninwiederaufnahme-Hemmers Escitalopram näherte dieses abweichende Verhalten dem der Kontrollgruppe wieder an (Abela et al., 2013). Die serotonergen Verknüpfungen zwischen dem ventralen (Ohmura et al., 2010), beziehungsweise dem dorsalen Hippocampus (Almada et al., 2009) und den Raphé Kernen wird vor allem mit dem Abruf kontextuellen Angstlernens in Verbindung gebracht. Auch wenn hier keine genaue Aussage über jene neuronale Verknüpfung gemacht werden kann, die durch die serotonerge Läsion im PFC zur Reduktion der 5-HIAA-Menge innerhalb des Hippocampus geführt haben könnte, ist es interessant, dass bei kontextuellem Angstlernen, welches eng mit der serotonergen Projektion zum Hippocampus verknüpft ist, vermutet wird, dass eine neuronale Efferenz vom Hippocampus zum PFC in dieses Verhaltensparadigma involviert ist (Almada et al., 2009). Auch die oben erwähnte inhibitorische Kontrolle von Verhaltensweisen ist von der Interaktion des Hippocampus mit dem PFC abhängig (insbesondere von der Interaktion zwischen ventralem Hippocampus und dem ventralen PFC) (Chudasama et al., 2012). Eine wichtige weiterführende Frage könnte also die sein, welche Auswirkungen eine hippocampale, differenziert ventrale und dorsale 5,7-DHT-Behandlung auf die Entwicklung und

Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung haben könnte, und welche neurochemischen Auswirkungen eine derartige Läsion auch innerhalb des PFC zeigen würde. Derartige Versuche könnten weiterführende Details über das mögliche Zusammenwirken des Hippocampus und des PFC im Verhaltensparadigma der kontextabhängigen Katalepsie-Sensitivierung liefern.

Verhalten und HPLC

Beim Vergleich der Verhaltensergebnisse mit den Daten der HPLC Analyse ist der Nucleus accumbens eins der Areale mit den aufschlussreichsten Ergebnissen. Wie bereits erwähnt gibt es zahlreiche Studien die den NAcc mit **der Expression der Sensitivierung von Psychostimulanzien** in Verbindung setzen (vgl. Kapitel 2.7.1.). Dass es im Zusammenhang mit dem Lernprozess der Psychostimulanzien-induzierten Sensitivierung innerhalb des NAcc und des PFC zur Modulation synaptischer Verknüpfungen kommt, wurde bereits gezeigt (Robinson und Kolb, 1997). Es handelt sich dabei um Mechanismen die insbesondere mit einer Erhöhung dopaminerger Aktivität innerhalb des NAcc einhergehen. Eine weitere Studie stellt auch innerhalb des NAcc einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten der Katalepsie und der Behandlung von Dopamin-Rezeptor-Antagonisten her (Ossowska et al., 1990).

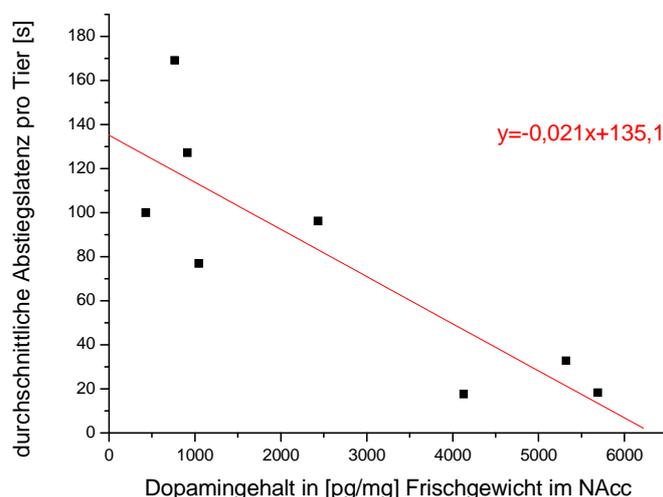


Abbildung 52 Darstellung des Zusammenhangs zwischen dem Dopamin (DA)- Gehalt im NAcc und der mittleren Abstieglatenz der Vehikel/Haloperidol-Gruppe

Diese Abbildung stellt den linearen Zusammenhang, zwischen dem Dopamingehalt im NAcc in der Vehikel/Haloperidol-Gruppe (Abszisse) und der durchschnittlichen Abstieglatenzen der Einzeltiere in der Vehikel/Haloperidol-Gruppe (Ordinate) dar. Die rote Ausgleichsgerade zeigt den Verlauf der negativen linearen Korrelation der Messwerte. Die lineare Ausgleichsgeraden samt Geradengleichung ist in der Abbildung dargestellt.

Wenn man diese nun im Rahmen des vorliegenden Projektes, innerhalb dieser Region, bei den mit Haloperidol behandelten Gruppen die DA-Menge mit der Stärke der Katalepsie in einen linearen Zusammenhang bringt, fällt auf, dass es im NAcc zu einer negativen Korrelation zwischen DA Menge und dem Verhalten innerhalb der **Vehikel/Haloperidol-Gruppe** gekommen ist (Abbildung 52). Die Berechnung des

sogenannten Spearman'schen Rang Korrelation (nach (Werner, 1992)) bestätigte diesen Zusammenhang mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,05$. Interessanterweise besteht diese Korrelation nicht innerhalb der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe (Abbildung 53), welche jedoch im Verhalten an den beidem letzten Tagen der Sensitivierung (Tag 5 und Tag 6) eine (nicht signifikant) höhere Katalepsistärke gezeigt hat als die Vehikel/Haloperidol-Gruppe.

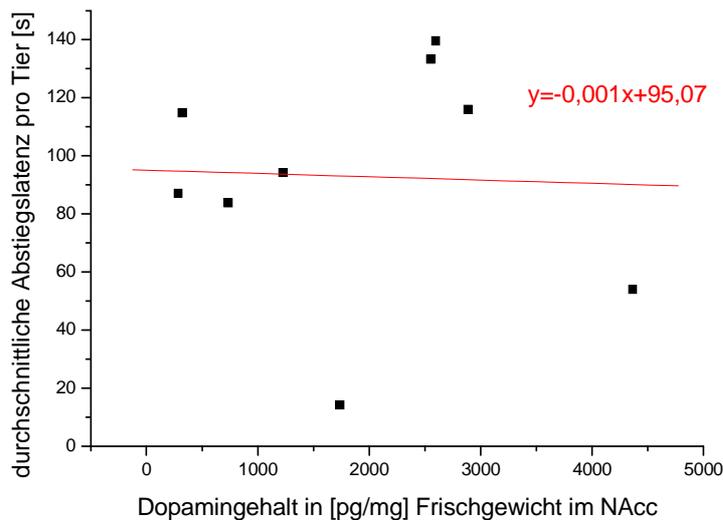


Abbildung 53 Darstellung des Zusammenhangs zwischen Dopamin (DA)-Gehalt im NAcc und der mittleren Abstiegslatenz der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe

Zwischen der durchschnittlichen Abstiegslatenz pro Tier (Ordinate) und dem Dopamingehalt im NAcc (Abszisse) ergab sich in der 5,7 DHT/Haloperidol-Gruppe keine lineare Korrelation. Dies wird durch den Verlauf der Ausgleichsgeraden (dargestellt und durch Geradengleichung beschrieben) ersichtlich.

Da bezüglich der Dopamin-Menge in keinem anderen untersuchten Areal eine so ausgeprägte negative Korrelation zwischen DA Menge und Katalepsistärke gefunden wurde, ist davon auszugehen, dass der Einfluss der 5,7-DHT-Behandlung im PrL-PFC Dopamin-unabhängig zur (nicht signifikanten) Beschleunigung der Katalepsi-Sensitivierung geführt hat. Ob ein alleiniger serotonerger Mechanismus direkt dazu beigetragen hat ist jedoch fraglich, denn in keinem der untersuchten Areale konnte innerhalb der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe eine signifikante Korrelation zwischen Serotoninmenge und Haloperidol-induzierter Katalepsistärke festgestellt werden. Solch eine Korrelation (positiver Art) wäre beispielsweise innerhalb des NAcc denkbar gewesen, da in diesem Areal der Vergleich der 5-HT-Menge in der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe signifikant höher ausfiel als in der Vehikel/Haloperidol-Gruppe. Auch in den Arealen (Hippocampus und PFC) bei denen es im Rahmen der HPLC Analyse zu einer signifikanten Erniedrigung der 5-HIAA-Menge in der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe, verglichen mit der Vehikel/Haloperidol-Gruppe gekommen ist, lag keinerlei Korrelation zwischen der Menge dieses Metaboliten und der Katalepsistärke vor. Demzufolge können bezüglich des Neurotransmitters Serotonin kaum Rückschlüsse, von der HPLC

Auswertung auf das Verhalten gezogen werden. Es bedarf bei weiteren Untersuchungen die Einbeziehung der Analyse anderer Transmittersysteme, welche durch die 5,7-DHT-Behandlung ebenfalls einen Einfluss auf die Haloperidol-induzierte Katalepsie-Sensitivierung gehabt haben könnten. Wie bereits im Zusammenhang mit HPLC Untersuchung im PFC erwähnt, könnte dabei unter anderem die Glutamattransmission eine wichtige Rolle einnehmen. Es lässt sich zusammenfassen, dass das Ausbleiben eines signifikanten Unterschiedes zwischen der Abstiegslatenz am Tag des Kontextwechsels und dem letzten Sensitivierungstag vor eben diesem Kontextwechsel im ProjektIIb1.1 bei der AI-Vehikel/PrL-Chinolinat-Gruppe, respektive bei der hier verwendeten 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe nicht nachgewiesen werden konnte. Dies lässt vermuten, dass die vermutlich eher nicht im PrL-PFC lokalisierte Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung auch nicht über einen serotonergen Mechanismus in dieser Gehirnregion reguliert wird. Hinsichtlich der Korrelation zwischen dem Verhalten und der biochemischen Analyse sticht insbesondere der NAcc in diesem Projekt hervor. Es wäre interessant hinsichtlich des vermuteten sproutings weitere Untersuchungen durchzuführen, die vielleicht auch aufdecken könnten, welche Mechanismen hinter der bisher nicht aufgeklärten moderaten Beschleunigung der Katalepsie-Sensitivierung innerhalb der 5,7-DHT/Haloperidol-Gruppe stecken könnte.

8. Schlussfolgerung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung der post-test-Gabe des NMDA- Rezeptor Antagonisten MK801 und des nicht-NMDA-Rezeptor-Antagonisten GYKI52466 auf die Entwicklung der Katalepsie-Sensitivierung hin untersucht. Auch wenn die Gabe der beiden Glutamatrezeptor-Antagonisten die Entwicklung der Katalepsie-Sensitivierung nicht verhindern konnte, wurde eine signifikante Verzögerung dieses Lernprozesses im gegebenen Verabreichungszeitraum erreicht. Dies spricht für eine Beteiligung der Glutamatrezeptoren an der progressiven, lernbedingten Verschlechterung der im Tiermodell nachgebildeten Parkinson-Symptome des Rigors und der Akinese. Während die therapeutische Wirksamkeit von Glutamatrezeptorantagonisten in Bezug auf die L-DOPA induzierten Dyskinesien in anderen Tiermodellen nachgewiesen wurde (Ko et al., 2014) und exzitatorische Effekte durch die Gabe von Glutamatrezeptorantagonisten verbessert werden sollen (Assous et al., 2014) zeigen auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass es lohnenswert ist, bei der Untersuchung von mit der Parkinsonerkrankung verbundenen Lernprozessen der progressiven Symptomverschlechterung, die Rolle der Glutamatrezeptoren zu berücksichtigen. Aus der vorliegenden Arbeit geht zudem hervor, dass neben der pharmakologischen Beeinträchtigung des Sensitivierungsprozesses im Tiermodell auch auf Verhaltensebene interveniert werden könnte, um das Ausmaß einer fortschreitenden Katalepsie zu vermindern. So wurde gezeigt, dass ein täglich durchgeführter Kontextwechsel die Entwicklung einer stabilen Sensitivierung nachhaltig beeinträchtigt. Dass ein einmaliger Kontextwechsel einen bis dato entwickelten Sensitivierungsprozess beeinträchtigt, war bereits zuvor gut in der Literatur belegt (Amtage und Schmidt, 2003; Klein und Schmidt, 2003). In Hinblick auf eine Weiterentwicklung von Verhaltens-basierten Therapiemodellen, spricht das Ergebnis des hier erstmals durchgeführten täglichen Kontextwechsels bei der Katalepsie-Sensitivierung dafür, dass sich eine kontinuierliche Veränderung der Umgebung positiv auf eine Verminderung von erlernten pathologischen motorischen Symptomen auswirken könnte. Auch Tiermodelle, in denen das sogenannte *environmental enrichment*, also die Anreicherung der Umgebung mit zusätzlichen Sinnesreizen, als Versuchsparadigma verwendet wurde zeigten in anderen Studien eine Verbesserung der Parkinson Symptomatik (Laviola et al., 2008). Für die Entwicklung einer optimierten Verhaltens-basierten Beeinflussung der Katalepsie-Sensitivierung durch Veränderung des Kontextes, war es in der vorliegenden Arbeit ein Anliegen, die genaue Zusammensetzung des jenes Kontextes zu verstehen, der gerade noch in der

Lage ist eine Verminderung der Abstiegslatenz hervorzurufen. Um eine derartige Schwelle zu ermitteln wurde der Einfluss verschiedener Kontextkomponenten untersucht. Die Ergebnisse hinsichtlich des Einflusses von visuellem, taktilem und auditorischem Hinweisreiz haben verdeutlicht, dass es eines höheren Analyseaufwandes bedarf um die einzelnen Kontextkomponenten hinsichtlich ihres Verhaltens-relevanten Anteils am (auf die Abstiegslatenz vermindern wirkenden) Gesamtkontext zu identifizieren. Es wäre jedoch diesbezüglich von Vorteil weitere Untersuchungen anzustreben: würde sich beispielsweise herausstellen, dass es möglich ist, mit einem einzelnen neu dargebotenen Hinweisreiz, oder der Kombination aus einzelnen Hinweisreizen bei entsprechender Saliens eine Verminderung der Abstiegslatenz zu erreichen, so würde dies den Aufwand für eine auf diesen Befunden basierende therapeutische Maßnahme entsprechend reduzieren. Auch in Hinblick auf die bekannte Beeinträchtigung einiger Sinnesmodalitäten in Rahmen der Parkinsonerkrankung (Bodis-Wollner et al., 1987; Haehner et al., 2007; Herting et al., 2008; Kivity et al., 2009; Moscovitch et al., 2009; Sommer et al., 2004) wäre es von Bedeutung, genau die externen Hinweisreize oder eine entsprechende Kombination zu identifizieren, die sich für eine angestrebte therapeutische Maßnahme zur Verminderung lernbedingter Symptomprogression als geeignet erweisen würden. Auch die Rolle des Neuigkeitwertes eines zum Kontextwechsel dargebotenen Reizes wurde hier untersucht. Die Verminderung des *Novelty-Effektes* durch eine der Sensitivierung vorangehende Habituation an die später als Kontextwechsel dienende Umgebung lässt nicht vermuten, dass es sich bei der Verminderung der Abstiegslatenz in dem neuen Kontext um einen Effekt handelt, der allein durch den Neuigkeitwert dieses Kontextes zu erklären wäre. Um Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung auch anatomisch zu lokalisieren wurden hier erstmalig Transmitter-unspezifische Läsionen im PFC, Hippocampus und den Amygdalae sowie serotonerge Läsionen im prälimbischen Anteil des PFC mit anschließenden Verhaltensversuchen zur Analyse der Kontextabhängigkeit durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Studie lassen vermuten, dass weder der prälimbische PFC noch die Amygdalae an der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung beteiligt sind. Auch wenn die Datenerhebung der anatomischen Untersuchungen auf einer geringen Versuchstieranzahl basiert und entsprechenden Schwankungen unterlegen ist, bieten die Ergebnisse einen starken Hinweis darauf, dass der dorsale Hippocampus an der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung beteiligt sein könnte. Eine moderatere Beteiligung lassen die Ergebnisse für den agranulären PFC vermuten. Neben der Studie von Bechara, die über einen Hinweis auf eine serotonerge Beteiligung des Striatums und

des medialen Vorderhirnbündels an der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung berichtet hat (Bechara, 2007), stellt die vorliegende Arbeit trotz genannter Einschränkungen, ein weiteres Puzzlestück dar um ein Gesamtbild über die Lokalisation der Kontextabhängigkeit der Katalepsie-Sensitivierung zu bekommen.

Literatur

- Abdulwahid Arif, I., Ahmad Khan, H., 2010, Environmental toxins and Parkinson's disease: putative roles of impaired electron transport chain and oxidative stress. *Toxicol Ind Health* 26, 121-128.
- Abel, T., Lattal, K.M., 2001, Molecular mechanisms of memory acquisition, consolidation and retrieval. *Curr Opin Neurobiol* 11, 180-187.
- Abela, A.R., Dougherty, S.D., Fagen, E.D., Hill, C.J., Chudasama, Y., 2013, Inhibitory control deficits in rats with ventral hippocampal lesions. *Cereb Cortex* 23, 1396-1409.
- Abrahamse, E.L., Verwey, W.B., 2008, Context dependent learning in the serial RT task. *Psychol Res* 72, 397-404.
- Adams, W.K., Halberstadt, A.L., van den Buuse, M., 2013, Hippocampal serotonin depletion unmasks differences in the hyperlocomotor effects of phencyclidine and MK-801: quantitative versus qualitative analyses. *Front Pharmacol* 4, 109.
- Agatsuma, S., Lee, M., Zhu, H., Chen, K., Shih, J.C., Seif, I., Hiroi, N., 2006, Monoamine oxidase A knockout mice exhibit impaired nicotine preference but normal responses to novel stimuli. *Hum Mol Genet* 15, 2721-2731.
- Albin, R.L., Makowiec, R.L., Hollingsworth, Z.R., Dure, L.S.t., Penney, J.B., Young, A.B., 1992, Excitatory amino acid binding sites in the basal ganglia of the rat: a quantitative autoradiographic study. *Neuroscience* 46, 35-48.
- Albin, R.L., Young, A.B., Penney, J.B., 1989, The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci* 12, 366-375.
- Alexander, G.E., DeLong, M.R., Strick, P.L., 1986, Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci* 9, 357-381.
- Alheid, G.F., Heimer, L., 1988, New perspectives in basal forebrain organization of special relevance for neuropsychiatric disorders: the striatopallidal, amygdaloid, and corticopetal components of substantia innominata. *Neuroscience* 27, 1-39.
- Allen, H.L., Iversen, L.L., 1990, Phencyclidine, dizocilpine, and cerebrocortical neurons. *Science* 247, 221.
- Alleva, E., Della Seta, D., Cirulli, F., Aloe, L., 1996, Haloperidol treatment decreases nerve growth factor levels in the hypothalamus of adult mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 20, 483-489.
- Almada, R.C., Borelli, K.G., Albrechet-Souza, L., Brandao, M.L., 2009, Serotonergic mechanisms of the median raphe nucleus-dorsal hippocampus in conditioned fear: Output circuit involves the prefrontal cortex and amygdala. *Behav Brain Res* 203, 279-287.
- Amaral, D.G., Witter, M.P., 1995, Hippocampal formation. In *The Rat Nervous System* Second edition. Edited by: Paxinos G. London. Academic Press, 443-493.
- Amat, J., Baratta, M.V., Paul, E., Bland, S.T., Watkins, L.R., Maier, S.F., 2005, Medial prefrontal cortex determines how stressor controllability affects behavior and dorsal raphe nucleus. *Nat Neurosci* 8, 365-371.
- Amtage, J., Schmidt, W.J., 2003, Context-dependent catalepsy intensification is due to classical conditioning and sensitization. *Behav Pharmacol* 14, 563-567.
- Anagnostaras, S.G., Gale, G.D., Fanselow, M.S., 2001, Hippocampus and contextual fear conditioning: recent controversies and advances. *Hippocampus* 11, 8-17.
- Anagnostaras, S.G., Maren, S., Fanselow, M.S., 1999, Temporally graded retrograde amnesia of contextual fear after hippocampal damage in rats: within-subjects examination. *J Neurosci* 19, 1106-1114.
- Anagnostaras, S.G., Robinson, T.E., 1996, Sensitization to the psychomotor stimulant effects of amphetamine: modulation by associative learning. *Behav Neurosci* 110, 1397-1414.
- Anderson, D.W., Schray, R.C., Duester, G., Schneider, J.S., 2011, Functional significance of aldehyde dehydrogenase ALDH1A1 to the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res* 1408, 81-87.

- Ankarcrona, M. ,Dypbukt, J.M. ,Bonfoco, E. ,Zhivotovsky, B. ,Orrenius, S. ,Lipton, S.A., Nicotera, P., 1995, Glutamate-induced neuronal death: a succession of necrosis or apoptosis depending on mitochondrial function. *Neuron* 15, 961-973.
- Archer, T. ,Mohammed, A.K., Jarbe, T.U., 1986, Context-dependent latent inhibition in taste aversion learning. *Scand J Psychol* 27, 277-284.
- Argilli, E. ,Sibley, D.R. ,Malenka, R.C. ,England, P.M., Bonci, A., 2008, Mechanism and time course of cocaine-induced long-term potentiation in the ventral tegmental area. *J Neurosci* 28, 9092-9100.
- Ascher, P., Nowak, L., 2009, Early biophysics of the NMDA receptor channel. *J Physiol* 587, 4563-4564.
- Assous, M. ,Had-Aissouni, L. ,Gubellini, P. ,Melon, C. ,Nafia, I. ,Salin, P. ,Kerkerian-Le-Goff, L., Kachidian, P., 2014, Progressive Parkinsonism by acute dysfunction of excitatory amino acid transporters in the rat substantia nigra. *Neurobiol Dis* 65, 69-81.
- Avey, J.B. ,Luthans, F., Jensen, S.M., 2009, psychological capital: a positive resource for combating employee stress and turnover *Human Resource Management* 48 677- 693.
- Azmitia, E.C., Segal, M., 1978, An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 179, 641-667.
- Baas, H., 1999, Therapiestrategien bei de novo-Parkinson-Patienten. *Nervenarzt* 70, 11-18.
- Bacher, I. ,Wu, B. ,Shytle, D.R., George, T.P., 2009, Mecamylamine - a nicotinic acetylcholine receptor antagonist with potential for the treatment of neuropsychiatric disorders. *Expert Opin Pharmacother* 10, 2709-2721.
- Baddeley, A., 2003, Working memory: looking back and looking forward. *Nat Rev Neurosci* 4, 829-839.
- Baddeley, A.D., 1996, The concept of working memory., In S. Gathercole (Ed). *Models of short term memory*, 1-22.
- Badiani, A. ,Anagnostaras, S.G., Robinson, T.E., 1995, The development of sensitization to the psychomotor stimulant effects of amphetamine is enhanced in a novel environment. *Psychopharmacology (Berl)* 117, 443-452.
- Bailey, C.H. ,Bartsch, D., Kandel, E.R., 1996, Toward a molecular definition of long-term memory storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 13445-13452.
- Bannerman, D.M. ,Yee, B.K. ,Good, M.A. ,Heupel, M.J. ,Iversen, S.D., Rawlins, J.N., 1999, Double dissociation of function within the hippocampus: a comparison of dorsal, ventral, and complete hippocampal cytotoxic lesions. *Behav Neurosci* 113, 1170-1188.
- Bardin, L. ,Auclair, A. ,Kleven, M.S. ,Prinssen, E.P. ,Koek, W. ,Newman-Tancredi, A., Depoortere, R., 2007, Pharmacological profiles in rats of novel antipsychotics with combined dopamine D2/serotonin 5-HT1A activity: comparison with typical and atypical conventional antipsychotics. *Behav Pharmacol* 18, 103-118.
- Barkai, A.I. ,Kowalik, S., Reches, A., 1984, Dopamine and serotonin metabolites in rat cerebroventricular fluid following withdrawal of haloperidol or electroshock treatment. *Psychopharmacology (Berl)* 84, 352-355.
- Barnes, D.E. ,Robinson, B. ,Csernansky, J.G., Bellows, E.P., 1990, Sensitization versus tolerance to haloperidol-induced catalepsy: multiple determinants. *Pharmacol Biochem Behav* 36, 883-887.
- Bartova, P. ,Skoloudik, D. ,Ressner, P. ,Langova, K. ,Herzig, R., Kanovsky, P., 2010, Correlation between substantia nigra features detected by sonography and Parkinson disease symptoms. *J Ultrasound Med* 29, 37-42.
- Basselin, M. ,Ramadan, E. ,Igarashi, M. ,Chang, L. ,Chen, M. ,Kraft, A.D. ,Harry, G.J., Rapoport, S.I., 2011, Imaging upregulated brain arachidonic acid metabolism in HIV-1 transgenic rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 31, 486-493.
- Batool, F., Haleem, D.J., 2008, Serotonin(1A) receptor agonism in the expression of behavioral dopaminergic supersensitivity in subchronic haloperidol treated rats. *Pak J Pharm Sci* 21, 411-420.

- Baumgarten, H.G., Jenner, S., Klemm, H.P., 1981, Serotonin neurotoxins: recent advances in the mode of administration and molecular mechanism of action. *J Physiol (Paris)* 77, 309-314.
- Beal, M.F., Martin, J.B., 1985, Topographical dopamine and serotonin distribution and turnover in rat striatum. *Brain Res* 358, 10-15.
- Bechara, R., 2007, The Effect of Striatal Serotonin Depletion on Haloperidol-induced Catalepsy Sensitization. Thesis submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree Master of Science in Neural and Behavioural Sciences.
- Behl, C., Heinz, A., Kienast, T., Bogerts, B., Müller, M.B., Krieg, J.-C., Wiedemann, K., Ströhle, A., Kellner, M., Herpertz-Dahlmann, B., al., e., 2007, *Neurobiologie psychischer Störungen. Handbuch der Psychopharmakotherapie*, Springer, Berlin Auflage: 1. .
- Behnke, S., Schroder, U., Berg, D., 2010, Transcranial sonography in the premotor diagnosis of Parkinson's disease. *Int Rev Neurobiol* 90, 93-106.
- Bellone, C., Luscher, C., 2005, mGluRs induce a long-term depression in the ventral tegmental area that involves a switch of the subunit composition of AMPA receptors. *Eur J Neurosci* 21, 1280-1288.
- Ben Mamou, C., Gamache, K., Nader, K., 2006, NMDA receptors are critical for unleashing consolidated auditory fear memories. *Nat Neurosci* 9, 1237-1239.
- Berg, D., 2007, Ultrasound in the (premotor) diagnosis of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 13 Suppl 3, S429-433.
- Berg, D., 2011, Substantia nigra hyperechogenicity is a risk marker of Parkinson's disease: yes. *J Neural Transm.*
- Bhattacharya, T., Bhakta, A., Ghosh, S.K., 2011, Long term effect of monosodium glutamate in liver of albino mice after neo-natal exposure. *Nepal Med Coll J* 13, 11-16.
- Bienkiewicz, M.M., Rodger, M.W., Young, W.R., Craig, C.M., 2013, Time to get a move on: overcoming bradykinetic movement in Parkinson's disease with artificial sensory guidance generated from biological motion. *Behav Brain Res* 253, 113-120.
- Blandini, F., Nappi, G., Tassorelli, C., Martignoni, E., 2000, Functional changes of the basal ganglia circuitry in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* 62, 63-88.
- Bliss, T.V., Lomo, T., 1973, Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232, 331-356.
- Block, F., Kosinski, C.M., 2001, [Glutamate antagonists in neurology]. *Nervenarzt* 72, 393-405.
- Bloise, E., Carey, R.J., Carrera, M.P., 2007, Behavioral sensitization produced by a single administration of apomorphine: implications for the role of Pavlovian conditioning in the mediation of context-specific sensitization. *Pharmacol Biochem Behav* 86, 449-457.
- Blomeley, C., Bracci, E., 2005, Excitatory effects of serotonin on rat striatal cholinergic interneurons. *J Physiol* 569, 715-721.
- Bodis-Wollner, I., Marx, M.S., Mitra, S., Bobak, P., Mylin, L., Yahr, M., 1987, Visual dysfunction in Parkinson's disease. Loss in spatiotemporal contrast sensitivity. *Brain* 110 (Pt 6), 1675-1698.
- Bonsi, P., Cuomo, D., Ding, J., Sciamanna, G., Ulrich, S., Tschertner, A., Bernardi, G., Surmeier, D.J., Pisani, A., 2007, Endogenous serotonin excites striatal cholinergic interneurons via the activation of 5-HT_{2C}, 5-HT₆, and 5-HT₇ serotonin receptors: implications for extrapyramidal side effects of serotonin reuptake inhibitors. *Neuropsychopharmacology* 32, 1840-1854.
- Borta, A., Schwarting, R.K., 2005, Post-trial treatment with the nicotinic agonist metanicotine: Differential effects in Wistar rats with high versus low rearing activity. *Pharmacol Biochem Behav* 80, 541-548.

- Bortolotto, Z.A., Lauri, S., Isaac, J.T., Collingridge, G.L., 2003, Kainate receptors and the induction of mossy fibre long-term potentiation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358, 657-666.
- Bossert, J.M., Liu, S.Y., Lu, L., Shaham, Y., 2004, A role of ventral tegmental area glutamate in contextual cue-induced relapse to heroin seeking. *J Neurosci* 24, 10726-10730.
- Boudreau, A.C., Wolf, M.E., 2005, Behavioral sensitization to cocaine is associated with increased AMPA receptor surface expression in the nucleus accumbens. *J Neurosci* 25, 9144-9151.
- Bouton, M.E., 1988, Context and ambiguity in the extinction of emotional learning: implications for exposure therapy. *Behav Res Ther* 26, 137-149.
- Bouwmeester, H., Wolterink, G., van Ree, J.M., 2002, Neonatal development of projections from the basolateral amygdala to prefrontal, striatal, and thalamic structures in the rat. *J Comp Neurol* 442, 239-249.
- Bower, G.H., 1972, Stimulus-sampling theory of encoding variability. *Coding Processes in human memory*, In A. W. Melton & E. Martin Washington D.C.: Winston
- Braak, H., Del Tredici, K., Rub, U., de Vos, R.A., Jansen Steur, E.N., Braak, E., 2003, Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 24, 197-211.
- Braak, H., Ghebremedhin, E., Rub, U., Bratzke, H., Del Tredici, K., 2004, Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. *Cell Tissue Res* 318, 121-134.
- Breakefield, X.O., Blood, A.J., Li, Y., Hallett, M., Hanson, P.I., Standaert, D.G., 2008, The pathophysiological basis of dystonias. *Nat Rev Neurosci* 9, 222-234.
- Brenhouse, H.C., Andersen, S.L., 2008, Delayed extinction and stronger reinstatement of cocaine conditioned place preference in adolescent rats, compared to adults. *Behav Neurosci* 122, 460-465.
- Broadbent, J., Kampmüller, K.M., Koonse, S.A., 2003, Expression of behavioral sensitization to ethanol by DBA/2J mice: the role of NMDA and non-NMDA glutamate receptors. *Psychopharmacology (Berl)* 167, 225-234.
- Broadbent, N.J., Clark, R.E., 2013, Remote context fear conditioning remains hippocampus-dependent irrespective of training protocol, training-surgery interval, lesion size, and lesion method. *Neurobiol Learn Mem*.
- Brodmann, K., 1909, *Vergleichende Lokalisationslehre der Großhirnrinde - in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues*. Leipzig: Johann Ambrosius Barth Verlag
Reprint d. Orig.-Ausg. Leipzig 1909 von Ernst Winkelmann u. Karl Seidel. Leipzig: J. A. Barth, 1985, 335.
- Brown, L.A., Doan, J.B., Whishaw, I.Q., Suchowersky, O., 2007, Parkinsonian deficits in context-dependent regulation of standing postural control. *Neurosci Lett* 418, 292-297.
- Brown, P., Molliver, M.E., 2000, Dual serotonin (5-HT) projections to the nucleus accumbens core and shell: relation of the 5-HT transporter to amphetamine-induced neurotoxicity. *J Neurosci* 20, 1952-1963.
- Brudzynski, S.M., 2009, Communication of adult rats by ultrasonic vocalization: biological, sociobiological, and neuroscience approaches. *ILAR J* 50, 43-50.
- Brudzynski, S.M., 2013, Ethotransmission: communication of emotional states through ultrasonic vocalization in rats. *Curr Opin Neurobiol* 23, 310-317.
- Bruno, V., Battaglia, G., Copani, A., D'Onofrio, M., Di Iorio, P., De Blasi, A., Melchiorri, D., Flor, P.J., Nicoletti, F., 2001, Metabotropic glutamate receptor subtypes as targets for neuroprotective drugs. *J Cereb Blood Flow Metab* 21, 1013-1033.
- Bungeroth, M., Appenzeller, S., Regulín, A., Volker, W., Lorenzen, I., Grotzinger, J., Pendziwiat, M., Kühlenbaumer, G., 2014, Differential aggregation properties of alpha-synuclein isoforms. *Neurobiol Aging*.
- Bunting-Perry, L., Spindler, M., Robinson, K.M., Noorigian, J., Cianci, H.J., Duda, J.E., 2013, Laser light visual cueing for freezing of gait in Parkinson disease: A pilot study with male participants. *J Rehabil Res Dev* 50, 223-230.
- Burdach, K.F., 1819-1822, *Vom Baue und Leben des Gehirns*. Leipzig: Dyk'sche Buchhdl 2.

- Burgdorf, J., Knutson, B., Panksepp, J., Ikemoto, S., 2001a, Nucleus accumbens amphetamine microinjections unconditionally elicit 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats. *Behav Neurosci* 115, 940-944.
- Burgdorf, J., Knutson, B., Panksepp, J., Shippenberg, T.S., 2001b, Evaluation of rat ultrasonic vocalizations as predictors of the conditioned aversive effects of drugs. *Psychopharmacology (Berl)* 155, 35-42.
- Burgess, N., 2006, Spatial memory: how egocentric and allocentric combine. *Trends Cogn Sci* 10, 551-557.
- Burnet, P.W., Chen, C.P., McGowan, S., Franklin, M., Harrison, P.J., 1996, The effects of clozapine and haloperidol on serotonin-1A, -2A and -2C receptor gene expression and serotonin metabolism in the rat forebrain. *Neuroscience* 73, 531-540.
- Bussey, T.J., Muir, J.L., Everitt, B.J., Robbins, T.W., 1997, Triple dissociation of anterior cingulate, posterior cingulate, and medial frontal cortices on visual discrimination tasks using a touchscreen testing procedure for the rat. *Behav Neurosci* 111, 920-936.
- Caballol, N., Marti, M.J., Tolosa, E., 2007, Cognitive dysfunction and dementia in Parkinson disease. *Mov Disord* 22 Suppl 17, S358-366.
- Cador, M., Bijiou, Y., Cailhol, S., Stinus, L., 1999, D-amphetamine-induced behavioral sensitization: implication of a glutamatergic medial prefrontal cortex-ventral tegmental area innervation. *Neuroscience* 94, 705-721.
- Calabresi, P., Centonze, D., Gubellini, P., Pisani, A., Bernardi, G., 2000, Acetylcholine-mediated modulation of striatal function. *Trends Neurosci* 23, 120-126.
- Calabresi, P., Pisani, A., Mercuri, N.B., Bernardi, G., 1992, Long-term Potentiation in the Striatum is Unmasked by Removing the Voltage-dependent Magnesium Block of NMDA Receptor Channels. *Eur J Neurosci* 4, 929-935.
- Calandrea, L., Desmedt, A., Decorte, L., Jaffard, R., 2005, A different recruitment of the lateral and basolateral amygdala promotes contextual or elemental conditioned association in Pavlovian fear conditioning. *Learn Mem* 12, 383-388.
- Camara, E., Rodriguez-Fornells, A., Ye, Z., Munte, T.F., 2009, Reward networks in the brain as captured by connectivity measures. *Front Neurosci* 3, 350-362.
- Cannon, W.B., 1932, *The wisdom of the body*. New York: Norton.
- Caplin, A., Dean, M., 2008, Axiomatic methods, dopamine and reward prediction error. *Curr Opin Neurobiol* 18, 197-202.
- Carey, R.J., 1986, Conditioned rotational behavior in rats with unilateral 6-hydroxydopamine lesions of the substantia nigra. *Brain Res* 365, 379-382.
- Carlsson, A., Lindqvist, M., Magnusson, T., 1957, 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. *Nature* 180, 1200.
- Carpenter, A.F., Georgopoulos, A.P., Pellizzer, G., 1999, Motor cortical encoding of serial order in a context-recall task. *Science* 283, 1752-1757.
- Carta, M., Carlsson, T., Kirik, D., Bjorklund, A., 2007, Dopamine released from 5-HT terminals is the cause of L-DOPA-induced dyskinesia in parkinsonian rats. *Brain* 130, 1819-1833.
- Carter, C.J., 1982, Topographical distribution of possible glutamatergic pathways from the frontal cortex to the striatum and substantia nigra in rats. *Neuropharmacology* 21, 379-383.
- Castelhano-Carlos, M.J., Baumans, V., 2009, The impact of light, noise, cage cleaning and in-house transport on welfare and stress of laboratory rats. *Lab Anim* 43, 311-327.
- Castillo, P.E., Malenka, R.C., Nicoll, R.A., 1997, Kainate receptors mediate a slow postsynaptic current in hippocampal CA3 neurons. *Nature* 388, 182-186.
- Centonze, D., Gubellini, P., Bernardi, G., Calabresi, P., 1999, Permissive role of interneurons in corticostriatal synaptic plasticity. *Brain Res Brain Res Rev* 31, 1-5.
- Chandra, S., Gallardo, G., Fernandez-Chacon, R., Schluter, O.M., Sudhof, T.C., 2005, Alpha-synuclein cooperates with CSPalpha in preventing neurodegeneration. *Cell* 123, 383-396.

- Chang, W.H., Jaw, S.S., Tsay, L., 1989, Chronic haloperidol treatment with low doses may enhance the increase of homovanillic acid in rat brain. *Eur J Pharmacol* 162, 151-156.
- Charney, D.S., 2003, Neuroanatomical circuits modulating fear and anxiety behaviors. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, 38-50.
- Chen, H.S., Pellegrini, J.W., Aggarwal, S.K., Lei, S.Z., Warach, S., Jensen, F.E., Lipton, S.A., 1992, Open-channel block of N-methyl-D-aspartate (NMDA) responses by memantine: therapeutic advantage against NMDA receptor-mediated neurotoxicity. *J Neurosci* 12, 4427-4436.
- Cheung, T.H., Cardinal, R.N., 2005, Hippocampal lesions facilitate instrumental learning with delayed reinforcement but induce impulsive choice in rats. *BMC Neurosci* 6, 36.
- Chhatwal, J.P., Stanek-Rattiner, L., Davis, M., Ressler, K.J., 2006, Amygdala BDNF signaling is required for consolidation but not encoding of extinction. *Nat Neurosci* 9, 870-872.
- Choi, S., Jonak, E., Fernstrom, J.D., 2004, Serotonin reuptake inhibitors do not prevent 5,7-dihydroxytryptamine-induced depletion of serotonin in rat brain. *Brain Res* 1007, 19-28.
- Chudasama, Y., Doobay, V.M., Liu, Y., 2012, Hippocampal-prefrontal cortical circuit mediates inhibitory response control in the rat. *J Neurosci* 32, 10915-10924.
- Clinton, S.M., Watson, S.J., Akil, H., 2014, High novelty-seeking rats are resilient to negative physiological effects of the early life stress. *Stress* 17, 97-107.
- Coan, E.J., Collingridge, G.L., 1985, Magnesium ions block an N-methyl-D-aspartate receptor-mediated component of synaptic transmission in rat hippocampus. *Neurosci Lett* 53, 21-26.
- Cole, K.C., VanTilburg, D., Burch-Vernon, A., Riccio, D.C., 1996, The Importance of Context in the US Preexposure Effect in CTA: Novel versus Latently Inhibited Contextual Stimuli. *Learn Motiv* 27, 362-374.
- Collingridge, G.L., Volianskis, A., Bannister, N., France, G., Hanna, L., Mercier, M., Tidball, P., Fang, G., Irvine, M.W., Costa, B.M., Monaghan, D.T., Bortolotto, Z.A., Molnar, E., Lodge, D., Jane, D.E., 2013, The NMDA receptor as a target for cognitive enhancement. *Neuropharmacology* 64, 13-26.
- Colpaert, F.C., 1991, State dependency as a mechanism of central nervous system drug action. *NIDA Res Monogr*, 245-266.
- Colpaert, F.C., Niemegeers, C.J., Janssen, P.A., 1976, Theoretical and methodological considerations on drug discrimination learning. *Psychopharmacologia* 46, 169-177.
- Commissaris, R.L., Palmer, A., Neophytou, S., Graham, M., Beckett, S., Marsden, C.A., 2000, Acoustically elicited behaviours in Lister hooded and Wistar rats. *Physiol Behav* 68, 521-531.
- Cooke, S.F., Bliss, T.V., 2006, Plasticity in the human central nervous system. *Brain* 129, 1659-1673.
- Cools, R., Altamirano, L., D'Esposito, M., 2006, Reversal learning in Parkinson's disease depends on medication status and outcome valence. *Neuropsychologia* 44, 1663-1673.
- Corcoran, K.A., Quirk, G.J., 2007, Activity in prelimbic cortex is necessary for the expression of learned, but not innate, fears. *J Neurosci* 27, 840-844.
- Coveney, A.P., Switzer, T., Corrigan, M.A., Redmond, H.P., 2013, Context dependent memory in two learning environments: the tutorial room and the operating theatre. *BMC Med Educ* 13, 118.
- Cowan, N., 2001, The magical number 4 in short-term memory: a reconsideration of mental storage capacity. *Behav Brain Sci* 24, 87-114; discussion 114-185.
- Cowan, N., 2008, What are the differences between long-term, short-term, and working memory? *Prog Brain Res* 169, 323-338.
- Craig, A.D., 2002, How do you feel? Interoception: the sense of the physiological condition of the body. *Nat Rev Neurosci* 3, 655-666.
- Craig, A.D., 2003, Interoception: the sense of the physiological condition of the body. *Curr Opin Neurobiol* 13, 500-505.

- Crawford, M., Masterson, F.A., 1982, Species-specific defense reactions and avoidance learning. An evaluative review. *Pavlov J Biol Sci* 17, 204-214.
- Critchley, M.A., Njung'e, K., Handley, S.L., 1992, Actions and some interactions of 5-HT_{1A} ligands in the elevated X-maze and effects of dorsal raphe lesions. *Psychopharmacology (Berl)* 106, 484-490.
- Critchlow, H.M., Maycox, P.R., Skepper, J.N., Krylova, O., 2006, Clozapine and haloperidol differentially regulate dendritic spine formation and synaptogenesis in rat hippocampal neurons. *Mol Cell Neurosci* 32, 356-365.
- Crombag, H.S., Badiani, A., Chan, J., Dell'Orco, J., Dineen, S.P., Robinson, T.E., 2001, The ability of environmental context to facilitate psychomotor sensitization to amphetamine can be dissociated from its effect on acute drug responsiveness and on conditioned responding. *Neuropsychopharmacology* 24, 680-690.
- Crombag, H.S., Grimm, J.W., Shaham, Y., 2002, Effect of dopamine receptor antagonists on renewal of cocaine seeking by reexposure to drug-associated contextual cues. *Neuropsychopharmacology* 27, 1006-1015.
- Cunha, R.A., J.O., M., J.A., R., 1999, Kainate Receptors Coupled to Gi/Go Proteins in the Rat Hippocampus. *MOLECULAR PHARMACOLOGY*, 56, :429-433
- Dahlstrom, A., Fuxe, K., 1964, Localization of monoamines in the lower brain stem. *Experientia* 20, 398-399.
- Dalley, J.W., Cardinal, R.N., Robbins, T.W., 2004, Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neurosci Biobehav Rev* 28, 771-784.
- Dantuma, E., Merchant, S., Sugaya, K., 2010, Stem cells for the treatment of neurodegenerative diseases. *Stem Cell Res Ther* 1, 37.
- Danysz, W., Parsons, C.G., Kornhuber, J., Schmidt, W.J., Quack, G., 1997, Aminoadamantanes as NMDA receptor antagonists and antiparkinsonian agents--preclinical studies. *Neurosci Biobehav Rev* 21, 455-468.
- Danysz, W., Wroblewski, J.T., Costa, E., 1988, Learning impairment in rats by N-methyl-D-aspartate receptor antagonists. *Neuropharmacology* 27, 653-656.
- Davie, C.A., 2008, A review of Parkinson's disease. *British Medical Bulletin* 86, 109-127.
- Davis, M., 1997, Neurobiology of fear responses: the role of the amygdala. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 9, 382-402.
- Davoody, L., Quiton, R.L., Lucas, J.M., Ji, Y., Keller, A., Masri, R., 2011, Conditioned place preference reveals tonic pain in an animal model of central pain. *J Pain* 12, 868-874.
- De la Casa, L.G., 2013, Food and water deprivation disrupts latent inhibition with an auditory fear conditioning procedure. *Behav Processes*.
- DeArmond, S.J., Fusco, M.M., Dewey, M.M., 1989, *Structure of the Human Brain: A Photographic Atlas*. Oxford University Press, USA 3 edition, 1-208.
- DeBoer, P., Heeringa, M.J., Abercrombie, E.D., 1996, Spontaneous release of acetylcholine in striatum is preferentially regulated by inhibitory dopamine D₂ receptors. *Eur J Pharmacol* 317, 257-262.
- Degos, B., Deniau, J.M., Thierry, A.M., Glowinski, J., Pezard, L., Maurice, N., 2005, Neuroleptic-induced catalepsy: electrophysiological mechanisms of functional recovery induced by high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus. *J Neurosci* 25, 7687-7696.
- Degoulet, M., Rouillon, C., Rostain, J.C., David, H.N., Abirini, J.H., 2008, Modulation by the dorsal, but not the ventral, hippocampus of the expression of behavioural sensitization to amphetamine. *Int J Neuropsychopharmacol* 11, 497-508.
- Del Arco, A., Mora, F., 2008, Prefrontal cortex-nucleus accumbens interaction: in vivo modulation by dopamine and glutamate in the prefrontal cortex. *Pharmacol Biochem Behav* 90, 226-235.
- Derkach, V.A., Oh, M.C., Guire, E.S., Soderling, T.R., 2007, Regulatory mechanisms of AMPA receptors in synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* 8, 101-113.

- Dewar, D. ,Chalmers, D.T. ,Shand, A. ,Graham, D.I., McCulloch, J., 1990, Selective reduction of quisqualate (AMPA) receptors in Alzheimer cerebellum. *Ann Neurol* 28, 805-810.
- Di Pietro, N.C. ,Black, Y.D., Kantak, K.M., 2006, Context-dependent prefrontal cortex regulation of cocaine self-administration and reinstatement behaviors in rats. *Eur J Neurosci* 24, 3285-3298.
- Di Pietro, N.C. ,Mashhoon, Y. ,Heaney, C. ,Yager, L.M., Kantak, K.M., 2008, Role of dopamine D1 receptors in the prefrontal dorsal agranular insular cortex in mediating cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 200, 81-91.
- Diamond, D.M. ,Campbell, A.M. ,Park, C.R. ,Woodson, J.C. ,Conrad, C.D. ,Bachstetter, A.D., Mervis, R.F., 2006, Influence of predator stress on the consolidation versus retrieval of long-term spatial memory and hippocampal spinogenesis. *Hippocampus* 16, 571-576.
- Doan, J.B. ,Whishaw, I.Q. ,Pellis, S.M. ,Suchowersky, O. ,de Bruin, N., Brown, L.A., 2010, Challenging context affects standing reach kinematics among Parkinson's disease patients. *Behav Brain Res* 214, 135-141.
- Doble, A., 1999, The role of excitotoxicity in neurodegenerative disease: implications for therapy. *Pharmacol Ther* 81, 163-221.
- Dombeck, D.A. ,Harvey, C.D. ,Tian, L. ,Looger, L.L., Tank, D.W., 2010, Functional imaging of hippocampal place cells at cellular resolution during virtual navigation. *Nat Neurosci* 13, 1433-1440.
- Donevan, S.D., Rogawski, M.A., 1993, GYKI 52466, a 2,3-benzodiazepine, is a highly selective, noncompetitive antagonist of AMPA/kainate receptor responses. *Neuron* 10, 51-59.
- Donohoe, D.R. ,Weeks, K. ,Aamodt, E.J., Dwyer, D.S., 2008, Antipsychotic drugs alter neuronal development including ALM neuroblast migration and PLM axonal outgrowth in *Caenorhabditis elegans*. *Int J Dev Neurosci* 26, 371-380.
- Dorszewska, J. ,Prendecki, M. ,Lianeri, M., Kozubski, W., 2014, Molecular Effects of L-dopa Therapy in Parkinson's Disease. *Curr Genomics* 15, 11-17.
- Doya, K., 2000, Complementary roles of basal ganglia and cerebellum in learning and motor control. *Curr Opin Neurobiol* 10, 732-739.
- Drew, K.L., Glick, S.D., 1988, Environment-dependent sensitization to amphetamine-induced circling behavior. *Pharmacol Biochem Behav* 31, 705-708.
- Dubois, B., Pillon, B., 1997, Cognitive deficits in Parkinson's disease. *J Neurol* 244, 2-8.
- Dudai, Y., 2002, Molecular bases of long-term memories: a question of persistence. *Curr Opin Neurobiol* 12, 211-216.
- Dudai, Y., Eisenberg, M., 2004, Rites of passage of the engram: reconsolidation and the lingering consolidation hypothesis. *Neuron* 44, 93-100.
- Dunnett, S.B., Bjorklund, A., 1999, Prospects for new restorative and neuroprotective treatments in Parkinson's disease. *Nature* 399, A32-39.
- Durlik, C. ,Cardini, F., Tsakiris, M., 2014, Being watched: The effect of social self-focus on interoceptive and exteroceptive somatosensory perception. *Conscious Cogn* 25, 42-50.
- Duvarci, S. ,Mamou, C.B., Nader, K., 2006, Extinction is not a sufficient condition to prevent fear memories from undergoing reconsolidation in the basolateral amygdala. *Eur J Neurosci* 24, 249-260.
- Eichenbaum, H., 1993, Thinking about brain cell assemblies. *Science* 261, 993-994.
- Eid, A., 2009, *Glutamat als Zusatzstoff in Lebensmitteln*. Examensarbeit, 94 Kindle Edition.
- Eisenbrand, G., 2005, *Stellungnahme zur potentiellen Beteiligung einer oralen Glutamat-Aufnahme an chronischen neurodegenerativen Erkrankungen* DFG-Senatskommission zur Beurteilung der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von Lebensmitteln
- Elliott, P.J. ,Close, S.P. ,Walsh, D.M. ,Hayes, A.G., Marriott, A.S., 1990a, Neuroleptic-induced catalepsy as a model of Parkinson's disease. I. Effect of dopaminergic agents. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect 2*, 79-89.

- Elliott, P.J. ,Close, S.P. ,Walsh, D.M. ,Hayes, A.G., Marriott, A.S., 1990b, Neuroleptic-induced catalepsy as a model of Parkinson's disease. II. Effect of glutamate antagonists. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect 2*, 91-100.
- Elliott, P.J. ,Mason, G.S. ,Stephens-Smith, M., Hagan, R.M., 1991, Behavioural and biochemical responses following activation of midbrain dopamine pathways by receptor selective neurokinin agonists. *Neuropeptides* 19, 119-126.
- Etiévant, A. ,Lambás-Señas, L. ,Abrial, E. ,Bétry, C. ,Haddjeri, N., Lucas, G., 2011, Connection re-established: neurotransmission between the medial prefrontal cortex and serotonergic neurons offers perspectives for fast antidepressant action. *Neuropsychiatry* 1, 165-177.
- Everitt, B.J. ,Morris, K.A. ,O'Brien, A., Robbins, T.W., 1991, The basolateral amygdala-ventral striatal system and conditioned place preference: further evidence of limbic-striatal interactions underlying reward-related processes. *Neuroscience* 42, 1-18.
- Faber, E.S. ,Callister, R.J., Sah, P., 2001, Morphological and electrophysiological properties of principal neurons in the rat lateral amygdala in vitro. *J Neurophysiol* 85, 714-723.
- Fan, L. ,Hu, K. ,Ji, K. ,Sun, Q. ,Xiong, J. ,Yang, L., Liu, H., 2013, Directed differentiation of aged human bone marrow multipotent stem cells effectively generates dopamine neurons. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*.
- Fernandez-Espejo, E., Rodriguez-Espinosa, N., 2011, Psychostimulant Drugs and Neuroplasticity. *pharmaceuticals* 4, 976-991.
- Fink, M. ,Shorter, E., Taylor, M.A., 2010, Catatonia is not schizophrenia: Kraepelin's error and the need to recognize catatonia as an independent syndrome in medical nomenclature. *Schizophr Bull* 36, 314-320.
- Fogelson, N. ,Shah, M. ,Scabini, D., Knight, R.T., 2009, Prefrontal cortex is critical for contextual processing: evidence from brain lesions. *Brain* 132, 3002-3010.
- Folkers, K. ,Lu, Y.A., Rosell, S., 1984, Synthesis and biological activities of neurokinin alpha and beta. *Biochem Biophys Res Commun* 118, 405-408.
- Fox, K., 2002, Anatomical pathways and molecular mechanisms for plasticity in the barrel cortex. *Neuroscience* 111, 799-814.
- Fox, S.E., Ranck, J.B., Jr., 1975, Localization and anatomical identification of theta and complex spike cells in dorsal hippocampal formation of rats. *Exp Neurol* 49, 299-313.
- Frank, M.J., 2005, Dynamic dopamine modulation in the basal ganglia: a neurocomputational account of cognitive deficits in medicated and nonmedicated Parkinsonism. *J Cogn Neurosci* 17, 51-72.
- Frank, M.J., 2008, Schizophrenia: a computational reinforcement learning perspective. *Schizophr Bull* 34, 1008-1011.
- Frank, M.J. ,Scheres, A., Sherman, S.J., 2007, Understanding decision-making deficits in neurological conditions: insights from models of natural action selection. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 362, 1641-1654.
- Frank, M.J. ,Seeberger, L.C., O'Reilly R, C., 2004, By carrot or by stick: cognitive reinforcement learning in parkinsonism. *Science* 306, 1940-1943.
- Frank, S.T., Schmidt, W.J., 2003, Burst activity of spiny projection neurons in the striatum encodes superimposed muscle tetani in cataleptic rats. *Exp Brain Res* 152, 519-522.
- Freund, T.F. ,Gulyas, A.I. ,Acsady, L. ,Gorcs, T., Toth, K., 1990, Serotonergic control of the hippocampus via local inhibitory interneurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87, 8501-8505.
- Fricks-Gleason, A.N., Marshall, J.F., 2008, Post-retrieval beta-adrenergic receptor blockade: effects on extinction and reconsolidation of cocaine-cue memories. *Learn Mem* 15, 643-648.
- Fuchs, E. ,Gründer, G., Benkert, O., 2012, Verhaltenspharmakologie-Eine Übersicht. *Handbuch der Psychopharmakotherapie*, 105-106.
- Fuchs, R.A. ,Evans, K.A. ,Ledford, C.C. ,Parker, M.P. ,Case, J.M. ,Mehta, R.H., See, R.E., 2005, The role of the dorsomedial prefrontal cortex, basolateral amygdala, and dorsal hippocampus in contextual reinstatement of cocaine seeking in rats. *Neuropsychopharmacology* 30, 296-309.

- Fuster, J.M., 1997, The prefrontal cortex: anatomy, physiology, and neuropsychology of the frontal lobe. New York: Raven Press 3rd ed, 333.
- Fuxe, K., Borroto-Escuela, D.O., Romero-Fernandez, W., Diaz-Cabiale, Z., Rivera, A., Ferraro, L., Tanganelli, S., Tarakanov, A.O., Garriga, P., Narvaez, J.A., Ciruela, F., Guescini, M., Agnati, L.F., 2012, Extrasynaptic neurotransmission in the modulation of brain function. Focus on the striatal neuronal-glia networks. *Front Physiol* 3, 136.
- Garattini, S., 2000, Glutamic acid, twenty years later. *J Nutr* 130, 901S-909S.
- Garcia-Garcia, M., Clemente, I., Dominguez-Borras, J., Escera, C., 2010, Dopamine transporter regulates the enhancement of novelty processing by a negative emotional context. *Neuropsychologia* 48, 1483-1488.
- Garg, M., Holland, H.C., 1968, Consolidation and maze learning: the effects of post-trial injections of a depressant drug (pentobarbital sodium). *Psychopharmacologia* 12, 127-132.
- Gerlach, M., Reichmann, H., Riederer, P., 2007, Die Parkinson-Krankheit, Grundlagen, Klinik, Therapie. Springer WienNewYork 4, 1-331.
- Geyer, M.A., Puerto, A., Dawsey, W.J., Knapp, S., Bullard, W.P., Mandell, A.J., 1976, Histologic and enzymatic studies of the mesolimbic and mesostriatal serotonergic pathways. *Brain Res* 106, 241-256.
- Gibb, W.R., Lees, A.J., 1988, The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 51, 745-752.
- Giordano, T.P., Tropea, T.F., Satpute, S.S., Sinnegger-Brauns, M.J., Striessnig, J., Kosofsky, B.E., Rajadhyaksha, A.M., 2010, Molecular switch from L-type Ca^v 1.3 to Ca^v 1.2 Ca²⁺ channel signaling underlies long-term psychostimulant-induced behavioral and molecular plasticity. *J Neurosci* 30, 17051-17062.
- Giovannini, M.G., Rakovska, A., Benton, R.S., Pazzagli, M., Bianchi, L., Pepeu, G., 2001, Effects of novelty and habituation on acetylcholine, GABA, and glutamate release from the frontal cortex and hippocampus of freely moving rats. *Neuroscience* 106, 43-53.
- Godden, D.R., Baddeley, A.D., 1975, context-dependent memory in two natural environments: land and underwater. *British Journal of Psychology* 66, 325-331.
- Goedert, M., 2001, Alpha-synuclein and neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* 2, 492-501.
- Goulding, M., 2009, Circuits controlling vertebrate locomotion: moving in a new direction. *Nat Rev Neurosci* 10, 507-518.
- Graefe, K.H., Lutz, W., Bönisch, H., 2011, Duale Reihe Pharmakologie und Toxikologie. Thieme Verlag, 1-856.
- Griffin, H.J., Greenlaw, R., Limousin, P., Bhatia, K., Quinn, N.P., Jahanshahi, M., 2011, The effect of real and virtual visual cues on walking in Parkinson's disease. *J Neurol* 258, 991-1000.
- Groenewegen, H.J., Wright, C.I., Uylings, H.B., 1997, The anatomical relationships of the prefrontal cortex with limbic structures and the basal ganglia. *J Psychopharmacol* 11, 99-106.
- Gronier, B., Perry, K.W., Rasmussen, K., 2000, Activation of the mesocorticolimbic dopaminergic system by stimulation of muscarinic cholinergic receptors in the ventral tegmental area. *Psychopharmacology (Berl)* 147, 347-355.
- Gurney, K., Prescott, T.J., Redgrave, P., 2001, A computational model of action selection in the basal ganglia. I. A new functional anatomy. *Biol Cybern* 84, 401-410.
- Haber, S.N., Deniau, J.-M., Groenewegen, H.J., O'Donnell, P., McGinty, J.F., Baunez, C., 2005, The Ventral/Dorsal Divide: To Integrate or Separate Advances in Behavioral Biology Volume 56, 437-456.
- Haehner, A., Hummel, T., Hummel, C., Sommer, U., Junghanns, S., Reichmann, H., 2007, Olfactory loss may be a first sign of idiopathic Parkinson's disease. *Mov Disord* 22, 839-842.
- Hall, F.S., Devries, A.C., Fong, G.W., Huang, S., Pert, A., 1999, Effects of 5,7-dihydroxytryptamine depletion of tissue serotonin levels on extracellular serotonin in

- the striatum assessed with in vivo microdialysis: relationship to behavior. *Synapse* 33, 16-25.
- Hall, G., Honey, R.C., 1989, Contextual effects in conditioning, latent inhibition, and habituation: Associative and retrieval functions of contextual cues. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes* 15, 232-241.
- Hall, J., Thomas, K.L., Everitt, B.J., 2000, Rapid and selective induction of BDNF expression in the hippocampus during contextual learning. *Nat Neurosci* 3, 533-535.
- Hamori, J., 1990, Morphological plasticity of postsynaptic neurones in reactive synaptogenesis. *J Exp Biol* 153, 251-260.
- Hansen, N., Manahan-Vaughan, D., 2012, Dopamine D1/D5 Receptors Mediate Informational Saliency that Promotes Persistent Hippocampal Long-Term Plasticity. *Cereb Cortex*.
- Harvey, J.A., 2003, Role of the serotonin 5-HT(2A) receptor in learning. *Learn Mem* 10, 355-362.
- Hashimoto, K., Fujimura, M., Yamagami, K., 2000, Dizocilpine-induced neuropathological changes in rat retrosplenial cortex are reversed by subsequent clozapine treatment. *Life Sci* 66, 1071-1078.
- Hauber, W., 1998, Involvement of basal ganglia transmitter systems in movement initiation. *Prog Neurobiol* 56, 507-540.
- Hauber, W., Andersen, R., 1993, The non-NMDA glutamate receptor antagonist GYKI 52466 counteracts locomotor stimulation and anticataleptic activity induced by the NMDA antagonist dizocilpine. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 348, 486-490.
- Hayashi, T., 1954, Effects of sodium glutamate on the nervous system. *Keio J. Med.* 3, 192-193.
- Heffner, T.G., Hartman, J.A., Seiden, L.S., 1980, A rapid method for the regional dissection of the rat brain. *Pharmacol Biochem Behav* 13, 453-456.
- Herting, B., Bietenbeck, S., Scholz, K., Hähner, A., Hummel, T., Reichmann, H., 2008, Riechstörungen bei Morbus Parkinson. *Nervenarzt* 79, 175-184.
- Herting, B., Holthoff, V.A., Reichmann, H., 2007, Demenz und Depression bei Patienten mit idiopathischem Parkinson-Syndrom. *Journal für Neurologie Neurochirurgie und Psychiatrie.* 8, 6-12.
- Hevers, W., Lüddens, H., Schloss, P., Keck, M.E., Landgraf, R., Rupprecht, R., Lutz, B., 2008, Neurotransmitter und Modulatoren Handbuch der Psychopharmakotherapie, Springer, Berlin III, 149-199.
- Hildebrand, B.E., Nomikos, G.G., Hertel, P., Schilström, B., Svensson, T.H., 1998, Reduced dopamine output in the nucleus accumbens but not in the medial prefrontal cortex in rats displaying a mecamylamine-precipitated nicotine withdrawal syndrome. *Brain Res* 779, 214-225.
- Hildebrandt, H., Dornblüth, O., Pschyrembel, W., 1997, Pschyrembel Klinisches Wörterbuch. (257. Auflage) 1-1722.
- Hilker, H., 2007, Review of Parkinson's Disease Treatment. *Walgreens Health Service*, 1-19.
- Hinson, R.E., Poulos, C.X., 1981, Sensitization to the behavioral effects of cocaine: modification by Pavlovian conditioning. *Pharmacol Biochem Behav* 15, 559-562.
- Hobin, J.A., Goosens, K.A., Maren, S., 2003, Context-dependent neuronal activity in the lateral amygdala represents fear memories after extinction. *J Neurosci* 23, 8410-8416.
- Hoehn, M.M., Yahr, M.D., 1967, Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology* 17, 427-442.
- Holscher, C., Jacob, W., Mallot, H.A., 2004, Learned association of allocentric and egocentric information in the hippocampus. *Exp Brain Res* 158, 233-240.
- Honore, T., Davies, S.N., Drejer, J., Fletcher, E.J., Jacobsen, P., Lodge, D., Nielsen, F.E., 1988, Quinoxalinediones: potent competitive non-NMDA glutamate receptor antagonists. *Science* 241, 701-703.
- Horne, A.L., Simmonds, M.A., 1989, The pharmacology of quisqualate and AMPA in the cerebral cortex of the rat in vitro. *Neuropharmacology* 28, 1113-1118.

- Howland, J.G. ,Harrison, R.A. ,Hannesson, D.K., Phillips, A.G., 2008, Ventral hippocampal involvement in temporal order, but not recognition, memory for spatial information. *Hippocampus* 18, 251-257.
- Huang, C.C. ,Lin, H.J., Hsu, K.S., 2007, Repeated cocaine administration promotes long-term potentiation induction in rat medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex* 17, 1877-1888.
- Hughes, R.N., 2007, Rats' responsiveness to tactile changes encountered in the dark, and the role of mystacial vibrissae. *Behav Brain Res* 179, 273-280.
- Hupbach, A. ,Hardt, O. ,Gomez, R., Nadel, L., 2008, The dynamics of memory: context-dependent updating. *Learn Mem* 15, 574-579.
- Hutchinson, M., Raff, U., 2000, Structural changes of the substantia nigra in Parkinson's disease as revealed by MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 21, 697-701.
- Hyman, J.M. ,Ma, L. ,Balaguer-Ballester, E. ,Durstewitz, D., Seamans, J.K., 2012, Contextual encoding by ensembles of medial prefrontal cortex neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109, 5086-5091.
- Hyman, S.E., Malenka, R.C., 2001, Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nat Rev Neurosci* 2, 695-703.
- Hyman, S.E. ,Malenka, R.C., Nestler, E.J., 2006, Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annu Rev Neurosci* 29, 565-598.
- Ichikawa, J. ,Ishii, H. ,Bonaccorso, S. ,Fowler, W.L. ,O'Laughlin, I.A., Meltzer, H.Y., 2001, 5-HT(2A) and D(2) receptor blockade increases cortical DA release via 5-HT(1A) receptor activation: a possible mechanism of atypical antipsychotic-induced cortical dopamine release. *J Neurochem* 76, 1521-1531.
- Inglis, F.M., Fibiger, H.C., 1995, Increases in hippocampal and frontal cortical acetylcholine release associated with presentation of sensory stimuli. *Neuroscience* 66, 81-86.
- Inoue, A. ,Sugita, S. ,Shoji, H. ,Ichimoto, H. ,Hide, I., Nakata, Y., 2000, Repeated haloperidol treatment decreases sigma(1) receptor binding but does not affect its mRNA levels in the guinea pig or rat brain. *Eur J Pharmacol* 401, 307-316.
- Ito, M., 1989, long-term depression. *Ann. Rev. Neurosci.* 12, 85-102.
- Izquierdo, I. ,Bevilaqua, L.R. ,Rossato, J.I. ,Bonini, J.S. ,Da Silva, W.C. ,Medina, J.H., Cammarota, M., 2006, The connection between the hippocampal and the striatal memory systems of the brain: a review of recent findings. *Neurotox Res* 10, 113-121.
- Janak, P.H., Chaudhri, N., 2010, The Potent Effect of Environmental Context on Relapse to Alcohol-Seeking After Extinction. *Open Addict J* 3, 76-87.
- Jankovic, J., 2008, Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 79, 368-376.
- Jankowski, M.P., Sesack, S.R., 2004, Prefrontal cortical projections to the rat dorsal raphe nucleus: ultrastructural features and associations with serotonin and gamma-aminobutyric acid neurons. *J Comp Neurol* 468, 518-529.
- Jarbe, T.U., 1986, State-dependent learning and drug discriminative control of behaviour: an overview. *Acta Neurol Scand Suppl* 109, 37-59.
- Jenner, P., 2008, Molecular mechanisms of L-DOPA-induced dyskinesia. *Nat Rev Neurosci* 9, 665-677.
- Ji, R.R. ,Kohno, T. ,Moore, K.A., Woolf, C.J., 2003, Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms? *Trends Neurosci* 26, 696-705.
- Joel, D., Weiner, I., 2000, The connections of the dopaminergic system with the striatum in rats and primates: an analysis with respect to the functional and compartmental organization of the striatum. *Neuroscience* 96, 451-474.
- Johnson, G.L., Lapadat, R., 2002, Mitogen-Activated Protein Kinase Pathways Mediated by ERK, JNK, and p38 Protein Kinases. *Science* 298, 1911-1912.
- Johnson, J.W., Ascher, P., 1987, Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons. *Nature* 325, 529-531.
- Johnson, K.A. ,Conn, P.J., Niswender, C.M., 2009, Glutamate receptors as therapeutic targets for Parkinson's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 8, 475-491.

- Johnston, D., Williams, S., Jaffe, D., Gray, R., 1992, NMDA-receptor-independent long-term potentiation. *Annu Rev Physiol* 54, 489-505.
- Julien, R.M., 1997, Drogen und Psychopharmaka. Spektrum Akademischer Verlag.
- Kakade, S., Dayan, P., 2002, Dopamine: generalization and bonuses. *Neural Netw* 15, 549-559.
- Kalivas, P.W., Stewart, J., 1991, Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. *Brain Res Brain Res Rev* 16, 223-244.
- Kalivas, P.W., Weber, B., 1988, Amphetamine injection into the ventral mesencephalon sensitizes rats to peripheral amphetamine and cocaine. *J Pharmacol Exp Ther* 245, 1095-1102.
- Kandel, E.R., Schwartz, J., Jessell, T., 1995, Neurowissenschaften eine Einführung. Spektrum Akademischer Verlag 1, 1-786
- Kappeler, P., 2005, Verhaltensbiologie Springer Verlag, 1-570.
- Kapur, S., Remington, G., 1996, Serotonin-dopamine interaction and its relevance to schizophrenia. *Am J Psychiatry* 153, 466-476.
- Karceski, S., 2007, Early Parkinson disease and depression. *Neurology* 69, E2-3.
- Karler, R., Chaudhry, I.A., Calder, L.D., Turkanis, S.A., 1990, Amphetamine behavioral sensitization and the excitatory amino acids. *Brain Res* 537, 76-82.
- Kauer, J.A., Malenka, R.C., 2007, Synaptic plasticity and addiction. *Nat Rev Neurosci* 8, 844-858.
- Kawaguchi, Y., Wilson, C.J., Augood, S.J., Emson, P.C., 1995, Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends Neurosci* 18, 527-535.
- Keller, S., Delius, J.D., Acerbo, M.J., 2002, Apomorphine sensitization: evoking conditions, context dependence, effect persistence and conditioned nature. *Behav Pharmacol* 13, 189-201.
- Kemmerer, E.S., Desmond, T.J., Albin, R.L., Kilbourn, M.R., Frey, K.A., 2003, Treatment effects on nigrostriatal projection integrity in partial 6-OHDA lesions: comparison of L-DOPA and pramipexole. *Exp Neurol* 183, 81-86.
- Kenny, P.J., Markou, A., 2004, The ups and downs of addiction: role of metabotropic glutamate receptors. *Trends Pharmacol Sci* 25, 265-272.
- Kim, E.J., Kim, N., Kim, H.T., Choi, J.S., 2013, The prefrontal cortex is critical for context-dependent fear expression. *Front Behav Neurosci* 7, 73.
- Kim, J.H., Auerbach, J.M., Rodriguez-Gomez, J.A., Velasco, I., Gavin, D., Lumelsky, N., Lee, S.H., Nguyen, J., Sanchez-Pernate, R., Bankiewicz, K., McKay, R., 2002, Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. *Nature* 418, 50-56.
- Kim, J.H., Vezina, P., 1998, Metabotropic glutamate receptors are necessary for sensitization by amphetamine. *Neuroreport* 9, 403-406.
- King, J.A., Trinkler, I., Hartley, T., Vargha-Khadem, F., Burgess, N., 2004, The hippocampal role in spatial memory and the familiarity--recollection distinction: a case study. *Neuropsychology* 18, 405-417.
- King, S.O., 2nd, Williams, C.L., 2009, Novelty-induced arousal enhances memory for cued classical fear conditioning: interactions between peripheral adrenergic and brainstem glutamatergic systems. *Learn Mem* 16, 625-634.
- Kischka, U., Wolf, G., Wallesch, C.W., 1997, Methoden der Hirnforschung. Spektrumverlag, 1-368.
- Kivity, S., Ortega-Hernandez, O.D., Shoenfeld, Y., 2009, Olfaction--a window to the mind. *Isr Med Assoc J* 11, 238-243.
- Kjelstrup, K.G., Tuvnes, F.A., Steffenach, H.A., Murison, R., Moser, E.I., Moser, M.B., 2002, Reduced fear expression after lesions of the ventral hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 10825-10830.

- Klatzky, R.L., 1998, Allocentric and Egocentric Spatial Representations: Definitions, Distinctions, and Interconnections Spatial Cognition, Lecture Notes in Computer Science Volume 1404, 1-17.
- Klein, A., Schmidt, W.J., 2003, Catalepsy intensifies context-dependently irrespective of whether it is induced by intermittent or chronic dopamine deficiency. *Behav Pharmacol* 14, 49-53.
- Klemm, W.R., 1989, Drug effects on active immobility responses: what they tell us about neurotransmitter systems and motor functions. *Prog Neurobiol* 32, 403-422.
- Klockgether, T., Turski, L., Honore, T., Zhang, Z.M., Gash, D.M., Kurlan, R., Greenamyre, J.T., 1991, The AMPA receptor antagonist NBQX has antiparkinsonian effects in monoamine-depleted rats and MPTP-treated monkeys. *Ann Neurol* 30, 717-723.
- Ko, W.K., Pioli, E., Li, Q., McGuire, S., Dufour, A., Sherer, T.B., Bezard, E., Facheris, M.F., 2014, Combined fenobam and amantadine treatment promotes robust antidyskinetic effects in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-lesioned primate model of Parkinson's disease. *Mov Disord*.
- Kohn Cordeiro, K., Gracioli Cordeiro, J., Lopes Furlanetti, L., Garcia Salazar, J.A., Tenorio, S.B., Winkler, C., Dobrossy, M.D., Nikkhah, G., 2014, Subthalamic nucleus lesion improves cell survival and functional recovery following dopaminergic cell transplantation in parkinsonian rats. *Eur J Neurosci*.
- Korte, S.M., 2001, Corticosteroids in relation to fear, anxiety and psychopathology. *Neurosci Biobehav Rev* 25, 117-142.
- Kostowski, W., Bidzinski, A., Krzascik, P., Szyndler, J., Rok, P., Kolomanska, P., Wislowska, A., Lehner, M., Plaznik, A., 2004, Age-dependent effects of 5,7-dihydroxytryptamine on serotonin transporter in different brain areas in the rat. *Pol J Pharmacol* 56, 383-389.
- Kreitzer, A.C., Malenka, R.C., 2008, Striatal plasticity and basal ganglia circuit function. *Neuron* 60, 543-554.
- Kretschmer, B.D., 1994, Felbamate, an anti-convulsive drug, has anti-parkinsonian potential in rats. *Neurosci Lett* 179, 115-118.
- Kriegebaum, C., Gutknecht, L., Schmitt, A., Lesch, K.P., Reif, A., 2010, Neurobiologische und entwicklungsgenetische Grundlagen. *Fortschritte der Neurologie, Psychiatrie* 78, 319-331.
- Krogsgaard-Larsen, P., Honore, T., Hansen, J.J., Curtis, D.R., Lodge, D., 1980, New class of glutamate agonist structurally related to ibotenic acid. *Nature* 284, 64-66.
- Kühnel, S., Markowitsch, J., 2009, Falsche Erinnerungen, Die Sünden des Gedächtnisses. Spektrum Akademischer Verlag, 1-260.
- Kumar, K.P., Kumar, S.P., Nair, G.A., 2009, Risk assessment of the amnesic shellfish poison, domoic acid, on animals and humans. *J Environ Biol* 30, 319-325.
- Kuramoto, T., Nakanishi, S., Ochiai, M., Nakagama, H., Voigt, B., Serikawa, T., 2012, Origins of albino and hooded rats: implications from molecular genetic analysis across modern laboratory rat strains. *PLoS One* 7, e43059.
- Kuroiwa, M., Hamada, M., Hieda, E., Shuto, T., Sotogaku, N., Flajolet, M., Snyder, G.L., Hendrick, J.P., Fienberg, A., Nishi, A., 2012, Muscarinic receptors acting at pre- and post-synaptic sites differentially regulate dopamine/DARPP-32 signaling in striatonigral and striatopallidal neurons. *Neuropharmacology* 63, 1248-1257.
- Kusljic, S., Brosda, J., van den Buuse, M., 2006, Effects of haloperidol and clozapine on sensorimotor gating deficits induced by 5-hydroxytryptamine depletion in the brain. *Br J Pharmacol* 147, 800-807.
- Kyd, R.J., Bilkey, D.K., 2003, Prefrontal cortex lesions modify the spatial properties of hippocampal place cells. *Cereb Cortex* 13, 444-451.
- Lachenmayer, L., Müller, T., Schwartz, G., 2011, Parkinson - Teil 2: Leben mit fortschreitendem Parkinson. *Ratgeber für Patienten und Angehörige*, 1-181.
- LaLumiere, R.T., Niehoff, K.E., Kalivas, P.W., 2010, The infralimbic cortex regulates the consolidation of extinction after cocaine self-administration. *Learn Mem* 17, 168-175.

- Lane, E.L., Daly, C.S., Smith, G.A., Dunnett, S.B., 2011, Context-driven changes in L-DOPA-induced behaviours in the 6-OHDA lesioned rat. *Neurobiol Dis*.
- Lanis, A., Schmidt, W.J., 2001, NMDA receptor antagonists do not block the development of sensitization of catalepsy, but make its expression state-dependent. *Behav Pharmacol* 12, 143-149.
- Laurent, V., Marchand, A.R., Westbrook, R.F., 2008, The basolateral amygdala is necessary for learning but not relearning extinction of context conditioned fear. *Learn Mem* 15, 304-314.
- Laviola, G., Hannan, A.J., Macri, S., Solinas, M., Jaber, M., 2008, Effects of enriched environment on animal models of neurodegenerative diseases and psychiatric disorders. *Neurobiol Dis* 31, 159-168.
- Laviolette, S.R., van der Kooy, D., 2004, The neurobiology of nicotine addiction: bridging the gap from molecules to behaviour. *Nat Rev Neurosci* 5, 55-65.
- Lazarus, 1966, *Psychological Stress and the Coping Process*. New York: McGraw-Hill, 466
- LeDoux, J., 2003, The emotional brain, fear, and the amygdala. *Cell Mol Neurobiol* 23, 727-738.
- Ledoux, J.E., Romanski, L., Xagoraris, A., 1989, Indelibility of subcortical emotional memories. *J Cogn Neurosci* 1, 238-243.
- Lee, I., Kesner, R.P., 2003, Time-dependent relationship between the dorsal hippocampus and the prefrontal cortex in spatial memory. *J Neurosci* 23, 1517-1523.
- Lee, I., Shin, J.Y., 2012, Medial prefrontal cortex is selectively involved in response selection using visual context in the background. *Learn Mem* 19, 247-250.
- Lee, S.J., Yoo, J.Y., Ryu, J.S., Park, H.K., Chung, S.J., 2012, The effects of visual and auditory cues on freezing of gait in patients with Parkinson disease. *Am J Phys Med Rehabil* 91, 2-11.
- Lees, A.J., Smith, E., 1983, Cognitive deficits in the early stages of Parkinson's disease. *Brain* 106 (Pt 2), 257-270.
- Legault, M., Wise, R.A., 2001, Novelty-evoked elevations of nucleus accumbens dopamine: dependence on impulse flow from the ventral subiculum and glutamatergic neurotransmission in the ventral tegmental area. *Eur J Neurosci* 13, 819-828.
- Leh, S.E., Petrides, M., Strafella, A.P., 2010, The neural circuitry of executive functions in healthy subjects and Parkinson's disease. *Neuropsychopharmacology* 35, 70-85.
- Lehmann, O., Bertrand, F., Jeltsch, H., Morer, M., Lazarus, C., Will, B., Cassel, J.C., 2002, 5,7-DHT-induced hippocampal 5-HT depletion attenuates behavioural deficits produced by 192 IgG-saporin lesions of septal cholinergic neurons in the rat. *Eur J Neurosci* 15, 1991-2006.
- Lerma, J., Marques, J.M., 2013, Kainate receptors in health and disease. *Neuron* 80, 292-311.
- Lewis, M.C., Gould, T.J., 2004, Latent inhibition of cued fear conditioning: an NMDA receptor-dependent process that can be established in the presence of anisomycin. *Eur J Neurosci* 20, 818-826.
- Li, C.L., Zhu, N., Meng, X.L., Li, Y.H., Sui, N., 2013, Effects of inactivating the agranular or granular insular cortex on the acquisition of the morphine-induced conditioned place preference and naloxone-precipitated conditioned place aversion in rats. *J Psychopharmacol* 27, 837-844.
- Li, Y., Vartanian, A.J., White, F.J., Xue, C.J., Wolf, M.E., 1997, Effects of the AMPA receptor antagonist NBQX on the development and expression of behavioral sensitization to cocaine and amphetamine. *Psychopharmacology (Berl)* 134, 266-276.
- Liao, R.M., Lin, H.L., 2008, Differential effects of lesions in the subareas of medial prefrontal cortex on the development of behavioral sensitization to amphetamine: the role of environmental context. *Chin J Physiol* 51, 394-401.
- Lindvall, O., Kokaia, Z., Martinez-Serrano, A., 2004, Stem cell therapy for human neurodegenerative disorders-how to make it work. *Nat Med* 10 Suppl, S42-50.
- Lisman, J.E., Grace, A.A., 2005, The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron* 46, 703-713.

- Lissek, S., Gunturkun, O., 2005, Out of context: NMDA receptor antagonism in the avian 'prefrontal cortex' impairs context processing in a conditional discrimination task. *Behav Neurosci* 119, 797-805.
- Ljungberg, T., Apicella, P., Schultz, W., 1992, Responses of monkey dopamine neurons during learning of behavioral reactions. *J Neurophysiol* 67, 145-163.
- Lorenc-Koci, E., Wolfarth, S., Ossowska, K., 1996, Haloperidol-increased muscle tone in rats as a model of parkinsonian rigidity. *Exp Brain Res* 109, 268-276.
- Loschmann, P.A., Lange, K.W., Kunow, M., Rettig, K.J., Jahnig, P., Honore, T., Turski, L., Wachtel, H., Jenner, P., Marsden, C.D., 1991, Synergism of the AMPA-antagonist NBQX and the NMDA-antagonist CPP with L-dopa in models of Parkinson's disease. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect 3*, 203-213.
- Loskutova, L.V., 1999, [Effect of the serotonergic substrate of the nucleus accumbens on the latent inhibition]. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova* 49, 808-816.
- Lourenco, J., Matias, I., Marsicano, G., Mulle, C., 2011, Pharmacological activation of kainate receptors drives endocannabinoid mobilization. *J Neurosci* 31, 3243-3248.
- Lozano, A.M., Kalia, S.K., 2006, Parkinson: Was Neuronen schwinden lässt. *Spektrum der Wissenschaft* 8, 46-53.
- Lubow, R.E., 1973, Latent inhibition. *Psychol Bull* 79, 398-407.
- Lubow, R.E., 2005, Construct validity of the animal latent inhibition model of selective attention deficits in schizophrenia. *Schizophr Bull* 31, 139-153.
- Lubow, R.E., Moore, A.U., 1959, Latent inhibition: the effect of nonreinforced pre-exposure to the conditional stimulus. *J Comp Physiol Psychol* 52, 415-419.
- Lucas, D.R., Newhouse, J.P., 1957, The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina. *AMA Arch Ophthalmol* 58, 193-201.
- Ludvig, E.A., Sutton, R.S., Kehoe, E.J., 2008, Stimulus representation and the timing of reward-prediction errors in models of the dopamine system. *Neural Comput* 20, 3034-3054.
- Ludwig, V., Schwarting, R.K., 2007, Neurochemical and behavioral consequences of striatal injection of 5,7-dihydroxytryptamine. *J Neurosci Methods* 162, 108-118.
- Lumpp, A.C., 2006, Reversal Learning bei Zwangspatienten – Suche nach Belegen für eine fronto-striatale Dysfunktion. Dissertation zur Erlangung des Medizinischen Doktorgrades der Medizinischen Fakultät der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br., 1-72.
- Lynch, M.A., 2004, Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 84, 87-136.
- Mai, J.K., Assheuer, J., Paxinos, G., 1998, Atlas of the human brain
- Maison, S.F., Liu, X.P., Eatock, R.A., Sibley, D.R., Grandy, D.K., Liberman, M.C., 2012, Dopaminergic signaling in the cochlea: receptor expression patterns and deletion phenotypes. *J Neurosci* 32, 344-355.
- Mameli, M., Balland, B., Lujan, R., Luscher, C., 2007, Rapid synthesis and synaptic insertion of GluR2 for mGluR-LTD in the ventral tegmental area. *Science* 317, 530-533.
- Mantz, J., Godbout, R., Tassin, J.P., Glowinski, J., Thierry, A.M., 1990, Inhibition of spontaneous and evoked unit activity in the rat medial prefrontal cortex by mesencephalic raphe nuclei. *Brain Res* 524, 22-30.
- Maren, S., Aharonov, G., Fanselow, M.S., 1997, Neurotoxic lesions of the dorsal hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats. *Behav Brain Res* 88, 261-274.
- Maren, S., Hobin, J.A., 2007, Hippocampal regulation of context-dependent neuronal activity in the lateral amygdala. *Learn Mem* 14, 318-324.
- Maren, S., Phan, K.L., Liberzon, I., 2013, The contextual brain: implications for fear conditioning, extinction and psychopathology. *Nat Rev Neurosci* 14, 417-428.
- Maril, S., Hassin-Baer, S., Cohen, O.S., Tomer, R., 2013, Effects of asymmetric dopamine depletion on sensitivity to rewarding and aversive stimuli in Parkinson's disease. *Neuropsychologia* 51, 818-824.
- Mark, L.P., Prost, R.W., Ulmer, J.L., Smith, M.M., Daniels, D.L., Strottmann, J.M., Brown, W.D., Hacin-Bey, L., 2001, Pictorial review of glutamate excitotoxicity: fundamental concepts for neuroimaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 22, 1813-1824.

- Maroun, M., Akirav, I., 2008, Arousal and stress effects on consolidation and reconsolidation of recognition memory. *Neuropsychopharmacology* 33, 394-405.
- Marsden, C.D., 1990, Parkinson's disease. *Lancet* 335, 948-952.
- Massey, P.V., Bashir, Z.I., 2007, Long-term depression: multiple forms and implications for brain function. *Trends Neurosci* 30, 176-184.
- Matar, E., Shine, J.M., Naismith, S.L., Lewis, S.J., 2013, Using virtual reality to explore the role of conflict resolution and environmental salience in Freezing of Gait in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*.
- Matthews, D.A., Cotman, C., Lynch, G., 1976, An electron microscopic study of lesion-induced synaptogenesis in the dentate gyrus of the adult rat. I. Magnitude and time course of degeneration. *Brain Res* 115, 1-21.
- Matus-Amat, P., Higgins, E.A., Barrientos, R.M., Rudy, J.W., 2004, The role of the dorsal hippocampus in the acquisition and retrieval of context memory representations. *J Neurosci* 24, 2431-2439.
- Mazur, J.E., 2002, *Learning and Behavior* (Chapter 4, Basic Principles of Classical Conditioning). Prentice Hall, Pearson Education, USA fifth edition.
- McDonald, R.J., Foong, N., Ray, C., Rizos, Z., Hong, N.S., 2007, The role of medial prefrontal cortex in context-specific inhibition during reversal learning of a visual discrimination. *Exp Brain Res* 177, 509-519.
- McDonald, R.J., Hong, N.S., Craig, L.A., Holahan, M.R., Louis, M., Muller, R.U., 2005, NMDA-receptor blockade by CPP impairs post-training consolidation of a rapidly acquired spatial representation in rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 22, 1201-1213.
- McDonald, W.M., Richard, I.H., DeLong, M.R., 2003, Prevalence, etiology, and treatment of depression in Parkinson's disease. *Biol Psychiatry* 54, 363-375.
- McDougall, S.A., Kozanian, O.O., Greenfield, V.Y., Horn, L.R., Gutierrez, A., Mohd-Yusof, A., Castellanos, K.A., 2011, One-trial behavioral sensitization in preweanling rats: differential effects of cocaine, methamphetamine, methylphenidate, and D-amphetamine. *Psychopharmacology (Berl)* 217, 559-571.
- McHugh, S.B., Deacon, R.M., Rawlins, J.N., Bannerman, D.M., 2004, Amygdala and ventral hippocampus contribute differentially to mechanisms of fear and anxiety. *Behav Neurosci* 118, 63-78.
- Meara, R.J., 1994, Review: the pathophysiology of the motor signs in Parkinson's disease. *Age Ageing* 23, 342-346.
- Mehnert, S., Reuter, I., Schepp, K., Maaser, P., Stolz, E., Kaps, M., 2010, Transcranial sonography for diagnosis of Parkinson's disease. *BMC Neurol* 10, 9.
- Meil, W.M., See, R.E., 1996, Conditioned cued recovery of responding following prolonged withdrawal from self-administered cocaine in rats: an animal model of relapse. *Behav Pharmacol* 7, 754-763.
- Meissner, W., Harnack, D., Hoessle, N., Bezdard, E., Winter, C., Morgenstern, R., Kupsch, A., 2004, High frequency stimulation of the entopeduncular nucleus has no effect on striatal dopaminergic transmission. *Neurochem Int* 44, 281-286.
- Meneses, A., 1999, Are 5-HT(1B/1D) and 5-HT(2A/2B/2C) receptors involved in learning and memory processes? *IDrugs* 2, 796-801.
- Merims, D., Freedman, M., 2008, Cognitive and behavioural impairment in Parkinson's disease. *Int Rev Psychiatry* 20, 364-373.
- Mestres-Misse, A., Turner, R., Friederici, A.D., 2012, An anterior-posterior gradient of cognitive control within the dorsomedial striatum. *Neuroimage* 62, 41-47.
- Miki, K., Yoshimoto, M., 2010, Role of differential changes in sympathetic nerve activity in the preparatory adjustments of cardiovascular functions during freezing behaviour in rats. *Exp Physiol* 95, 56-60.
- Miles, C., Hardman, E., 1998, State-dependent memory produced by aerobic exercise. *Ergonomics* 41, 20-28.
- Mileusnic, D., Lee, J.M., Magnuson, D.J., Hejna, M.J., Krause, J.E., Lorens, J.B., Lorens, S.A., 1999, Neurokinin-3 receptor distribution in rat and human brain: an immunohistochemical study. *Neuroscience* 89, 1269-1290.

- Minichiello, L., 2009, TrkB signalling pathways in LTP and learning. *Nat Rev Neurosci* 10, 850-860.
- Mink, J.W., 1996, The basal ganglia: focused selection and inhibition of competing motor programs. *Prog Neurobiol* 50, 381-425.
- Mink, J.W., 2003, The Basal Ganglia and involuntary movements: impaired inhibition of competing motor patterns. *Arch Neurol* 60, 1365-1368.
- Mink, J.W., Thach, W.T., 1993, Basal ganglia intrinsic circuits and their role in behavior. *Curr Opin Neurobiol* 3, 950-957.
- Mirenowicz, J., Schultz, W., 1994, Importance of unpredictability for reward responses in primate dopamine neurons. *J Neurophysiol* 72, 1024-1027.
- Misane, I., Kruis, A., Pieneman, A.W., Ogren, S.O., Stiedl, O., 2013, GABA(A) receptor activation in the CA1 area of the dorsal hippocampus impairs consolidation of conditioned contextual fear in C57BL/6J mice. *Behav Brain Res* 238, 160-169.
- Miwa, H., 2007, Rodent models of tremor. *Cerebellum* 6, 66-72.
- Miyachi, S., Hikosaka, O., Miyashita, K., Karadi, Z., Rand, M.K., 1997, Differential roles of monkey striatum in learning of sequential hand movement. *Exp Brain Res* 115, 1-5.
- Mokler, D.J., Lariviere, D., Johnson, D.W., Theriault, N.L., Bronzino, J.D., Dixon, M., Morgane, P.J., 1998, Serotonin neuronal release from dorsal hippocampus following electrical stimulation of the dorsal and median raphe nuclei in conscious rats. *Hippocampus* 8, 262-273.
- Montastruc, J.L., Llau, M.E., Rascol, O., Senard, J.M., 1994, Drug-induced parkinsonism: a review. *Fundam Clin Pharmacol* 8, 293-306.
- Moore, R.Y., Bloom, F.E., 1978, Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the dopamine systems. *Annu Rev Neurosci* 1, 129-169.
- Morales, I., Sabate, M., Rodriguez, M., 2013, Striatal glutamate induces retrograde excitotoxicity and neuronal degeneration of intralaminar thalamic nuclei: their potential relevance for Parkinson's disease. *Eur J Neurosci* 38, 2172-2182.
- Morgan, C.L., 1996, Odors as cues for the recall of words unrelated to odor. *Percept Mot Skills* 83, 1227-1234.
- Morgane, P.J., Galler, J.R., Mokler, D.J., 2005, A review of systems and networks of the limbic forebrain/limbic midbrain. *Prog Neurobiol* 75, 143-160.
- Mori, S., Ueda, S., Yamada, H., Takino, T., Sano, Y., 1985, Immunohistochemical demonstration of serotonin nerve fibers in the corpus striatum of the rat, cat and monkey. *Anat Embryol (Berl)* 173, 1-5.
- Moron, I., Manrique, T., Molero, A., Ballesteros, M.A., Gallo, M., Fenton, A., 2002, The contextual modulation of conditioned taste aversions by the physical environment and time of day is similar. *Learn Mem* 9, 218-223.
- Morris, R.G., 1999, D.O. Hebb: The Organization of Behavior, Wiley: New York; 1949. *Brain Res Bull* 50, 437.
- Moscavitch, S.D., Szyper-Kravitz, M., Shoenfeld, Y., 2009, Autoimmune pathology accounts for common manifestations in a wide range of neuro-psychiatric disorders: the olfactory and immune system interrelationship. *Clin Immunol* 130, 235-243.
- Moser, M.B., Moser, E.I., 1998, Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus* 8, 608-619.
- Moustafa, A.A., Cohen, M.X., Sherman, S.J., Frank, M.J., 2008, A role for dopamine in temporal decision making and reward maximization in parkinsonism. *J Neurosci* 28, 12294-12304.
- Muller, J.M., Moore, H., Myers, M.M., Shair, H.N., 2009, Dopamine's role in social modulation of infant isolation-induced vocalization: II. Maternally modulated infant separation responses are regulated by D1- and D2-family dopamine receptors. *Dev Psychobiol* 51, 158-172.
- Muller, P., Seeman, P., 1979, Presynaptic subsensitivity as a possible basis for sensitization by long-term dopamine mimetics. *Eur J Pharmacol* 55, 149-157.

- Mumby, D.G., Gaskin, S., Glenn, M.J., Schramek, T.E., Lehmann, H., 2002, Hippocampal damage and exploratory preferences in rats: memory for objects, places, and contexts. *Learn Mem* 9, 49-57.
- Nadel, L., Willner, J., 1980, Context and conditioning: A place for space. *Physiological Psychology* 8, 218-228.
- Nadel, L., Winocur, G., Ryan, L., Moscovitch, M., 2007, Systems consolidation and hippocampus: two views. *Debates in Neuroscience* 1, 55-66.
- Nakano, K., 2000, Neural circuits and topographic organization of the basal ganglia and related regions. *Brain Dev* 22 Suppl 1, S5-16.
- Nakazawa, K., McHugh, T.J., Wilson, M.A., Tonegawa, S., 2004, NMDA receptors, place cells and hippocampal spatial memory. *Nat Rev Neurosci* 5, 361-372.
- Nayak, L., Henchcliffe, C., 2008, Rasagiline in treatment of Parkinson's disease. *Neuropsychiatr Dis Treat* 4, 23-32.
- Nelson, A.J., Thur, K.E., Marsden, C.A., Cassaday, H.J., 2012, Opposing effects of 5,7-DHT lesions to the core and shell of the nucleus accumbens on the processing of irrelevant stimuli. *Int J Neuropsychopharmacol* 15, 485-496.
- Nestler, E.J., Hyman, S.E., Malenka, R.C., 2008, *Molecular Neuropharmacology: A Foundation for Clinical Neuroscience*. 1-498.
- Nestler, E.J., Hyman, S.E., R.C., M., 2001, *Molecular Neuropharmacology. A Foundation for Clinical Neuroscience* McGraw-Hill Professional, 1-539.
- Norman, C., Cassaday, H.J., 2004, Disruption of latent inhibition to a contextual stimulus with systemic amphetamine. *Neurobiol Learn Mem* 82, 61-64.
- Nusser, Z., Mulvihill, E., Streit, P., Somogyi, P., 1994, Subsynaptic segregation of metabotropic and ionotropic glutamate receptors as revealed by immunogold localization. *Neuroscience* 61, 421-427.
- O'Hearn, E., Molliver, M.E., 2004, Administration of a non-NMDA antagonist, GYKI 52466, increases excitotoxic Purkinje cell degeneration caused by ibogaine. *Neuroscience* 127, 373-383.
- O'Keefe, J., Dostrovsky, J., 1971, The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res* 34, 171-175.
- Ohmori, T., Abekawa, T., Koyama, T., 1995, Environment modifies the expression of behavioral sensitization produced by methamphetamine: behavioral and neurochemical studies. *Behav Pharmacol* 6, 133-142.
- Ohmura, Y., Izumi, T., Yamaguchi, T., Tsutsui-Kimura, I., Yoshida, T., Yoshioka, M., 2010, The serotonergic projection from the median raphe nucleus to the ventral hippocampus is involved in the retrieval of fear memory through the corticotropin-releasing factor type 2 receptor. *Neuropsychopharmacology* 35, 1271-1278.
- Okamura, N., Garau, C., Duangdao, D.M., Clark, S.D., Jungling, K., Pape, H.C., Reinscheid, R.K., 2011, Neuropeptide S enhances memory during the consolidation phase and interacts with noradrenergic systems in the brain. *Neuropsychopharmacology* 36, 744-752.
- Okun, M.S., Foote, K.D., 2010, Parkinson's disease DBS: what, when, who and why? The time has come to tailor DBS targets. *Expert Rev Neurother* 10, 1847-1857.
- Oler, J.A., Penley, S.C., Sava, S., Markus, E.J., 2008, Does the dorsal hippocampus process navigational routes or behavioral context? A single-unit analysis. *Eur J Neurosci* 28, 802-812.
- Oleson, E.B., Gentry, R.N., Chioma, V.C., Cheer, J.F., 2012, Subsecond dopamine release in the nucleus accumbens predicts conditioned punishment and its successful avoidance. *J Neurosci* 32, 14804-14808.
- Olijslagers, J.E., Werkman, T.R., McCreary, A.C., Kruse, C.G., Wadman, W.J., 2006, Modulation of midbrain dopamine neurotransmission by serotonin, a versatile interaction between neurotransmitters and significance for antipsychotic drug action. *Curr Neuropharmacol* 4, 59-68.
- Olney, J.W., Ho, O.L., 1970, Brain damage in infant mice following oral intake of glutamate, aspartate or cysteine. *Nature* 227, 609-611.

- Ongur, D., Price, J.L., 2000, The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cereb Cortex* 10, 206-219.
- Oosthuizen, M.K., Scheibler, A.G., Bennett, N.C., Amrein, I., 2013, Effects of laboratory housing on exploratory behaviour, novelty discrimination and spatial reference memory in a subterranean, solitary rodent, the Cape mole-rat (*Georchus capensis*). *PLoS One* 8, e75863.
- Ossowska, K., Karcz, M., Wardas, J., Wolfarth, S., 1990, Striatal and nucleus accumbens D1/D2 dopamine receptors in neuroleptic catalepsy. *Eur J Pharmacol* 182, 327-334.
- Ouardouz, M., Durand, J., 1991, GYKI 52466 antagonizes glutamate responses but not NMDA and kainate responses in rat abducens motoneurons. *Neurosci Lett* 125, 5-8.
- Overton, D.A., 1964, State-Dependent or "Dissociated" Learning Produced with Pentobarbital. *J Comp Physiol Psychol* 57, 3-12.
- Overton, D.A., 1966, State-dependent learning produced by depressant and atropine-like drugs. *Psychopharmacologia* 10, 6-31.
- Pabba, M., 2013, Evolutionary development of the amygdaloid complex. *Front Neuroanat* 7, 27.
- Pan, W.X., Mao, T., Dudman, J.T., 2010, Inputs to the dorsal striatum of the mouse reflect the parallel circuit architecture of the forebrain. *Front Neuroanat* 4, 147.
- Panzer, A., Viljoen, M., Roos, J.L., 2007, The neurobiological basis of fear : a concise review. *South African Psychiatry Review* 10, 71-75.
- Pare, D., 2003, Role of the basolateral amygdala in memory consolidation. *Prog Neurobiol* 70, 409-420.
- Parent, A., Hazrati, L.N., 1995, Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res Brain Res Rev* 20, 91-127.
- Park, A., Stacy, M., 2009, Non-motor symptoms in Parkinson's disease. *J Neurol* 256 Suppl 3, 293-298.
- Parkinson, J., 2002, An essay on the shaking palsy. 1817. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 14, 223-236; discussion 222.
- Patel, N., Jankovic, J., Hallett, M., 2014, Sensory aspects of movement disorders. *Lancet Neurol* 13, 100-112.
- Patrick, C.J., 2007, subcortical brain systems page 297. *Handbook of Psychopathy*, 1-651.
- Paxinos, G., 1994, *The Rat Nervous System*. Academic Press Second Edition, 1-1136.
- Paxinos, G., Watson, C., 1997, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, Inc. 525 B Street, Suite 1900, San Diego, California 92101-4495, USA Compact third edition.
- Paxinos, G., Watson, C., 1998, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, New York.
- Pearce, J.M., Hall, G., 1980, A model for Pavlovian learning: variations in the effectiveness of conditioned but not of unconditioned stimuli. *Psychol Rev* 87, 532-552.
- Pellow, S., Chopin, P., File, S.E., Briley, M., 1985, Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods* 14, 149-167.
- Penner, M.R., Mizumori, S.J., 2012, Age-associated changes in the hippocampal-ventral striatum-ventral tegmental loop that impact learning, prediction, and context discrimination. *Front Aging Neurosci* 4, 22.
- Petrovich, G.D., Canteras, N.S., Swanson, L.W., 2001, Combinatorial amygdalar inputs to hippocampal domains and hypothalamic behavior systems. *Brain Res Brain Res Rev* 38, 247-289.
- Pinel, J.P., Boucsein, W., 2001, *Biopsychologie*. Spektrum Akademischer Verlag Auflage: 2, 1-610.
- Pinheiro, P., Mulle, C., 2006, Kainate receptors. *Cell Tissue Res* 326, 457-482.
- Pitt, D., Werner, P., Raine, C.S., 2000, Glutamate excitotoxicity in a model of multiple sclerosis. *Nat Med* 6, 67-70.
- Post, R.M., Lockfeld, A., Squillace, K.M., Contel, N.R., 1981, Drug-environment interaction: context dependency of cocaine-induced behavioral sensitization. *Life Sci* 28, 755-760.

- Pralong, E., Magistretti, P., Stoop, R., 2002, Cellular perspectives on the glutamate-monoamine interactions in limbic lobe structures and their relevance for some psychiatric disorders. *Prog Neurobiol* 67, 173-202.
- Prediger, R.D., 2010, Effects of caffeine in Parkinson's disease: from neuroprotection to the management of motor and non-motor symptoms. *J Alzheimers Dis* 20 Suppl 1, S205-220.
- Pritzel, M., Brand, M., Markowitsch, H.J., 2003, *Gehirn und Verhalten. Ein Grundkurs der physiologischen Psychologie Spektrum Akademischer Verlag* 1, 1-590
- Prus, A.J., James, J.R., Rosecrans, J.A., 2009, Conditioned Place Preference.
- Quirk, G.J., 2002, Memory for extinction of conditioned fear is long-lasting and persists following spontaneous recovery. *Learn Mem* 9, 402-407.
- Rabey, J.M., Nissipeanu, P., Korczyn, A.D., 1992, Efficacy of memantine, an NMDA receptor antagonist, in the treatment of Parkinson's disease. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect 4*, 277-282.
- Radulovic, J., Kammermeier, J., Spiess, J., 1998, Relationship between fos production and classical fear conditioning: effects of novelty, latent inhibition, and unconditioned stimulus preexposure. *J Neurosci* 18, 7452-7461.
- Raineki, C., Holman, P.J., Debiec, J., Bugg, M., Beasley, A., Sullivan, R.M., 2010, Functional emergence of the hippocampus in context fear learning in infant rats. *Hippocampus* 20, 1037-1046.
- Rajagopal, S., 2007, Catatonia. *Advances in Psychiatric Treatment* 13, 51–59.
- Rangel-Gomez, M., Hickey, C., van Amelsvoort, T., Bet, P., Meeter, M., 2013, The detection of novelty relies on dopaminergic signaling: evidence from apomorphine's impact on the novelty N2. *PLoS One* 8, e66469.
- Rao, V.R., Finkbeiner, S., 2007, NMDA and AMPA receptors: old channels, new tricks. *Trends Neurosci* 30, 284-291.
- Rau, V., DeCola, J.P., Fanselow, M.S., 2005, Stress-induced enhancement of fear learning: an animal model of posttraumatic stress disorder. *Neurosci Biobehav Rev* 29, 1207-1223.
- Ravina, B., Camicioli, R., Como, P.G., Marsh, L., Jankovic, J., Weintraub, D., Elm, J., 2007, The impact of depressive symptoms in early Parkinson disease. *Neurology* 69, 342-347.
- Reeda, H.J., 1931, The influence of a change of conditions upon the amount recalled. *Journal of Experimental Psychology* 14, 632-649
- Reep, R.L., Winans, S.S., 1982, Efferent connections of dorsal and ventral agranular insular cortex in the hamster, *Mesocricetus auratus*. *Neuroscience* 7, 2609-2635.
- Reichel, G., Kirchhöfer, U., Stenner, A., 2001, *Kamptokormia – eine segmentale Dystonie. Nervenarzt, Springer-Verlag* 2001 72, 281–285
- Reinscheid, R.K., Xu, Y.L., Civelli, O., 2005, Neuropeptide S: a new player in the modulation of arousal and anxiety. *Mol Interv* 5, 42-46.
- Riedel, G., Platt, B., Micheau, J., 2003, Glutamate receptor function in learning and memory. *Behav Brain Res* 140, 1-47.
- Ringel, L.E., Basken, J.N., Grant, L.M., Ciucci, M.R., 2013, Dopamine D1 and D2 receptor antagonism effects on rat ultrasonic vocalizations. *Behav Brain Res* 252, 252-259.
- Robbins, T.W., 1997, Arousal systems and attentional processes. *Biol Psychol* 45, 57-71.
- Robinson, D.L., Venton, B.J., Heien, M.L., Wightman, R.M., 2003, Detecting subsecond dopamine release with fast-scan cyclic voltammetry in vivo. *Clin Chem* 49, 1763-1773.
- Robinson, T.E., Kolb, B., 1997, Persistent structural modifications in nucleus accumbens and prefrontal cortex neurons produced by previous experience with amphetamine. *J Neurosci* 17, 8491-8497.
- Rodriguez, B.I., Craske, M.G., Mineka, S., Hladek, D., 1999, Context-specificity of relapse: effects of therapist and environmental context on return of fear. *Behav Res Ther* 37, 845-862.

- Rooszendaal, B., 2003, Systems mediating acute glucocorticoid effects on memory consolidation and retrieval. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 27, 1213-1223.
- Roschelle, J.M., Pea, R.D., Hoadley, C.M., Gordin, D.N., Means, B.M., 2000, Changing how and what children learn in school with computer-based technologies. *Future Child* 10, 76-101.
- Rose, J.E., Woolsey, C.N., 1948, The orbitofrontal cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep and cat. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 27 (1 vol.), 210-232.
- Rose, J.K., Rankin, C.H., 2006, Blocking memory reconsolidation reverses memory-associated changes in glutamate receptor expression. *J Neurosci* 26, 11582-11587.
- Rossato, J.I., Zinn, C.G., Furini, C., Bevilaqua, L.R., Medina, J.H., Cammarota, M., Izquierdo, I., 2006, A link between the hippocampal and the striatal memory systems of the brain. *An Acad Bras Cienc* 78, 515-523.
- Roth, G., 1999, Entstehen und Funktion von Bewußtsein *Deutsches Ärzteblatt* Heft 30.
- Roth, G., Dicke, U., 2006, Funktionelle Neuroanatomie des limbischen Systems. *Neurobiologie psychischer Störungen* 1, 1-74.
- Roth, R.H., Wolf, M.E., Deutch, A.Y., 1987, Neurochemistry of midbrain dopamine systems. In: *Psychopharmacology, the third generation of progress* (ed Meltzer HY). Raven Press, New York 81-94.
- Russell, N.A., Horii, A., Smith, P.F., Darlington, C.L., Bilkey, D.K., 2006, Lesions of the vestibular system disrupt hippocampal theta rhythm in the rat. *J Neurophysiol* 96, 4-14.
- Sadler, R., Herzig, V., Schmidt, W.J., 2007, Repeated treatment with the NMDA antagonist MK-801 disrupts reconsolidation of memory for amphetamine-conditioned place preference. *Behav Pharmacol* 18, 699-703.
- Sah, P., Faber, E.S., Lopez De Armentia, M., Power, J., 2003, The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiol Rev* 83, 803-834.
- Sanberg, P.R., 1980, Haloperidol-induced catalepsy is mediated by postsynaptic dopamine receptors. *Nature* 284, 472-473.
- Sanberg, P.R., Bunsey, M.D., Giordano, M., Norman, A.B., 1988, The catalepsy test: its ups and downs. *Behav Neurosci* 102, 748-759.
- Sanders, M.J., Fanselow, M.S., 2003, Pre-training prevents context fear conditioning deficits produced by hippocampal NMDA receptor blockade. *Neurobiol Learn Mem* 80, 123-129.
- Sandi, C., 2004, Stress, cognitive impairment and cell adhesion molecules. *Nat Rev Neurosci* 5, 917-930.
- Sanes, J.N., Donoghue, J.P., 2000, Plasticity and primary motor cortex. *Annu Rev Neurosci* 23, 393-415.
- Sansa, J., Krug, I., Chamizo, V.D., Fernández-Aranda, F., 2009, Is contextual-potentiated eating dependent on caloric density of food? *Psicológica* 30, 203-216.
- Sarantis, K., Antoniou, K., Matsokis, N., Angelatou, F., 2012, Exposure to novel environment is characterized by an interaction of D1/NMDA receptors underlined by phosphorylation of the NMDA and AMPA receptor subunits and activation of ERK1/2 signaling, leading to epigenetic changes and gene expression in rat hippocampus. *Neurochem Int* 60, 55-67.
- Schadt, J.C., Hasser, E.M., 1998, Hemodynamic effects of acute stressors in the conscious rabbit. *Am J Physiol* 274, R814-821.
- Schallert, T., Whishaw, I.Q., De Ryck, M., Teitelbaum, P., 1978, The postures of catecholamine-depletion catalepsy: their possible adaptive value in thermoregulation. *Physiol Behav* 21, 817-820.
- Schmidt, W.J., 2006, Animal Models of Parkinson's Disease. *Animal Models of Neuropsychiatric Diseases*, Editor Koch, M., 1-428.
- Schmidt, W.J., Beninger, R.J., 2006, Behavioural sensitization in addiction, schizophrenia, Parkinson's disease and dyskinesia. *Neurotox Res* 10, 161-166.

- Schmidt, W.J., Bubser, M., 1989, Anticataleptic effects of the N-methyl-D-aspartate antagonist MK-801 in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 32, 621-623.
- Schmidt, W.J., Tzschentke, T.M., Kretschmer, B.D., 1999, State-dependent blockade of haloperidol-induced sensitization of catalepsy by MK-801. *Eur J Neurosci* 11, 3365-3368.
- Schmolck, H., Kensinger, E.A., Corkin, S., Squire, L.R., 2002, Semantic knowledge in patient H.M. and other patients with bilateral medial and lateral temporal lobe lesions. *Hippocampus* 12, 520-533.
- Schulkin, J., Morgan, M.A., Rosen, J.B., 2005, A neuroendocrine mechanism for sustaining fear. *Trends Neurosci* 28, 629-635.
- Schultz, W., 1998, Predictive reward signal of dopamine neurons. *J Neurophysiol* 80, 1-27.
- Schultz, W., 2010, Dopamine signals for reward value and risk: basic and recent data. *Behav Brain Funct* 6, 24.
- Schultz, W., Apicella, P., Ljungberg, T., 1993, Responses of monkey dopamine neurons to reward and conditioned stimuli during successive steps of learning a delayed response task. *J Neurosci* 13, 900-913.
- Schultz, W., Dayan, P., Montague, P.R., 1997, A neural substrate of prediction and reward. *Science* 275, 1593-1599.
- Schwartz, R.K., Huston, J.P., 1996, The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research. Analysis of functional deficits, recovery and treatments. *Prog Neurobiol* 50, 275-331.
- Scoville, W.B., Milner, B., 1957, Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 20, 11-21.
- Scoville, W.B., Milner, B., 2000, Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. 1957. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 12, 103-113.
- Segovia, G., Porras, A., Del Arco, A., Mora, F., 2001, Glutamatergic neurotransmission in aging: a critical perspective. *Mech Ageing Dev* 122, 1-29.
- Selye, H., 1936, Syndrome produced by diverse noxious agents. *Nature*. 138.
- Sesack, S.R., Pickel, V.M., 1992, Prefrontal cortical efferents in the rat synapse on unlabeled neuronal targets of catecholamine terminals in the nucleus accumbens septi and on dopamine neurons in the ventral tegmental area. *J Comp Neurol* 320, 145-160.
- Shalev, U., Grimm, J.W., Shaham, Y., 2002, Neurobiology of relapse to heroin and cocaine seeking: a review. *Pharmacol Rev* 54, 1-42.
- Shaw, P.J., Ince, P.G., 1997, Glutamate, excitotoxicity and amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol* 244 Suppl 2, S3-14.
- Shinozaki, H., Shibuya, I., 1974, A new potent excitant, quisqualic acid: effects on crayfish neuromuscular junction. *Neuropharmacology* 13, 665-672.
- Siegel, G., Agranoff, B.W., Albers, R.W., Molinoff, P.B., 1994, *Basic Neurochemistry*. Raven Press New York 5, 1-1080.
- Silbernagl, S., Despopoulos, A., 2003, *Taschenatlas der Physiologie*. Thieme, Stuttgart, 6. Auflage, 1-436.
- Silverthorn, D.U., 2009, *Physiologie*. Pearson Studium 4. Auflage, 1-1357.
- Smeets, T., Giesbrecht, T., Jelacic, M., Merckelbach, H., 2007, Context-dependent enhancement of declarative memory performance following acute psychosocial stress. *Biol Psychol* 76, 116-123.
- Smeets, W.J., Marin, O., Gonzalez, A., 2000, Evolution of the basal ganglia: new perspectives through a comparative approach. *J Anat* 196 (Pt 4), 501-517.
- Smith, A.D., Amalric, M., Koob, G.F., Zigmond, M.J., 2002, Effect of bilateral 6-hydroxydopamine lesions of the medial forebrain bundle on reaction time. *Neuropsychopharmacology* 26, 756-764.
- Smith, D.M., Mizumori, S.J., 2006a, Hippocampal place cells, context, and episodic memory. *Hippocampus* 16, 716-729.
- Smith, D.M., Mizumori, S.J., 2006b, Learning-related development of context-specific neuronal responses to places and events: the hippocampal role in context processing. *J Neurosci* 26, 3154-3163.

- Smith, S.B., 2002, Diabetic Retinopathy and the NMDA Receptor. *Drug News Perspect* 15, 226-232.
- Smith, S.M., 1986, Environmental context-dependent recognition memory using a short-term memory task for input. *Mem Cognit* 14, 347-354.
- Smith, S.M., Glenberg, A., 1978, Environmental context and human memory. *Memory & Cognition* 6, 342-353.
- Smith, S.M., Vela, E., 2001, Environmental context-dependent memory: a review and meta-analysis. *Psychon Bull Rev* 8, 203-220.
- Sommer, U., Hummel, T., Cormann, K., Mueller, A., Frasnelli, J., Kropp, J., Reichmann, H., 2004, Detection of presymptomatic Parkinson's disease: combining smell tests, transcranial sonography, and SPECT. *Mov Disord* 19, 1196-1202.
- Sprengel, R., 2006, Role of AMPA receptors in synaptic plasticity. *Cell Tissue Res* 326, 447-455.
- Squire, L.R., Kandel, E.R., 1999, *Gedächtnis. Die Natur des Erinnerns*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- Srinivasan, J., Schmidt, W.J., 2004, Intensification of cataleptic response in 6-hydroxydopamine-induced neurodegeneration of substantia nigra is not dependent on the degree of dopamine depletion. *Synapse* 51, 213-218.
- Sripada, S., Gaytan, O., Al-rahim, S., Swann, A., Dafny, N., 1998, Dose-related effects of MK-801 on acute and chronic methylphenidate administration. *Brain Res* 814, 78-85.
- Stadtland, C., Erfurth, A., Arolt, V., 2000, De novo onset of Parkinson's disease after antidepressant treatment with citalopram. *Pharmacopsychiatry* 33, 194-195.
- Stanicová, J., Miskovský, P., Sutiak, V., 2001, Amantadine: an antiviral and antiparkinsonian agent. *Vet. Med. Czech.* 46, 244-256.
- Stansfield, K.H., Kirstein, C.L., 2006, Effects of novelty on behavior in the adolescent and adult rat. *Dev Psychobiol* 48, 10-15.
- Stark, L.G., 1967, An evaluation of scopolamine hydrobromide in the production of state-dependent, one-trial learning. *Proc West Pharmacol Soc* 10, 90-91.
- Steinbusch, H.W., 1981, Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell bodies and terminals. *Neuroscience* 6, 557-618.
- Steketee, J.D., Kalivas, P.W., 2011, Drug wanting: behavioral sensitization and relapse to drug-seeking behavior. *Pharmacol Rev* 63, 348-365.
- Steriade, M., 1996, Arousal: revisiting the reticular activating system. *Science* 272, 225-226.
- Ströhle, A., 2003, *Die Neuroendokrinologie von Stress und die Pathophysiologie und Therapie von Depression und Angst* *Der Nervenarzt* 74, 279-292.
- Sundberg, M., Bogetofte, H., Lawson, T., Jansson, J., Smith, G., Astradsson, A., Moore, M., Osborn, T., Cooper, O., Spealman, R., Hallett, P., Isacson, O., 2013, Improved cell therapy protocols for Parkinson's disease based on differentiation efficiency and safety of hESC-, iPSC-, and non-human primate iPSC-derived dopaminergic neurons. *Stem Cells* 31, 1548-1562.
- Suzuki, F., Heinrich, C., Boehrer, A., Mitsuya, K., Kurokawa, K., Matsuda, M., Depaulis, A., 2005, Glutamate receptor antagonists and benzodiazepine inhibit the progression of granule cell dispersion in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 46, 193-202.
- Swanson, L.W., Petrovich, G.D., 1998, What is the amygdala? *Trends Neurosci* 21, 323-331.
- Swerdlow, N.R., Geyer, M.A., 1998, Using an animal model of deficient sensorimotor gating to study the pathophysiology and new treatments of schizophrenia. *Schizophr Bull* 24, 285-301.
- Tache, Y., Brunnhuber, S., 2008, From Hans Selye's discovery of biological stress to the identification of corticotropin-releasing factor signaling pathways: implication in stress-related functional bowel diseases. *Ann N Y Acad Sci* 1148, 29-41.
- Takebayashi, M., Hayashi, T., Su, T.P., 2002, Nerve growth factor-induced neurite sprouting in PC12 cells involves sigma-1 receptors: implications for antidepressants. *J Pharmacol Exp Ther* 303, 1227-1237.

- Tariot, P.N., Farlow, M.R., Grossberg, G.T., Graham, S.M., McDonald, S., Gergel, I., 2004, Memantine treatment in patients with moderate to severe Alzheimer disease already receiving donepezil: a randomized controlled trial. *JAMA* 291, 317-324.
- Tepper, J.M., Bolam, J.P., 2004, Functional diversity and specificity of neostriatal interneurons. *Curr Opin Neurobiol* 14, 685-692.
- Thal, D.R., Del Tredici, K., Braak, H., 2004, Neurodegeneration in normal brain aging and disease. *Sci Aging Knowledge Environ* 2004, pe26.
- Thewissen, R., van den Hout, M., Havermans, R.C., Jansen, A., 2005, Context-dependency of cue-elicited urge to smoke. *Addiction* 100, 387-396.
- Thomas, M.J., Kalivas, P.W., Shaham, Y., 2008, Neuroplasticity in the mesolimbic dopamine system and cocaine addiction. *Br J Pharmacol* 154, 327-342.
- Thompson, R.F., 2001, *Das Gehirn: Von der Nervenzelle zur Verhaltenssteuerung*. Spektrum-Akademischer Verlag Auflage: 3, 1-574.
- Tobler, P.N., Kobayashi, S., 2009, Electrophysiological correlates of reward processing in dopamine neurons. *Handbook of Reward and Decision Making*, Chapter 2 29-50.
- Todd, J.J., Marois, R., 2004, Capacity limit of visual short-term memory in human posterior parietal cortex. *Nature* 428, 751-754.
- Tolu, S., Eddine, R., Marti, F., David, V., Graupner, M., Pons, S., Baudonnat, M., Husson, M., Besson, M., Reperant, C., Zemdegs, J., Pages, C., Hay, Y.A., Lambolez, B., Caboche, J., Gutkin, B., Gardier, A.M., Changeux, J.P., Faure, P., Maskos, U., 2013, Co-activation of VTA DA and GABA neurons mediates nicotine reinforcement. *Mol Psychiatry* 18, 382-393.
- Tomer, R., Aharon-Peretz, J., 2004, Novelty seeking and harm avoidance in Parkinson's disease: effects of asymmetric dopamine deficiency. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75, 972-975.
- Torres, G., Horowitz, J.M., 1999, Drugs of abuse and brain gene expression. *Psychosom Med* 61, 630-650.
- Tozzi, A., de Iure, A., Di Filippo, M., Tantucci, M., Costa, C., Borsini, F., Ghiglieri, V., Giampa, C., Fusco, F.R., Picconi, B., Calabresi, P., 2011, The distinct role of medium spiny neurons and cholinergic interneurons in the D(2)/A(2)A receptor interaction in the striatum: implications for Parkinson's disease. *J Neurosci* 31, 1850-1862.
- Trepel, M., 2008, *Neuroanatomie. Struktur und Funktion*. Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH 4, 464
- Trevino, M., Aguilar-Garnica, E., Jendritza, P., Li, S.B., Oviedo, T., Kohr, G., De Marco, R.J., 2011, Discrimination learning with variable stimulus 'saliency'. *Int Arch Med* 4, 26.
- Trevitt, J., Kawa, K., Jalali, A., Larsen, C., 2009a, Differential effects of adenosine antagonists in two models of parkinsonian tremor. *Pharmacol Biochem Behav* 94, 24-29.
- Trevitt, J., Vallance, C., Harris, A., Goode, T., 2009b, Adenosine antagonists reverse the cataleptic effects of haloperidol: implications for the treatment of Parkinson's disease. *Pharmacol Biochem Behav* 92, 521-527.
- Tripanichkul, W., Stanic, D., Drago, J., Finkelstein, D.I., Horne, M.K., 2003, D2 Dopamine receptor blockade results in sprouting of DA axons in the intact animal but prevents sprouting following nigral lesions. *Eur J Neurosci* 17, 1033-1045.
- Tsuboi, Y., Uchikado, H., Dickson, D.W., 2007, Neuropathology of Parkinson's disease dementia and dementia with Lewy bodies with reference to striatal pathology. *Parkinsonism Relat Disord* 13 Suppl 3, S221-224.
- Tulving, E., Markowitsch, H.J., 1998, Episodic and declarative memory: role of the hippocampus. *Hippocampus* 8, 198-204.
- Tzschentke, T.M., Schmidt, W.J., 1999, Functional heterogeneity of the rat medial prefrontal cortex: effects of discrete subarea-specific lesions on drug-induced conditioned place preference and behavioural sensitization. *Eur J Neurosci* 11, 4099-4109.
- Tzschentke, T.M., Schmidt, W.J., 2000a, Blockade of behavioral sensitization by MK-801: fact or artifact? A review of preclinical data. *Psychopharmacology (Berl)* 151, 142-151.

- Tzschentke, T.M., Schmidt, W.J., 2000b, Differential effects of discrete subarea-specific lesions of the rat medial prefrontal cortex on amphetamine- and cocaine-induced behavioural sensitization. *Cereb Cortex* 10, 488-498.
- Tzschentke, T.M., Schmidt, W.J., 2003, Glutamatergic mechanisms in addiction. *Mol Psychiatry* 8, 373-382.
- Ulrich-Lai, Y.M., Herman, J.P., 2009, Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci* 10, 397-409.
- Ungless, M.A., Whistler, J.L., Malenka, R.C., Bonci, A., 2001, Single cocaine exposure in vivo induces long-term potentiation in dopamine neurons. *Nature* 411, 583-587.
- Urazaev, A., Naumenko, N.V., Poletayev, G.I., Nikolsky, E.E., Vyskocil, F., 1998, The effect of glutamate and inhibitors of NMDA receptors on postdenervation decrease of membrane potential in rat diaphragm. *Mol Chem Neuropathol* 33, 163-174.
- Uylings, H.B., Groenewegen, H.J., Kolb, B., 2003, Do rats have a prefrontal cortex? *Behav Brain Res* 146, 3-17.
- Vaitl, D., 1996, Interoception. *Biol Psychol* 42, 1-27.
- Van Bockstaele, E.J., Biswas, A., Pickel, V.M., 1993, Topography of serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus that send axon collaterals to the rat prefrontal cortex and nucleus accumbens. *Brain Res* 624, 188-198.
- Vanderschuren, L.J., Kalivas, P.W., 2000, Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. *Psychopharmacology (Berl)* 151, 99-120.
- Varanese, S., Howard, J., Di Rocco, A., 2010, NMDA antagonist memantine improves levodopa-induced dyskinesias and "on-off" phenomena in Parkinson's disease. *Mov Disord* 25, 508-510.
- Vertes, R.P., 1991, A PHA-L analysis of ascending projections of the dorsal raphe nucleus in the rat. *J Comp Neurol* 313, 643-668.
- Vezzani, A., Serafini, R., Stasi, M.A., Caccia, S., Conti, I., Tridico, R.V., Samanin, R., 1989, Kinetics of MK-801 and its effect on quinolinic acid-induced seizures and neurotoxicity in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 249, 278-283.
- Vizi, E.S., Mike, A., Tarnawa, I., 1996, 2,3-Benzodiazepines (GYM 52466 and Analogs): Negative Allosteric Modulators of AMPA Receptors. *CNS Drug Reviews* 2 91-126.
- Voorn, P., Vanderschuren, L.J., Groenewegen, H.J., Robbins, T.W., Pennartz, C.M., 2004, Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum. *Trends Neurosci* 27, 468-474.
- Vorhees, C.V., Williams, M.T., 2006, Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc* 1, 848-858.
- Wadenberg, M.L., Soliman, A., VanderSpek, S.C., Kapur, S., 2001, Dopamine D(2) receptor occupancy is a common mechanism underlying animal models of antipsychotics and their clinical effects. *Neuropsychopharmacology* 25, 633-641.
- Walker, D.L., Davis, M., 2002, The role of amygdala glutamate receptors in fear learning, fear-potentiated startle, and extinction. *Pharmacol Biochem Behav* 71, 379-392.
- Wan, F.J., Swerdlow, N.R., 1997, The basolateral amygdala regulates sensorimotor gating of acoustic startle in the rat. *Neuroscience* 76, 715-724.
- Wang, S.H., Finnie, P.S., Hardt, O., Nader, K., 2012, Dorsal hippocampus is necessary for novel learning but sufficient for subsequent similar learning. *Hippocampus* 22, 2157-2170.
- Watkins, J.C., Jane, D.E., 2006, The glutamate story. *Br J Pharmacol* 147 Suppl 1, S100-108.
- Watkins, J.C., Olverman, H.J., 1987, Agonists and antagonists for excitatory amino acid receptors. *Trends in Neurosciences* 10, 265-272.
- Webster, K.E., 1961, Cortico-striate interrelations in the albino rat. *J Anat* 95, 532-544.
- Weiss, I.C., Di Iorio, L., Feldon, J., Domeney, A.M., 2000, Strain differences in the isolation-induced effects on prepulse inhibition of the acoustic startle response and on locomotor activity. *Behav Neurosci* 114, 364-373.

- Weiss, S.R. ,Post, R.M. ,Pert, A. ,Woodward, R., Murman, D., 1989, Context-dependent cocaine sensitization: differential effect of haloperidol on development versus expression. *Pharmacol Biochem Behav* 34, 655-661.
- Werner, 1992, *Biomathematik und Medizinische Statistik*. Urban & Schwarzenbergverlag 2, 54, 156ff., 274.
- Whiting, E. ,Copland, D., Anthony, A., 2005, Verb and context processing in Parkinson's disease. *Journal of Neurolinguistics* 18, 259–276.
- Wiecki, T.V., Frank, M.J., 2010, Neurocomputational models of motor and cognitive deficits in Parkinson's disease. *Prog Brain Res* 183, 275-297.
- Williams, G.V. ,Rao, S.G., Goldman-Rakic, P.S., 2002, The physiological role of 5-HT_{2A} receptors in working memory. *J Neurosci* 22, 2843-2854.
- Williams, J.H. ,Wellman, N.A. ,Geaney, D.P. ,Feldon, J. ,Cowen, P.J., Rawlins, J.N., 1997, Haloperidol enhances latent inhibition in visual tasks in healthy people. *Psychopharmacology (Berl)* 133, 262-268.
- Williamson, A., Spencer, D.D., 1994, Electrophysiological characterization of CA2 pyramidal cells from epileptic humans. *Hippocampus* 4, 226-237.
- Willner, P., 1991, Methods for Assessing the Validity of Animal Models of Human Psychopathology. *Animal Models in Psychiatry* 18.
- Wilson, M.A., McNaughton, B.L., 1993, Dynamics of the hippocampal ensemble code for space. *Science* 261, 1055-1058.
- Wiltgen, B.J. ,Royle, G.A. ,Gray, E.E. ,Abdipranoto, A. ,Thangthaeng, N. ,Jacobs, N. ,Saab, F. ,Tonegawa, S. ,Heinemann, S.F. ,O'Dell, T.J. ,Fanselow, M.S., Vissel, B., 2010, A role for calcium-permeable AMPA receptors in synaptic plasticity and learning. *PLoS One* 5.
- Wohr, M., Schwarting, R.K., 2007, Ultrasonic communication in rats: can playback of 50-kHz calls induce approach behavior? *PLoS One* 2, e1365.
- Wohr, M., Schwarting, R.K., 2013, Affective communication in rodents: ultrasonic vocalizations as a tool for research on emotion and motivation. *Cell Tissue Res*.
- Wolf, M.E., 1998, The role of excitatory amino acids in behavioral sensitization to psychomotor stimulants. *Prog Neurobiol* 54, 679-720.
- Wolf, M.E., 2002, Addiction: making the connection between behavioral changes and neuronal plasticity in specific pathways. *Mol Interv* 2, 146-157.
- Wong, E.H. ,Kemp, J.A. ,Priestley, T. ,Knight, A.R. ,Woodruff, G.N., Iversen, L.L., 1986, The anticonvulsant MK-801 is a potent N-methyl-D-aspartate antagonist. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83, 7104-7108.
- Wong, J.C., Hazrati, L.N., 2013, Parkinson's disease, parkinsonism, and traumatic brain injury. *Crit Rev Clin Lab Sci* 50, 103-106.
- Wood, E.R. ,Dudchenko, P.A. ,Robitsek, R.J., Eichenbaum, H., 2000, Hippocampal neurons encode information about different types of memory episodes occurring in the same location. *Neuron* 27, 623-633.
- Yalcin, I. ,Coubard, S. ,Bodard, S. ,Chalon, S., Belzung, C., 2008, Effects of 5,7-dihydroxytryptamine lesion of the dorsal raphe nucleus on the antidepressant-like action of tramadol in the unpredictable chronic mild stress in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 200, 497-507.
- Yee, N. ,Schwarting, R.K. ,Fuchs, E., Wohr, M., 2012, Juvenile stress potentiates aversive 22-kHz ultrasonic vocalizations and freezing during auditory fear conditioning in adult male rats. *Stress* 15, 533-544.
- Yoon, T. ,Okada, J. ,Jung, M.W., Kim, J.J., 2008, Prefrontal cortex and hippocampus subserve different components of working memory in rats. *Learn Mem* 15, 97-105.
- Young, S.L. ,Bohenek, D.L., Fanselow, M.S., 1994, NMDA processes mediate anterograde amnesia of contextual fear conditioning induced by hippocampal damage: immunization against amnesia by context preexposure. *Behav Neurosci* 108, 19-29.
- Zach, N. ,Inbar, D. ,Grinvald, Y. ,Bergman, H., Vaadia, E., 2008, Emergence of novel representations in primary motor cortex and premotor neurons during associative learning. *J Neurosci* 28, 9545-9556.

- Zadow, B., Schmidt, W.J., 1994, The AMPA antagonists NBQX and GYKI 52466 do not counteract neuroleptic-induced catalepsy. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 349, 61-65.
- Zhang, C., Li, M., 2012, Contextual and behavioral control of antipsychotic sensitization induced by haloperidol and olanzapine. *Behav Pharmacol* 23, 66-79.
- Zhang, W.N., Pothuizen, H.H., Feldon, J., Rawlins, J.N., 2004, Dissociation of function within the hippocampus: effects of dorsal, ventral and complete excitotoxic hippocampal lesions on spatial navigation. *Neuroscience* 127, 289-300.
- Zhao, M., Choi, Y.S., Obrietan, K., Dudek, S.M., 2007, Synaptic plasticity (and the lack thereof) in hippocampal CA2 neurons. *J Neurosci* 27, 12025-12032.
- Zhong, P., Liu, W., Gu, Z., Yan, Z., 2008, Serotonin facilitates long-term depression induction in prefrontal cortex via p38 MAPK/Rab5-mediated enhancement of AMPA receptor internalization. *J Physiol* 586, 4465-4479.
- Zhou, F.C., Azmitia, E.C., 1986, Induced homotypic sprouting of serotonergic fibers in hippocampus. II. An immunocytochemistry study. *Brain Res* 373, 337-348.
- Zito, K., Scheuss, V., 2009, NMDA Receptor Function and Physiological Modulation. 1157-1164.