

**Die Dynamik einiger Neurotransmitter
beim räumlichen Lernen und nach elektrischer Stimulation
im Hippocampus und Cortex praefrontalis der Ratte**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

**doctor rerum naturalium
(Dr. rer. nat.)**

genehmigt durch die Fakultät für Naturwissenschaften
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

von Diplom-Biologe Frank Neugebauer

geb. am 22-Juni-1970 in Werdau

Gutachter: Prof. Dr. Inga D. Neumann

 Privatdozent Dr. Volker Korz

eingereicht am: 20-Mai-2010

verteidigt am: 14-Dezember-2010

Inhaltsverzeichnis

verwendete Abkürzungen.....	4
1 Zusammenfassung.....	5
2 Einleitung.....	7
2.1 Gedächtnis und Lernen.....	8
2.2 Strukturen des Lernens.....	13
2.3 Hippocampus.....	14
2.4 Cortex praefrontalis.....	17
2.5 Synapsen und LTP.....	19
2.6 Neurotransmitter.....	24
2.6.1 Dopamin.....	25
2.6.2 Noradrenalin.....	28
2.6.3 Serotonin.....	29
2.7 Tierisches Verhaltensmodell.....	31
2.8 Ziele der vorliegenden Arbeit.....	34
3 Tiere, Material und Methoden.....	36
3.1 Tiere.....	36
3.2 Material.....	36
3.2.1 Mikrodialyse-Setup.....	36
3.2.2 schwache und starke Tetanisierung.....	37
3.2.3 HPLC-Setup.....	37
3.2.4 Holeboard.....	38
3.3 Methoden.....	39
3.3.1 Mikrodialyse.....	39
3.3.2 Präparation.....	41
3.3.3 Ablauf der Tetanusexperimente.....	44
3.3.4 Ablauf der Verhaltensexperimente.....	45
3.3.5 Analysen und Auswertung.....	48
4 Ergebnisse.....	50
4.1 Chromatogramme der HPLC.....	50
4.2 Neurotransmitter im Hippocampus.....	51
4.2.1 Dopamin.....	51
4.2.2 Noradrenalin.....	54
4.2.3 Serotonin.....	56
4.3 Neurotransmitter im PFC.....	57
4.3.1 Dopamin.....	57
4.3.2 Noradrenalin.....	58
4.3.3 Serotonin.....	60
4.4 Antagonisten der Neurotransmitter.....	61
4.4.1 SCH 23390.....	61
4.4.2 Propranolol.....	64
4.4.3 Natriumchlorid als Kontrolle.....	66
4.5 Verhaltensexperimente.....	67
4.5.1 Latenz.....	68
4.5.2 Suchgeschwindigkeit.....	71
4.5.3 Wegstrecke.....	73

4.5.4	Bewegung.....	75
4.5.5	Besuchte Löcher.....	77
4.5.6	Referenzgedächtnis.....	79
4.5.7	Arbeitsgedächtnis.....	82
4.6	Korrelationen.....	86
5	Diskussion.....	94
5.1	Hippocampus & Cortex prefrontalis.....	94
5.2	LTP und Mikrodialyse.....	96
5.3	Noradrenalin und Lernen.....	101
5.4	Dopamin und Lernen.....	107
5.5	Serotonin und Lernen.....	114
5.6	Verhaltenscharakteristika.....	115
5.6.1	Latenz und Suchgeschwindigkeit.....	115
5.6.2	Referenzgedächtnis.....	118
5.6.3	Arbeitsgedächtnis.....	119
5.6.4	Korrelationen.....	122
6	Literaturverzeichnis.....	124
	Lebenslauf.....	143
	Selbstständigkeitserklärung.....	144

verwendete Abkürzungen

(m)PFC	–	Cortex praefrontalis (medialis)
5-HT	–	Serotonin
AMPA	–	alpha-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure
CA1	–	Cornu ammonis
DA	–	Dopamin
EPSP	–	exzitatorisches postsynaptisches Potential
Handling	–	umschreibt den direkten Umgang mit den Tieren
HC	–	Hippocampus
LTP	–	long term potentiation (Langzeitpotenzierung)
NA	–	Noradrenalin
NMDA	–	N-Methyl-D-Aspartat
pseudotrainingierte Tiere	–	ein zufälliges Muster im Holeboard suchende Tiere
SCH 23390	–	SCH = Schering; DA-Rezeptor-Antagonist
trainierte Tiere	–	ein konstantes Muster suchende Tiere

1 Zusammenfassung

Das zur Zeit beste zelluläre Modell der Gedächtnisformierung ist die intensiv untersuchte Langzeitpotenzierung (LTP). Erstaunlich wenige Daten liegen dazu vor, ob es nach tetanischer, LTP-induzierender, elektrischer Stimulation Änderungen in den Konzentrationen lernrelevanter Neurotransmitter gibt und ob Unterschiede und Ähnlichkeiten zu nichtartifizieller Gedächtnisformierung existieren. Ausgehend von bekannten Resultaten der elektrophysiologischen Stimulation des Hippocampus (HC) wurde die Mikrodialyse angewandt, um Aussagen über die aktuellen extrazellulären Konzentrationen verschiedener Neurotransmitter im HC zu treffen. Darauf aufbauend wurden Experimente zum räumlichen Lernen in einem Holeboard mit kontinuierlich laufender Mikrodialyse aus dem HC bzw. aus dem Cortex praefrontalis (PFC) durchgeführt.

37 Ratten erhielten elektrische Stimulationen des HC über den Tractus perforans. Gleichzeitig wurde im HC eine Mikrodialyse durchgeführt. 13 Tiere erhielten eine schwache tetanische Stimulation, 12 eine starke und weitere 12 lediglich Kontrollstimuli. Die hippocampale Konzentration des Dopamins (DA) erhöhte sich infolge des Tetanus. Die Dauer der Veränderung war abhängig von der Stärke des Tetanus. Die hippocampale Konzentration des Noradrenalins (NA) änderte sich ebenfalls in Abhängigkeit der Stärke der tetanischen Stimulation. Ein schwacher Tetanus verursachte eine zeitweilige Verringerung, ein starker Tetanus eine länger andauernde Erhöhung der NA-Konzentration. Die hippocampale Konzentration von Serotonin (5-HT) war in erster Linie aktivitätsabhängig. Ein schwacher Tetanus erhöhte diese Konzentration zeitweilig. Im Gegensatz zu allen bisher erläuterten Konzentrationsänderungen erhöhte ein starker Tetanus die 5-HT-Konzentration nicht unmittelbar sondern mit etwa 15-30 min Verzögerung. Diese Erhöhung hielt für etwa 30 min an.

24 weiteren Ratten wurden Mikrodialysesonden in den HC implantiert. 8 dieser Tiere wurden im Holeboard während 10 Trials auf ein konstantes Muster von 5 Pellets in 36 Löchern trainiert, 8 weitere auf eine zufällige, in jedem Trial veränderte Verteilung. 8 Tiere dienten als Kontrolle und verbrachten die Versuchszeit vor dem Holeboard. Die Konzentration des hippocampalen DA unterschied sich in beiden Testgruppen deutlich voneinander wie auch von der Kontrollgruppe. Die auf ein konstantes Muster trainierte Gruppe wies während der Tests eine höhere DA-Konzentration als die pseudotrainingierte auf. Letztere hatte eine höhere DA-Konzentration als die Kontrollgruppe. Die hippocampale NA-Konzentration der pseudotrainingierten Gruppe unterschied sich nur gering von derjenigen der Kontrollgruppe. Die NA-Konzentration der auf ein konstantes Muster trainierten Tiere erhöhte sich während des Experimentes deutlich. Die Konzentration des hippocampalen 5-HT veränderte sich in erster Linie aktivitätsabhängig und wies nur geringe Unterschiede zwischen beiden Testgruppen auf. Die während der Holeboardversuche aufgezeichneten verhaltensbiologischen Parameter, zeigten erhebliche Unterschiede zwischen den Testgruppen.

41 weiteren Tieren wurden Mikrodialysesonden in den PFC implantiert. 20 Tiere wurden unter den gleichen Bedingungen wie die HC-Tiere auf ein konstantes

Muster trainiert, 13 Tiere auf ein zufälliges, in jedem Trial verändertes. 8 Ratten wurden der Kontrollgruppe zugeordnet und verblieben während der kompletten Versuchszeit vor dem Holeboard. Die Konzentration des präfrontalen DA erhöhte sich bei der auf ein konstantes Muster trainierten Gruppe mit dem Fortschreiten des Experimentes, d.h., mit der kognitiven Leistung des Erkennens, Lernens, Wiederholens und Abrufens des Verteilungsmusters der Futterpellets. Bei der pseudotrainierten Gruppe wies das präfrontale DA deutlichere Schwankungen auf. Die Konzentration des präfrontalen NA sank zu Beginn des Experimentes in beiden Testgruppen gegenüber der Kontrollgruppe deutlich ab. Die Konzentration der pseudotrainierten Gruppe blieb meist unter der der Kontrollgruppe. Dagegen erhöhte sich die NA-Konzentration der auf ein konstantes Muster trainierten Gruppe gegen Ende des Experimentes deutlich. Die präfrontale 5-HT-Konzentration wies zwischen den beiden suchenden Gruppen nur geringe Unterschiede auf. Die aufgezeichneten, im Holeboard gezeigten Verhaltensparameter unterschieden sich zwischen den beiden Testgruppen deutlich.

8 weiteren Tieren wurde eine Mikrodialysesonde in den PFC implantiert. 4 dieser Ratten wurden auf ein konstantes und 4 auf ein zufälliges Muster trainiert. Durch eine membranlose Sonde wurde diesen Tieren vor dem 6. und 10. Trial SCH 23390 injiziert. Während die präfrontalen DA-Konzentrationen deutlich absanken, erhöhten sich die NA-Konzentrationen in beiden Gruppen während des Experimentes. Auch die 5-HT-Konzentrationen wiesen Erhöhungen auf. Die Applikation von SCH 23390 direkt in den PFC verursachte im Vergleich mit den unbehandelten Tieren Abweichungen in den Verhaltensparametern.

8 weitere Tiere wurden ebenso behandelt und trainiert wie die eben beschriebenen. Ihnen wurde jedoch Propranolol in den PFC injiziert. Daraufhin verringerten sich die NA-Konzentrationen in beiden Gruppen deutlich. Die DA-Konzentrationen sanken dagegen geringfügig ab. Die 5-HT-Konzentrationen blieben relativ unbeeinflusst. Sehr großen Einfluss nahmen diese Propranolol-Applikationen jedoch auf die Verhaltensparameter. Die Funktionsfähigkeit des Kurzzeitgedächtnisses (Arbeitsgedächtnis) war zeitweilig stark eingeschränkt.

Die Resultate der vorgelegten Untersuchung zeigen Unterschiede und Gemeinsamkeiten zwischen dem Modell der Gedächtnisbildung, der LTP, und der tatsächlichen Gedächtnisformierung beim räumlichen Lernen auf der Ebene der Neurotransmitter. Die Ergebnisse zeigen u.a., dass die heterosynaptische Aktivierung nach der Induktion von LTP komplizierter ist als bisher angenommen, aber auch dass der PFC und der HC bei der Lösung räumlicher Gedächtnisaufgaben intensiv miteinander kommunizieren und dass dabei DA, NA und 5-HT eine wichtige Rolle spielen. Es werden erste vergleichende Einblicke in die komplexe Dynamik dieser Neurotransmitter während der Formierung eines räumlichen Gedächtnisses und nach elektrischer Induktion einer hippocampalen LTP als zellulärem Gedächtnismodell ermöglicht. Es zeigt sich, dass hippocampale LTP-Induktion und räumliches Lernen parallele, aber auch divergierende Konzentrationsänderungen auslösen. Die vorliegende Arbeit bildet die Grundlage für weiterführende Studien, die die Fragen, die sich aus der vorliegenden Untersuchung ergeben, beantworten können.

2 Einleitung

Das menschliche Gehirn wird gern als das komplexeste System im Universum bezeichnet, das der Menschheit bekannt ist. Ca. 100 000 000 000 Neuronen im menschlichen Gehirn kommunizieren miteinander über geschätzte 100 000 000 000 000 Synapsen (Dawkins, 2007). Dieses immense Netzwerk bestimmt die Wahrnehmung des Individuums von der äußeren Welt. Aber auch alle individuellen Erlebnisse werden durch neuronale Bedingungen im Gehirn repräsentiert. Dazu gehören Erfahrungen ebenso wie erlernte Fähigkeiten. Die universalen Merkmale des Lebens, das Lernen und das Gedächtnis, sind dabei essentiell und von besonderer Bedeutung.

Für das Schreiben eines bestimmten Wortes durch einen Menschen oder das erlernte Finden eines Futterstückes durch eine Ratte in einem ihr bekannten Labyrinth, existiert im jeweiligen Gehirn ein spezifisches und individuelles Netzwerk synaptischer Verbindungen zwischen Nervenzellen. Beabsichtigt ein Mensch ein bestimmtes Wort zu schreiben oder wird die Ratte an den Eingang des Labyrinths gesetzt, so werden diese Netzwerke aktiviert und entsenden ein charakteristisches Muster von Aktionspotentialen. Durch nachgeordnete Verschaltungen ergeben sich daraus stark differenzierte, zeitlich und in ihrer Ausprägung kontrollierte und aufeinander abgestimmte Kontraktionen verschiedener Muskelgruppen: der Mensch schreibt das Wort, die Ratte läuft los und findet das Futter. Um andere Wörter schreiben zu lernen oder das Futter an anderen Stellen des Labyrinths finden zu können, werden durch Aktivierung und Übung ständig neue Verschaltungen angelegt und nicht mehr benötigte und ineffektivere Verbindungen aufgehoben. Als strukturelle Grundlage (strukturelle Plastizität) wird die dynamische Reorganisation der Verteilung und Dichte der Rezeptoren auf den Synapsen und die Veränderungen des Cytoskeletts der Neuronen betrachtet. Auf der Ebene der Nervenzellen ist Lernen also nichts anderes als die von ihrer Aktivierung und Aktivität abhängige Änderung von Funktionsabläufen und Verschaltungsmustern (Kandel et al., 1995; Dudel et al., 2005; Bear et al., 2008; van Praag, 2009).

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung ist einen Beitrag zum besseren Verständnis der komplexen Vorgänge des Lernens und des Gedächtnisses im Gehirn von Säugetieren zu leisten.

Um der Komplexität des Themas gerecht zu werden und die Untersuchungsansätze und Resultate der vorliegenden Arbeit in dieses einordnen zu können, wurde die Einleitung in mehrere Kapitel unterteilt. In Kapitel 2.1 wird Lernen und Gedächtnis näher definiert und das Wechselspiel zwischen beiden skizziert. Die Kapitel 2.2 bis 2.4 geben Einblicke auf die – auch aus Sicht dieser Untersuchung – wichtigen neuronalen Strukturen des Lernens. Im Kapitel 2.5 wird auf die Funktionsweise der Informationsübertragung an den Synapsen und ihre Bedeutung für die vorliegende Untersuchung eingegangen. Kapitel 2.6 beschäftigt sich mit den hier näher untersuchten Neurotransmittern. Abschließend wird in Kapitel 2.7 das zugrunde liegende Verhaltensmodell konkretisiert.

2.1 Gedächtnis und Lernen

Betrachten wir zunächst die neuronalen Grundlagen für die Ausprägung eines Gedächtnisses und des Lernens näher.

Die zelluläre Basis für das Lernen und das Gedächtnis im Hippocampus postulierte im Jahre 1949 Donald O. Hebb: *„When an axon of cell A is near enough to excite cell B and repeatedly or persistently takes part in firing it, some growth process or metabolic change takes place in one or both cells such that A's efficiency, as one of the cells firing B, is increased.“* („Wenn ein Axon der Zelle A nah genug ist, um Zelle B zu erregen und wiederholt und dauerhaft zur Erzeugung von Aktionspotentialen in Zelle B beiträgt, so resultiert das in Wachstumsprozessen oder metabolischen Veränderungen in einer oder in beiden Zellen, die wiederum bewirken, dass die Effizienz von Zelle A bezüglich der Erzeugung von Aktionspotentialen in Zelle B größer wird.“). Je häufiger ein Neuron gleichzeitig mit einem anderen aktiv ist, desto bevorzugter werden diese beiden Neuronen aufeinander reagieren. Oder als englische Paraphrase: *„What fires together, wires together.“* Hebb wies dies anhand Veränderungen der synaptischen Übertragung zwischen Neuronen nach. Er gilt damit als Entdecker der synaptischen Plastizität, des neurophysiologischen Grundlagemechanismus des Lernens und des Gedächtnisses. Vorgänge, die zur Verstärkung oder Schwächung bestehender synaptischer Verbindungen führen, werden als synaptische Plastizität (s. Kapitel 2.5) bezeichnet (Brown, 2006).

Nur ein Teil der während der Ontogenese der Säugetiere angelegten neuronalen Verschaltungen existieren auch noch in den adulten Tieren. Da ungefähr ein Drittel aller ursprünglichen Neuronen absterben, werden auch zahlreiche neuronale Verschaltungen zerstört (Rosenzweig und Barnes, 2003). Diese Art der Redundanz ist sehr sinnvoll, da die einzelnen Neuronen eines bestimmten Gebietes mit ihren benachbarten Zellen um die beste neuronale Verschaltung konkurrieren. Zum einen überleben nur die Nervenzellen, die die Verbindungen zu den richtigen Zielgebieten aufgebaut haben. Falsch geleitete Neuronen sterben durch die dann fehlenden, speziellen Neurotrophine ab (Calamandrei und Alleva, 1995; Segal, 2001; Lu et al., 2005). Zum anderen überleben von den richtig verbundenen Nervenzellen nur diejenigen, die die stabilsten synaptischen Verbindungen besitzen. So entsteht in der Regel eines der bestmöglichen, an die individuellen Erfordernisse angepasste neuronale Netzwerk. Zu bedenken ist weiterhin, dass diese Konstruktion nie vollendet sein kann, da sie sich durch das Lernen und neue Umweltinformationen weiter verändert.

Die Stabilität dieser Verbindungen und damit die Verwirklichung des Lernens auf neuronaler Ebene, also die aktivitätsabhängigen Veränderungen der Verschaltungen und Funktionsabläufe, kann durch verschiedene Mechanismen beeinflusst werden. Dazu zählen u.a.: Die Langzeitpotenzierung, die posttetanische Potenzierung, die synaptische Depression und die präsynaptische Verstärkung (Bliss und Gardner-Medwin, 1973; Bliss und Lømo, 1973; Frey et al., 1988; Matthies et al., 1990; Hölscher, 1997; Paulsen und

Sejnowski, 2000; Alle et al., 2001; Braunewell und Manahan-Vaughan, 2001; Shapiro, 2001).

Auf die Langzeit-Potenzierung wird noch im Zusammenhang mit den für das Gedächtnis bedeutsamen Vorgängen an der Synapse genauer eingegangen (Kapitel 2.5). Eine erhöhte Feuerrate führt auf der präsynaptischen Seite zu einer verstärkten Freisetzung der den synaptischen Spalt überwindenden Neurotransmitter. Das stört die biochemischen Gleichgewichte auf der postsynaptischen Seite (Dudel et al., 2005; Bear et al., 2008). Die biochemischen Prozesse können durch die Neurotransmitter (Kapitel 2.6) in einer Weise beeinflusst werden, die zu Veränderungen in der Regulation der Dichte postsynaptischer Rezeptoren führen. Dies wiederum kann zu einer Änderung der Wahrscheinlichkeit einer erneuten Erregung dieser Postsynapse führen.

Es ist offensichtlich, dass für ein erfolgreiches Lernen ein funktionierendes Gedächtnis unabdingbar ist. Doch welche Kriterien spielen dabei eine Rolle? Das Gedächtnis, das menschliche wie auch das tierische, lässt sich nach verschiedenen Kriterien einteilen. So kann man es z.B. nach zeitabhängigen Prozessen (Wahrnehmung, Aufnahme, Kurz- und Langzeitgedächtnis,...), nach inhaltlichen Aspekten (auditiv, sprachlich, visuell, taktil,...), nach der Art der gespeicherten Information (prozedural, deklarativ, semantisch, episodisch,...), aber auch nach den beteiligten Hirnstrukturen unterteilen. Wobei der letzteren Unterteilung hauptsächlich pathologische Ausfallerscheinungen zugrunde liegen. Pathologische Veränderungen des Gehirns bzw. operative Eingriffe in konkreten Hirnarealen brachten häufig auch neue Erkenntnisse über die Funktionsweise des Gedächtnisses.

So wurden 1953 durch William Scoville einem unter schwerer Epilepsie leidenden, 27-jährigen Patienten 2/3 beider Hippocampi, der größte Teil der Amygdala und Anteile der angrenzenden Rindenfelder entfernt. Postoperativ stellte sich heraus, dass dieser Patient, von dem zunächst nur die Initialen H.M. bekannt wurden, zwar weitgehend anfallsfrei und noch Zugang zu seinen präoperativ abgespeicherten Gedächtnisinhalten hatte, jedoch unfähig war, sich an irgendetwas Neues, das er nach der Operation erlebte, zu erinnern. Sprach- und Wahrnehmungsfunktionen, präoperatives Wissen und Fertigkeiten, sowie das prozedurale und das Arbeitsgedächtnis wurden durch die Operation nicht beeinträchtigt (Scoville und Milner, 1957).

Die postoperative Symptomatik H.M.'s bewies, dass der Hippocampus für die Gedächtnisbildung neuer Erfahrungen notwendig ist. Sie bestätigte auch die Konsolidierungshypothese, wonach der Hippocampus während eines begrenzten Zeitraums nach der primären Kodierung entscheidend für die Herausbildung des Gedächtnisses ist. Da H.M. neben der manifesten anterograden Amnesie nur eine begrenzte retrograde Amnesie zeigte, ließ das den Beweis zu, dass die Speicherorte für Langzeiterinnerungen in Netzwerken außerhalb des Hippocampus liegen.

Die Entdeckung dieser deklarativen Gedächtnisstörung hat noch einmal die Theorie einer einzigen Gedächtnisstruktur im Gehirn unterstützt. Das ist die Gefahr bei diesem sogenannten top-down Forschungsansatzes, dass aus Einzelfallberichten vorschnelle Verallgemeinerungen von Erkenntnissen gezo-

gen werden. Bei top-down Ansätzen werden in der Regel mehr oder weniger systematische Beobachtungen als z.T. einzelne Fallberichte dokumentiert, aus denen dann versucht wird, Rückschlüsse auf zugrunde liegende Gesetzmäßigkeiten zu ziehen. Wie sich in der Folgezeit nach Untersuchungen an weiteren Patienten und an Tieren jedoch herausstellte, fanden sich Orte des deklarativen Gedächtnisses an weit verstreuten Strukturen des limbischen Systems und des Inferotemporalcortex. Diese Areale sind Durchgangsstationen für die Langzeitspeicherung, die vermutlich in verschiedenen Hirnstrukturen stattfindet. Beispielsweise geschieht die Abspeicherung motorischer Fähigkeiten wieder in anderen Strukturen. Die verschiedenen Prozesse des Gedächtnisses verteilen sich auf weite Bereiche des Gehirns. Außerdem wird immer deutlicher, dass diese Prozesse mit den spezifischen Funktionen einzelner Gehirnstrukturen assoziiert sind. So ist der Inferotemporalcortex nicht nur an der Speicherung des deklarativen Gedächtnisses beteiligt, sondern auch am Erkennen komplexer Seheindrücke. Während der Hippocampus neben der Funktion als Eingangstor für das Langzeitgedächtnis auch bei der räumlichen Orientierung eine wichtige Rolle spielt. Dies zeigte sich auch bei der Beobachtung und Untersuchung des Patienten H.M. (Scoville und Milner, 1957). Diese Resultate sind auch für die vorliegende Arbeit bedeutsam (s. Kapitel 2.8). Die Identität dieses wohl bekanntesten Patienten der Neurobiologie wurde erst nach seinem Tod bekannt gegeben: Henry Gustav Molaison lebte von 1926 bis 2008. Das erreichte hohe Alter gibt auch einen Hinweis darauf, dass die entfernten Hirnareale nicht unbedingt in die basalen Funktionen des Überlebens des Individuums involviert sind, besonders wenn es eine Gemeinschaft gibt, die ihn vor größeren Irrtümern und Fehlern schützt.

Gegenwärtig ist ein Modell des Gedächtnisses besonders modern, das 4 Gedächtnissysteme voneinander unterscheidet (Burgess, 2008; Ciaramelli et al., 2008; Postma et al., 2008). Das episodische Gedächtnis dient danach dem Speichern von autobiografischen Ereignissen sowie der Speicherung bestimmter Fakten nach Ort und Zeit. Ein zweites, deklaratives System wird als eine Art Wissenssystem beschrieben, in diesem sollen erlerntes Wissen, Kenntnisse über die Welt (im Sinn von Umwelt) und generelle Zusammenhänge abgespeichert werden. Ein weiteres System wird als prozedurales Gedächtnis bezeichnet, in diesem werden motorische und mechanische Fertigkeiten und Handlungsabläufe gespeichert. Das 4. System wird als Priming bezeichnet. Hier werden ähnlich erlebte Situationen oder früher wahrgenommene Reizmuster abgespeichert. Diese Gedächtnissysteme werden als nicht voneinander getrennt funktionierend betrachtet. Sie wirken zusammen, beeinflussen und ergänzen einander.

In diesem Sinne zeigt auch der in der vorliegenden Arbeit verwendete Versuchsansatz des Lernens und Erinnerns von räumlichen Verteilungsmustern durch Ratten Aspekte aller 4 dieser Gedächtnissysteme (s. Kapitel 2.7).

Die kognitionspsychologische zeitliche Einteilung kennt ebenfalls 4 verschiedene Gedächtniszeiträume: Das Ultrakurzzeitgedächtnis, das Kurzzeitgedächtnis, das Arbeitsgedächtnis und das Langzeitgedächtnis (Anderson, 2007).

Das Ultrakurzzeitgedächtnis, das im Zeitrahmen von wenigen Millisekunden arbeitet, speichert Wahrnehmungen und kurze Sinneseindrücke. Es spielt für den Versuchsansatz keine wichtige Rolle.

Das Kurzzeitgedächtnis umfasst einen variablen Zeitraum zwischen Ultrakurz- und Langzeitgedächtnis. Das Kurzzeitgedächtnis verfügt über eine begrenzte Kapazität von 7 ± 2 Informationseinheiten (Miller, 1956). Dies hatte bereits der Psychologe Hermann Ebbinghaus in den 80er Jahren des 19. Jahrhunderts festgestellt. Er versuchte, sich so viele wie möglich sinnfreie, dreibuchstabige Silben zu merken, die er danach wiederzugeben versuchte (Ebbinghaus, 1885). Im Gegensatz zu dem weiter oben (Seite 9) beschriebenen top-down Ansatz, wandte Ebbinghaus den bottom-up Forschungsansatz an. Hierbei wird, wie auch in der vorliegenden Untersuchung, das unter standardisierten Bedingungen durchgeführte Experiment zur Untersuchungsmethode erklärt. Auf diese Weise soll die Replizierbarkeit der gewonnenen Ergebnisse gewährleistet werden. Die Übertragbarkeit der so gewonnenen Erkenntnisse auf top-down-Ergebnisse und auf Versuche, die unter anderen, ebenfalls standardisierten Bedingungen durchgeführt wurden, sind Kritikpunkte dieser Methode. Aber auch die Künstlichkeit der standardisierten Versuchsbedingungen muss kritisch betrachtet werden.

Einen möglichen Mechanismus der Funktion des Kurzzeitgedächtnisses zeigten Sidiropoulou et al. (2009). Sie fanden Neuronen im Cortex prefrontalis von Mäusen, die Signale bis zu einer Minute weiterleiten können, nachdem sie eine kurze Serie von Signalen erhalten haben. Der metabotrope Glutamat-Rezeptor 5 (mGluR5) wird durch die einkommenden Signale aktiviert und setzt dann eine Kaskade in Gang, die zu einer länger andauernden postsynaptischen Depolarisation führt. An der entsprechenden Stelle im menschlichen Cortex prefrontalis werden Gedächtnisinhalte aus verschiedenen Hirnregionen mit neuen Sinneseindrücken verknüpft und für kurze Zeit zwischengespeichert, bevor sie weitergeleitet werden. Diese relativ lang anhaltende Fortsetzung der Informationsübertragung nach einem kurzen Eingangssignal ist auch für die verwendete Untersuchungsmethode der Mikrodialyse bedeutsam, bei der über einen längeren Zeitraum die extrazellulären Stoffe, insbesondere Neurotransmitter, gesammelt werden (s. Kapitel 3.3.1).

Das Langzeitgedächtnis hat im Gegensatz dazu eine nahezu unbegrenzte Kapazität. Für die enorme Leistungsfähigkeit des Langzeitgedächtnisses gibt es ebenfalls ein interessantes pathologisches Beispiel. Parker et al. (2006) berichten von einer Patientin (AJ), deren Leben von ihrem unkontrollierbaren und automatisch ablaufenden Gedächtnis bestimmt wird. AJ kann sich an jeden Tag ihres bewussten Lebens so detailliert erinnern, dass sie nach Nennung eines beliebigen Datums wiederholbar exakt sagen kann, was sie an diesem Tag getan und erlebt hat.

Das Arbeitsgedächtnis ist in der vorliegenden Arbeit der zeitliche Bereich, in dem sich die Lern- und Gedächtnisprozesse abspielen sollten. Aus diesem Grunde lohnt sich eine genauere Betrachtung. Von verschiedenen, meist psychologisch forschenden Autoren (Baddeley, 1996; Cowan, 1999; Engle et al., 1999; Berti, 2002) wird das Arbeitsgedächtnis zwischen dem Kurzzeitgedäch-

nis und dem Langzeitgedächtnis positioniert. Da die Verhaltensexperimente der vorliegenden Arbeit über mehrere Tage laufen, entspricht diese Positionierung auch den hier gestellten Anforderungen an die Versuchstiere. Das Arbeitsgedächtnis ist verantwortlich für die Verarbeitung eingegangener Informationen sowie für die Vorbereitung der langfristigen Speicherung von Informationen. Dazu gehören die Organisation der zu lernenden Informationen (Kategorisieren), das Bilden von Assoziationen und die Manipulation der Informationen (Anbindung an Zeit und Raum). Es werden mehrere Arbeitsgedächtnissysteme unterschieden: das verbale und das räumliche Arbeitsgedächtnis, das visuelle bzw. Objekt-Arbeitsgedächtnis und das episodische Arbeitsgedächtnis. In der vorliegenden Arbeit bezieht sich der Begriff Arbeitsgedächtnis auf einen deutlich längeren Zeitraum – bis zu mehreren Tagen – als in der Psychologie. Er wird auch ausschließlich kontextbezogen auf das räumliche Erinnerungsvermögen angewandt.

Die klinische (zeitliche) Einteilung des Gedächtnisses beruht auf der Definition eines mehr oder weniger willkürlich festgelegten Zeitpunktes. Alles, was vor diesem Zeitpunkt gelernt wurde, ist dem Altgedächtnis zugehörig, alles nach diesem Zeitpunkt gehört zum Neugedächtnis. Meist ist der Zeitpunkt ein traumatisches Ereignis (anterograde und retrograde Amnesien).

Die inhaltliche Einteilung beschreibt ein hierarchisch gegliedertes, vom prozeduralen zum episodischen Gedächtnis über das Primingsystem und das perzeptuelle Gedächtnis führendes System. Das prozedurale Gedächtnis beinhaltet auch hier Routinehandlungen, die fast schon unbewusst automatisch ablaufen, aber auch motorische Tätigkeiten. Das episodische Gedächtnis beinhaltet individuelle Erlebnisse, Gedächtnisinhalte mit Zeit- und Raumbezug und emotional bewertete Informationen. Das perzeptuelle Gedächtnis ist das bewusste Erkennen von Objekten und Sinneseindrücken aufgrund ihrer Wahrnehmungsmerkmale. Erkennen im Sinne von Verstehen und Einordnen ist jedoch nicht zwingend notwendig. Das Primingsystem beinhaltet dagegen die höhere Erkenntnisleistung von zuvor (unbewusst) Wahrgenommenen (Anderson, 2007; Rosenzweig et al., 2007; Gluck et al., 2008).

Teilt man das Gedächtnis nach den Prozessen ein, die es gestalten, findet man die Enkodierung oder Einspeicherung, die Konsolidierung oder Festigung und die Rekognition oder das Abrufen. Bei der Enkodierung des episodischen Gedächtnisses sind folgende Hirnstrukturen beteiligt: das limbische System inklusive des Hippocampus, der präfrontale Cortex und der Thalamus. An der Konsolidierung des episodischen Gedächtnisses sind die limbischen Strukturen und der Cortex mit seinen Assoziationsgebieten beteiligt. Die Rekognition führen das limbische System und der temporale frontale Cortex durch. Enkodierung, Konsolidierung und Rekognition des perzeptuellen Gedächtnisses und des Primings wird durch den zerebralen Cortex durchgeführt. An der Enkodierung und der Konsolidierung des prozeduralen Gedächtnisses sind die Basalganglien, das Kleinhirn und prämotorische Areale, u.a. der dorsolaterale präfrontale Cortex, beteiligt. An der Rekognition dieses Gedächtnisses sind die Basalganglien und das Kleinhirn beteiligt (Anderson, 2007; Rosenzweig et al., 2007; Gluck et al., 2008).

Das Gedächtnis ist nur die – wenn auch grundlegende – Voraussetzung für die weitere Verarbeitung der gesammelten Informationen. Erst die Verknüpfung mehrerer Informationen (z.B. nährstoffreiches Futter mit dessen Geruch oder Geschmack) kann zu einer optimaleren Überlebensstrategie für das Individuum führen. Die Folge von erfolgreicher Speicherung neuer Gedächtnisinhalte kann somit das Lernen sein. Als Lernen wird eine Verhaltensausrprägung bezeichnet, die Tieren erlaubt, auf ihre Umwelt in angemessener und für das Individuum nützlicher und erfolgreicher Art und Weise zu reagieren (Dawkins, 2007). Lernen kann unter bestimmten Voraussetzungen gleichbedeutend mit der Anpassung an sich ändernde oder geänderte individuelle Umweltbedingungen sein. Dabei ist die Gedächtnisleistung von enormer Bedeutung, da nur bei beispielsweise korrekter Differenzierung von Feind und Beute ein Überleben des Individuums ermöglicht wird. Gedächtnis und Lernen spielen dabei Hand in Hand. Ohne Gedächtnis kein Lernen und ohne Lernen ist die längerfristige Abspeicherung von Informationen wenig sinnvoll.

2.2 Strukturen des Lernens

Das Gedächtnis und das Lernen lassen sich nicht einer einzelnen neuronalen Struktur zuordnen. Stattdessen wird allgemein davon ausgegangen, dass sie zusätzliche Leistungen weiter Teile des Gehirns sind. Man spricht in diesem Zusammenhang auch von neuronalen Netzwerken (u.a. Carpenter et al., 2000; Miller, 2000). Dessen ungeachtet existieren im Gehirn der Säugetiere wichtige für das Gedächtnis und das Lernen unabdingbare Strukturen. Wie schon gezeigt wurde (Seiten 9 und 11), führt der Ausfall oder die Ektomie dieser Formation zu teilweise massiven Beeinträchtigungen der Gedächtnisleistung. Nur wenige dieser Hirnareale eignen sich wegen ihrer Bedeutung und absoluten Größe sowie ihrer relativ einheitlichen Feinstruktur für die Untersuchung mit der Methode der Mikrodialyse.

Der Hippocampus und der Cortex praefrontalis sind die beiden bedeutendsten Hirnregionen, die als Vermittler für Lern- und Gedächtnisprozesse vorgeschlagen wurden (u.a. Laroche et al., 2000, Simons und Spiers, 2003; Takehara et al., 2003; Kesner und Rogers, 2004; McDonald et al., 2004; Wiltgen et al., 2004). Patienten mit neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen, einschließlich der Alzheimerschen Erkrankung und Schizophrenien weisen häufig pathologische Veränderungen innerhalb des HC und des PFC auf und zeigen zudem Defizite bei der Kontrolle ihres auf Gedächtnisprozesse beruhenden Verhaltens (Frith, 1997; Heckers et al., 1998; Buckner, 2004; Shum et al., 2004; Meyer-Lindenberg et al., 2005; Jones et al., 2006). In den beiden folgenden Kapiteln wird auf diese Strukturen und die Gründe ihrer Wahl als Untersuchungsobjekte mit der Methode der Mikrodialyse näher eingegangen werden.

2.3 Hippocampus

Einer der vier Lappen des Großhirns ist der Temporallappen (Schläfenlappen, Lobus temporalis). Er umfasst den laterobasalen Teil des Großhirns. Er wird nach oben und vorne vom Sulcus lateralis (Fissura Sylvii) gegen die Parietallappen (Scheitellappen, Lobus parietalis) und den Frontallappen (Stirnlappen, Lobus frontalis) abgegrenzt, nach hinten grenzt er an den Occipitallappen (Hinterhauptslappen, Lobus occipitalis). Der Temporallappen enthält neben dem primären auditorischen Cortex und das Wernicke-Sprachzentrum, wichtige Strukturen für das Gedächtnis (Dudel et al., 2005; Bear et al., 2008).

Der Hippocampus (HC), als zentrale Struktur des limbischen Systems, ist ein phylogenetisch alter Hirnabschnitt, der sich im Laufe der Evolution aus dem Archipallium entwickelt hat (Dudel et al., 2005). Die Formation des HC erstreckt sich längs des septalen Kerngebietes des basalen Vorderhirns bis hin zum ventrocaudalen Pol des Temporallappens. Am temporalen Pol schließt sich der Cortex entorhinalis an, der durch die rhinale Fissur vom Isocortex abgegrenzt wird. Die Formation des HC setzt sich aus dem eigentlichen HC (Ammonshorn – Cornu ammonis [CA]) und dem Gyrus dentatus, sowie dem Übergangscortex (Subiculum, Cortex entorhinalis und Tractus perforans aus dem Gyrus parahippocampalis) zusammen. Ein Querschnitt durch den HC senkrecht zu seiner Längsachse zeigt zwei u-förmig gebogene, ineinander greifende Hirnwindungen, das Cornu ammonis und den Gyrus dentatus. Die HC-Formation besteht aus vier Schichten und ist einfacher als der Neocortex aufgebaut: Stratum oriens, Stratum pyramidale, Stratum radiatum und Stratum moleculare. Im Cornu ammonis bilden die Pyramidenzellen ein schmales Neuronenband mit apikalen und basalen Dendriten (Kandel et al., 1995; Dudel et al., 2005). Wegen ihrer stark abweichenden Verschaltung und Morphologie werden diese Neuronen in mehrere Regionen (CA1 bis CA4) eingeteilt, von denen CA1 und CA3 die wichtigsten und kompaktesten sind. Die Granularzellen des Gyrus dentatus sind ebenfalls in einer schmalen Schicht gleichförmig angeordnet. Ihre Dendriten sind nur apikal in der Molekularschicht lokalisiert (Amaral und Witter, 1995). Der größte Teil der isokortikalen Informationen an den HC wird über den entorhinalen Cortex weitergeleitet. Mehrere Areale des Isocortex innervieren Neuronen im entorhinalen Cortex (Kandel et al., 1995; Dudel et al., 2005).

Im medialen Teil des Temporallappens befinden sich der HC, der entorhinale, der perirhinale und der parahippocampale Cortex. Diese Hirnbereiche stellen das bedeutendste Koordinationszentrum des Gedächtnisses dar. Der basale temporale Bereich des Temporallappens ist Teil des Arbeitsgedächtnisses. Hier wird das, was wahrgenommen wird, kurzzeitig gespeichert (Sekunden bis Minuten). Auch der Vergleich mit den nächstfolgenden Wahrnehmungsinhalten erfolgt hier. Der HC wird erst benötigt, wenn bestimmte Informationen mittel- bis langfristig im Gedächtnis behalten werden sollen. Der HC ist am Vergleich von bereits gespeicherten mit ankommenden neuen Informationen beteiligt. Er ist somit ein sehr wichtiger Teil jener Hirnstrukturen, die an der Ausprägung des Kurzzeitgedächtnisses, der Konsolidierung und der Habituation beteiligt sind. Weiterhin ist der HC an der Überführung von Informationen aus dem

Kurzzeitgedächtnis (Sekunden bis wenige Minuten) in das Langzeitgedächtnis (prinzipiell zeitlich nur von der Lebensdauer begrenzt) beteiligt. Der HC ist besonders wichtig beim Lernen neuer und räumlicher Informationen (Anderson, 2007; Gluck et al., 2008). Der HC ist ein Areal des Gehirns, das integrierend Informationen aus verschiedenen Hirngebieten verarbeitet. Auf diese Weise können einzelne sensorische Aspekte, wie Farbe, Geruch, Struktur, Bewegung zu einer Information zusammengefasst werden. Diese Assoziationen werden mit den polymodalen Hirnstrukturen (präfrontaler Cortex, Gebieten des Parietallappens, aber auch anderen Teilen des Temporallappens) abgestimmt (Rosenzweig et al., 2007; Gluck et al., 2008).

Die Eingänge zur limbischen Struktur des HC sind bezüglich ihres Ursprungs und der verschiedenen Neurotransmitter hoch organisiert. Ein exzitatorisch-glutamaterger Input erreicht den Gyrus dentatus, sowie auch andere hippocampale Felder, über den Tractus perforans. Andere, hauptsächlich modulatorische Transmittersignale werden im Fimbria-Fornix-System aus dem Septum mediale und den Nuclei des Stammhirns zusammengeführt und gelangen dann in die Formation des HC (O'Keefe und Nadel, 1978; Vizi und Kiss, 1998).

Der entorhinale Cortex ist eine wichtige Struktur im limbischen System. Er ist nicht nur an der Verarbeitung neokortikaler Informationen beteiligt sondern auch an deren Weiterleitung zum HC und zum frontalen Cortex. Der entorhinale Cortex spielt beispielsweise eine wichtige Rolle beim Wiedererkennen von Objekten (Mumby und Pinel, 1994; Kim et al., 1997).

Der Tractus perforans verbindet den entorhinalen Cortex mit allen Teilen des HC (Subiculum, Gyrus dentatus und alle Regionen des Cornu ammonis). Die meisten Fasern des Tractus perforans entstammen den entorhinalen Schichten II und III, nur wenige ziehen aus den tieferen Schichten V und VI herauf. Neuronen in der entorhinalen Schicht II (und möglicherweise VI) projizieren zum Gyrus dentatus (Stratum moleculare) und zur CA3, während die Neuronen aus der Schicht III (sowie eventuell aus Schicht V) zur CA1 (Stratum lacunosum moleculare) und zum Subiculum projizieren (Kandel et al., 1995; Dudel et al., 2005).

Der Gyrus dentatus setzt sich von außen nach innen aus der äußeren und inneren Molekularschicht (Stratum moleculare), dem Körnerzellband (Stratum granulare) und dem Hilus zusammen. Die Körnerzellen bilden den Hauptbestandteil des Gyrus dentatus. Wichtigste Zellart sind die ovoiden Granularzellen, deren Dendriten sich in der inneren und äußeren Molekularzellschicht befinden und die glutamaterg und teilweise auch gabaerg auf die Pyramidenzellen der CA1- und CA3-Regionen des Ammonshorns projizieren. Die erste Station im HC, die Informationen weiterverarbeitet, die vom entorhinalen Cortex zum HC geleitet werden sollen, sind die Granularzellen (Kandel et al., 1995; Dudel et al., 2005).

In der Molekularschicht des Gyrus dentatus befinden sich die Dendriten der Granularzellen der Stratum granulare. In der inneren Stratum moleculare erreichen die Commissuralfasern des contralateralen HC die ipsilateralen Dendriten der Stratum granulare. In der äußeren Stratum moleculare enden die Fasern des entorhinalen Cortex (Dudel et al., 2005; Bear et al., 2008).

Die Körnerzellen des Gyrus dentatus, deren Axone auch als Moosfasern bezeichnet werden, innervieren die Dendriten der Pyramidenzellen in der CA3-Region. Die Schafferschen Kollateralen, die Axon-Kollateralen der Pyramidenzellen der CA3-Region, terminieren an den apikalen Dendriten der Neuronen der CA1-Region. Die Pyramidenzellen in dieser Region projizieren über das Subiculum zurück zum entorhinalen Cortex (Dudel et al., 2007; Bear et al., 2008). Zusätzlich zu den Afferenzen aus dem entorhinalen Cortex erreichen den HC auch Afferenzen vor allem aus dem Septum und dem jeweils kontralateralen entorhinalen Cortex und HC (Amaral und Witter 1995).

Das Subiculum ist die wesentliche Ausgangsstruktur der hippocampalen Formation und leitet neuronale Information der CA1-Region in verschiedene kortikale und subkortikale Hirnregionen (Hampson et al., 2000). Als Beispiele seien hier aufgeführt: Nucleus ambiguus, Amygdala, präfrontaler Cortex und Hypothalamus. Über die Amygdala aktiviert und moduliert der HC das Hormonsystem und innerviert nachgeschaltete kortikale Speichersysteme. Durch die Zwischenschaltung der Amygdala erhalten die zu speichernden Informationen eine Wertigkeit hinsichtlich ihrer emotionalen Bedeutung. Wobei im allgemeinen unangenehme Informationen besser behalten werden als positive. Dies nutzen verschiedene Experimentieransätze aus (Schultz et al., 2009; Wolf, 2009).

Das Subiculum erhält Afferenzen aus der Schicht III des entorhinalen Cortex. Dorthin bestehen aber auch Efferenzen. Ebenfalls Afferenzen und Efferenzen existieren zwischen Subiculum und perirhinalem Cortex (Witter et al., 1989 und 2000; Insausti et al., 1997; Kloosterman et al., 2003). Das Subiculum besteht aus drei Schichten: Die Molekularschicht, die aus den Dendriten der subikulären Pyramidenzellen besteht, entspricht dem Stratum lacunosum moleculare sowie dem Stratum radiatum der Area CA1. Das Stratum pyramidale besteht aus einem breiten Band von Pyramidenzellen. Die oberflächliche Schicht, dem Alveus angrenzend, besteht aus polymorphen Zellen. Darüber hinaus liegen, zwischen den Pyramidenzellen verteilt, kleinere Zellen, welche als Interneuronen angesehen werden (Dudel et al., 2005; Bear et al., 2008).

Der Fornix verläuft oberhalb des 3. Ventrikels entlang des HC und nimmt bis zu dessen okzipitalem Ende ständig Fasern aus ihm auf und gibt Fasern an ihn ab. Er verbindet den HC mit dem Corpus mamillare. Durch die Commissura fornicis verbinden Nervenfasern rechte und linke Großhirnhälfte. Funktionell ist er an der Einspeicherung von Gedächtnisinhalten vom Kurzzeit- in das Langzeitgedächtnis beteiligt und spielt somit eine Rolle beim Lernen. Er leitet keine spezifische Information, sondern selektiert und moduliert die Funktion der HC-Formation durch verschiedene Neurotransmitter wie z.B. Dopamin, Noradrenalin, Serotonin und Acetylcholin (Dudel et al., 2005; Bear et al., 2008).

All diese Ausführungen verdeutlichen eindrücklich, dass der HC ein für das Lernen und das Gedächtnis sehr wichtiges Gebiet des Säugetiergehirnes ist. Seine zahlreichen und weiten Verbindungen zu anderen Hirnarealen weisen ihm eine bedeutende Rolle bei der Verarbeitung derartiger Informationen zu. Daher befasste sich ein Teil der in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Experimente mit dem HC als zentrales Untersuchungsobjekt.

2.4 Cortex praefrontalis

Ein weiteres, zentrales Untersuchungsobjekt war neben dem HC der Cortex praefrontalis (oder engl.: prefrontal cortex = PFC)

Der frontale Cortex der Säugetiere wird in drei große Areale unterteilt:

- primärer motorische Cortex
- prämotorischer Cortex
- präfrontaler Cortex

Der PFC ist ein sehr wichtiger Bereich und das größte Areal des Säugetiergehirns, besonders des Menschen. Das Volumen des menschlichen Gehirns hat sich während der Evolution der letzten 5 Millionen Jahre verdreifacht, das Volumen des PFC jedoch versechsfacht (Dawkins, 2007).

Als Cortex praefrontalis wird der anteriore Teil des Lobus frontalis des Säugetiergehirns bezeichnet. Bereits längere Zeit hält eine Debatte an, inwieweit von der Äquivalenz der einzelnen Regionen des PFC über die Art-respektive Gattungsgrenzen hinaus gesprochen werden kann (Uylings und van Eden, 1990; Groenewegen et al., 1997; Ongur und Price, 2000; Brown und Bowman, 2002). Die Tatsache, dass der PFC in seiner Ausprägung bei verschiedenen Arten eine sehr große Variationsbreite besitzt, ist einer der wichtigsten Gründe für diese Diskussion. Jedoch lassen sich im Gehirn der Ratte einige der Regionen des PFC identifizieren, von denen die wichtigsten die folgenden sind:

- ventrolateraler präfrontaler Cortex
- medialer präfrontaler Cortex
- anteriorer präfrontaler Cortex

(Uylings und van Eden, 1990; Groenewegen et al., 1997; Ongur und Price, 2000; Rosenzweig et al., 2007).

Neben dieser Einteilung gibt es auch noch weitere, die sich nach anderen Arealen dieses Cortex richten (orbitofrontaler, ventromedialer, dorsolateraler, anteriorer oder ventral cingulater präfrontaler Cortex) (Kandel et al., 1995; Anderson, 2007; Rosenzweig et al., 2007; Bear et al., 2008; Gluck et al., 2008).

Die anatomischen Eingänge des PFC (Barbas, 1995) kommen aus den Assoziationsarealen sämtlicher sensorischer Systeme, wobei die so übertragenen Informationen bereits relativ komplex verarbeitet worden sind. Weitere wichtige Afferenzen erreichen den PFC aus der Amygdala und dem HC. Somit gelangen in den PFC emotionsgetönte und gedächtnisrelevante Informationen. Ein anderer wichtiger Eingang sind die dopaminergen Projektionen aus dem Mittelhirn. Der PFC erhält neben den Basalganglien die stärksten dopaminergen Projektionen. Die Afferenzen aus dem Zwischenhirn entstammen zum überwiegenden Teil den anterioren thalamischen Kernen und dem Nucleus mediodorsalis (Groenewegen et al., 1997; Anderson, 2007; Rosenzweig et al., 2007; Bear et al., 2008).

Die Efferenzen des PFC projizieren u.a. in verschiedene Subareale des Motorcortex sowie zu den Basalganglien. Über den direkten Einfluss auf den Motorcortex und die eher indirekte Kontrolle des extrapyramidalen Systems hat der PFC die Möglichkeit, motorische Programme zu beeinflussen. Eine weitere wichtige Projektion führt zu den dopaminergen Zielzellen des Mittelhirns. Dadurch ist es möglich, dass der PFC seine eigene dopaminerge Innervation kontrollieren kann (Groenewegen et al., 1997; Anderson, 2007; Rosenzweig et al., 2007; Bear et al., 2008).

Läsionen im PFC führen nur äußerst selten zu motorischen und sensorischen Defiziten. Die Ausfälle liegen eher in der subtilen Ausprägung komplexerer kognitiver Verhaltensweisen. Deren Planung sowie die Ausbildung der Persönlichkeit insbesondere bezüglich eines moderaten Sozialverhaltens sind ebenfalls eng mit einer korrekten Funktion dieses Hirnabschnittes verbunden. Der PFC hat hauptsächlich eine ausführende Funktion. Er ermöglicht sehr wahrscheinlich die Differenzierung bei Konflikten, z.B. die Entscheidung zwischen gut und schlecht, gefährlich und ungefährlich, gleich und unterschiedlich. Desweiteren scheint der PFC die zukünftigen Konsequenzen gegenwärtigen Verhaltens abzuwägen bzw. aktionsbasierte Erwartungen zu ermitteln. All diese vermuteten oder nachgewiesenen Funktionen beruhen auf Untersuchungen an Patienten, deren PFC durch mechanische oder chemische Einflüsse teils oder ganz zerstört wurde (Anderson, 2007).

Sehr zahlreich sind die Verbindungen zwischen dem PFC und dem aus dem Hirnstamm aufsteigenden retikulären Aktivierungssystem sowie dem limbischen System (Amygdala, HC). Daher hängt die Funktion des PFC von Informationen aus tieferen Strukturen des Gehirns ab, die emotionale Eigenschaften wie Schmerz, Vergnügen, Angst, Aggression, Sexualverhalten emulieren und kontrollieren. Der PFC trifft dann die Entscheidung über die zukünftige Verhaltensweise. Untersuchungen an Patienten mit präfrontalen Verletzungen zeigten, dass der PFC, wenn er korrekt arbeitet, u.a. die mentale Kontrolle über die Entscheidung hat, ob es sich lohnt, eine kleinere Belohnung sofort anzunehmen oder auf eine größere, potentielle Belohnung zu warten und hinzuarbeiten. Aber auch Konflikte zwischen zwei potentiellen Reaktionen, wie Flucht oder Angriff, und die daraus resultierende Übersprungshandlung liegen wohl in seinem Verantwortungsbereich (Anderson, 2007; Rosenzweig et al., 2007; Gluck et al., 2008).

In neueren Arbeiten wird immer wieder auf den Zusammenhang zwischen Abweichungen im korrekten Funktionieren der neuronalen Verbindungen im PFC und mit anderen Hirnarealen und Depressionen sowie dem Missbrauch von Drogen hingewiesen (Rebec und Sun, 2005; Peterson et al., 2006; Drevets et al., 2008; Putnam und McSweeney, 2008).

Der mediale PFC der Ratte ist notwendig für ein sich wechselnden Umweltbedingungen anpassendes Verhalten (Ragozzino et al., 1999; Birrell und Brown, 2000; Stefani und Moghaddam, 2006). Aber auch bei Arbeitsgedächtnisprozessen scheint die Beteiligung des PFC zwingend notwendig (Murphy et al., 1996b; Zahrt et al., 1997; Kesner, 2000; Floresco und Phillips, 2001).

Es liegen zahlreiche Untersuchungen vor, die von einer im PFC positionierten Anwendung von Strategien und deren Änderungen berichten (u.a.: Fuster, 2000; Robbins, 2000). Diese Arbeiten legen die Vermutung nahe, dass der PFC auch bei den Verhaltensversuchen der hier vorgestellten Untersuchung eine wichtige Rolle bei der kognitiven Verarbeitung der dabei gesammelten Informationen spielt.

Der PFC ist ein für das Lernen und das Gedächtnis wichtiges Areal des Säugetiergehirns. Daher konzentriert sich ein Teil der Experimente der vorliegenden Arbeit auf dieses Hirngebiet. Genauer betrachtet, befasst sich ein Teil der Versuche dieser Untersuchung mit den verhaltensabhängigen biochemischen Vorgängen im medialen PFC während des Lernens eines räumlichen Verteilungsmusters. Diese Experimente ziehen somit die Verbindung zwischen den Vorgängen im HC, als einer der ersten Stationen der Informationsverarbeitung beim Lernen, und dem PFC, dem Ort höherer kognitiver Prozesse.

2.5 Synapsen und LTP

Gedächtnis und Lernen sind auf neuronaler Ebene abhängig von den Vorgängen an den Verbindungsstellen des neuronalen Netzwerkes, den Synapsen. Der Hauptteil der vorliegenden Untersuchung beschäftigt sich mit den Konzentrationen der extrazellulären Neurotransmitter und damit mit den durch aktivierte Synapsen freigesetzten Botenstoffen.

Ursache der aktivitätsabhängige Änderung der Stärke der synaptischen Übertragung (synaptische Plastizität) können sowohl Veränderungen der Physiologie als auch der Morphologie der Synapse sein. Die kurzzeitigen Effekte (Kurzzeitgedächtnis) sind in der Hauptsache Folge physiologischer Mechanismen, die primär auf die Ionenströme der Membranen wirken. Die langfristigen Effekte (Konsolidierung; Langzeitgedächtnis) sind Folge von Umbauprozessen in der Zellmorphologie, z.B. der Neubildung synaptischer Kontakte (Dudel et al., 2005; Rosenzweig et al., 2007; Bear et al., 2008). Bei einer synaptische Übertragung wird die präsynaptische Endigung durch die hier ankommenden Aktionspotentiale aktiviert. Diese lösen die Freisetzung von Transmittern in den synaptischen Spalt aus. Die Transmitter binden an entsprechende Rezeptoren der postsynaptischen Zellmembran. Häufig besteht die Antwort der Postsynapse nicht in einem Aktionspotential, da die auslösenden Reize, die Anzahl bzw. die Häufigkeit der sich an die Rezeptoren pro Zeiteinheit bindenden Transmitter zu gering ist, um eine solche Reaktion auszulösen. Ein einzelnes präsynaptisches Aktionspotential kann jedoch an einem postsynaptischen Neuron eine unterschiedlich große Änderung des Membranpotentials bewirken. Um so größer diese Änderung ist, desto stärker ist die Übertragung (Kandel et al., 1995; Dudel et al., 2005; Rosenzweig et al., 2007; Bear et al., 2008).

Synaptische Plastizität kann einzeln in der Prä- wie in der Postsynapse aber auch gleichzeitig in beiden auftreten. In der Präsynapse kann sich dabei z.B. die Anzahl der pro Aktionspotential freigesetzten Transmittermoleküle bzw. die

Geschwindigkeit der Wiederaufnahme der Neurotransmitter in die präsynaptische Zelle oder deren Deaktivierung im synaptischen Spalt verändern. In der Postsynapse kann die synaptische Plastizität durch die Größe der Antwort auf eine definierte Menge von Transmittermolekülen variieren. Das wird möglich durch eine Veränderung der Anzahl der postsynaptischen Transmitter-Rezeptoren, durch die Modifikation dieser Rezeptoren oder durch die Aktivität von Enzymen, die das Verhalten der Neurotransmitter im synaptischen Spalt verändern (Dudel et al., 2005; Rosenzweig et al., 2007).

1966 wurde die Langzeitpotenzierung (long-term potentiation; LTP) von Terje Lømo bei Experimenten mit narkotisierten Kaninchen entdeckt (Lømo, 2003). Er fand heraus, dass ein einzelner elektrischer Stimulationspuls im Tractus perforans ein exzitatorisches postsynaptisches Potential (EPSP) im Gyrus dentatus des HC auslösen konnte. Eine hochfrequenter Stimulation rief ein lang anhaltendes, größeres EPSP hervor. Diesen Vorgang der lang andauernde Verstärkung der synaptischen Übertragung bezeichneten Bliss und Lømo (1973) als LTP. Sie ist zumindest ein gutes Modell dafür, wie das Lernen und die Ausprägung des Gedächtnisses auf neuronaler Ebene funktionieren kann. Möglicherweise ist die LTP als Modell sogar ein sehr getreues Abbild der Realität. Denn zahlreich sind die wissenschaftlichen Arbeiten, die das Modell LTP von allen Seiten untersuchten und die Qualität dieses Modells und seine Wirklichkeitsnähe bestätigen konnten. Ob die LTP nur unter den bisher angewandten Experimentierbedingungen ein funktionierendes Modell für das Lernen darstellt oder tatsächlich reale Vorgänge im Gehirn beim Lernen korrekt wiedergibt, bleibt strittig (Abe, 2001).

Die synaptische Übertragung kann sowohl verstärkt (engl.: potentiation) wie auch abgeschwächt (engl.: depression) werden. Man unterscheidet nach der Dauer der Änderung der synaptischen Stärke zwischen kurzzeitiger (engl.: short-term) und lang andauernder Plastizität (engl.: long-term). Das ergibt vier verschiedene Stärkeänderungen: short-term depression (STD), long-term depression (LTD), short-term potentiation (STP) und die long-term potentiation (LTP). Die STD/STP umfassen einen Zeitraum von einigen Millisekunden bis wenigen Minuten. Die LTD/LTP reichen von vielen Minuten bis Stunden (Monaten), möglicherweise lebenslang (Rosenzweig et al., 2007; Bear et al., 2008).

Als ein funktionierendes Modell für das Lernen und die Gedächtnisbildung ist die hippocampale LTP heute weithin anerkannt (Bliss und Gardner-Medwin, 1973; Bliss und Lømo, 1973; Matthies, 1974 und 1989; Matthies et al., 1990; Abraham und Williams, 2003; Whitlock et al., 2006; Pastalkova et al., 2006; Miyamoto, 2006). Wenigstens (Raymond, 2007) zwei verschiedene Phasen der LTP können unterschieden werden: Zum einen die Proteinbiosynthese unabhängige early-LTP, deren Potenzierung bis zu 4 h anhält, zum anderen die Proteinbiosynthese abhängige late-LTP, deren Potenzierung länger als 4 h anhält (Krug et al., 1984; Frey et al., 1988). Beide Phasen der LTP können elektrophysiologisch im HC durch eine schwache oder starke tetanische Stimulation des Tractus perforans ausgelöst werden, wobei stärkere Tetani eine hippocampale late-LTP induzieren (Otani und Abraham, 1989; Reymann und Frey, 2007; Chardonnet et al., 2008). Zusätzlich zur glutamatergen Rezeptoraktivierung

erfordert eine lang anhaltende LTP eine heterosynaptische Aktivierung. Einige der für die Ausbildung einer late-LTP im HC notwendigen Neuromodulatoren wurden bereits identifiziert. In den apikalen Dendriten der CA1-Region ist eine dopaminerge Rezeptoraktivierung notwendig (Frey et al., 1991). Im Gyrus dentatus ist eine β -adrenerge und eine muscarinerge Aktivierung Voraussetzung für die Ausbildung einer late-LTP (Seidenbecher et al., 1997; Frey et al., 2001; Straube et al., 2003; für einen Review siehe Frey und Frey, 2008).

Verhaltensstimuli, wie Stress (Seidenbecher et al., 1995, 1997; Korz und Frey, 2003 und 2005; Ahmed et al., 2006) oder räumliches Lernen (Uzakov et al., 2005) sind in der Lage, eine early-LTP in eine late-LTP zu verlängern. Dass die early-LTP *in vivo* proteinbiosyntheseabhängig in eine late-LTP umgewandelt werden kann, wurde schon früh gezeigt (Matthies et al. 1986). Dies geschieht durch einen zweiten heterosynaptischen Eingang (Seidenbecher et al. 1997; Frey et al. 2001; Straube et al. 2003). Die Auslösung der late-LTP setzt, im Gegensatz zur kurzzeitigen Potenzierung (STP) (Frey und Morris 1997), eine Markierung (engl.: tag) an die potenzierte Synapse. Diese profitiert von den Proteinen, deren Synthese durch den modulatorischen, heterosynaptischen Input ausgelöst wurde. Somit wird die Umwandlung der early-LTP in die late-LTP durch die Neusynthese der plastizitätsrelevanten Proteine an der markierten Synapse ermöglicht. Diese Proteinbiosynthese ist notwendig für verstärkende Prozesse. Die Aufrechterhaltung von Erinnerungen bedarf heterosynaptischer Aktivierungen (Bailey et al., 2000; Frey und Frey, 2008). Die late-LTP ist wohl somit ein Korrelat für lang anhaltende Erinnerungen, während die early-LTP eher kürzere Eindrücke repräsentieren könnte (Bach et al., 1999; Jones et al., 2001).

Auf der zellulären Ebene vermitteln auf der Zellmembran befindliche Rezeptoren die Weitergabe von Informationen von Zelle zu Zelle. Die Neurotransmitter Acetylcholin, Dopamin, Noradrenalin und Serotonin vermitteln über die Stimulation ihrer Rezeptoren das Verschließen von Kalium-Kanälen und bewirken dadurch ebenfalls eine Hyperpolarisation der entsprechenden Zelle. Hyperpolarisierte Neuronen reagieren empfindlicher auf die Stimulation mit Glutamat (Rosenzweig et al., 2007; Gluck et al., 2008). Besonders wichtig sind für die Ausprägung einer LTP die NMDA- (N-Methyl-D-Aspartat-) und AMPA- (alpha-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure-) Rezeptoren. NMDA- und AMPA-Rezeptoren bilden zusammen mit den Kainat-Rezeptoren eine Untergruppe der Glutamatrezeptoren. Sie bilden Ionenkanäle in der Zellmembran der – vorzugsweise – Postsynapse. Beide besitzen verschiedene Bindungsstellen, an die unterschiedliche Liganden andocken können. Durch diese Bindungen verändern sich die räumlichen Strukturen der Rezeptoren. Das führt zu Änderungen in der Durchlassfähigkeit der Ionenkanäle. Beide Rezeptoren haben neben Bindungsstellen für ihren wichtigsten Liganden Glutamat, auch Andockstellen für Substanzen, die diese Rezeptoren aktivieren (Agonisten), wie z.B. die jeweils namensgebenden N-Methyl-D-Aspartat und alpha-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure. Doch es existieren auch Bindungs-

stellen für Antagonisten, also Substanzen, die die Aktivität einschränken oder gar die Aktivierung der Rezeptoren verhindern können.

AMPA-Rezeptoren vermitteln an der Postsynapse den schnellen Anteil des Signals. D.h., ihre Aktivierung ruft eine Leitfähigkeitsänderung der postsynaptischen Membran von wenigen Millisekunden hervor. Dagegen verändert die Aktivierung der NMDA-Rezeptoren die Leitfähigkeit für mehrere hundert Millisekunden. Die Permeabilität dieser Rezeptoren für Kalzium-Ionen ist etwa fünfzigmal höher als die der AMPA-Rezeptoren. Beim Ruhemembranpotential (< -30 mV) ist die Leitfähigkeit der NMDA-Rezeptoren allerdings sehr gering, da dann die Ionenkanäle von außen durch Magnesium-Ionen blockiert werden. Um die Blockade zu beenden, ist eine mit der Glutamat-Stimulation des NMDA-Rezeptors zusammenfallende lokale Depolarisation der Membran notwendig. Gleichzeitige oder vorausgehende Glutamat-Stimulation von AMPA-Rezeptoren erlaubt den Einstrom von Natrium-Ionen und ermöglicht so diese Depolarisation. Das bedeutet, dass erst bei ausreichender Depolarisation der postsynaptischen Membran die NMDA-Rezeptoren zur weiteren Depolarisation der Postsynapse und damit zur weiteren Signalübertragung beitragen. Da die NMDA-Rezeptoren somit nur bei gleichzeitiger prä- und postsynaptischer Aktivität leitfähig sind (besonders für Ca^{2+} -Ionen), sind sie ideale Koinzidenzdetektoren.

Kommt es nun zu einer LTP an einer bestimmten Synapse, finden dort u.a. folgende Vorgänge statt, die letztendlich zu einem sich selbst verstärkenden Kreislauf führen können:

Die Erregung der postsynaptischen Membran durch das freigesetzte Glutamat führt zu deren Depolarisation durch die AMPA-Rezeptoren. Es bildet sich ein EPSP aus.

Die durch die Depolarisation stark vergrößerte positive Ladung der postsynaptischen Zellmembran bewirkt die Abstoßung des Mg^{2+} -Ions auf dem NMDA-Rezeptor. Durch den nun offenen Kanal des NMDA-Rezeptors strömt verstärkt Kalzium in die Postsynapse. Die intrazelluläre Erhöhung der Konzentration von Ca^{2+} aktiviert in der Postsynapse die Proteinkinase C sowie Ca^{2+} -Calmodulin-abhängige Kinasen. Dies führt u.a. zu einem verstärkten Einbau von glutamatergen AMPA- und Kainat-Rezeptoren. Bereits existierende AMPA-Rezeptoren werden durch die CaMKII (Ca^{2+} -Calmodulin-abhängige Proteinkinase II) phosphoryliert bzw. mobilisiert (Malenka und Nicoll, 1999). Auf diese Weise wird die Leitfähigkeit erhöht und die postsynaptische Membran für Glutamat sensitiviert (Rao und Finkbeiner, 2007; Bloodgood und Sabatini, 2008). Die gleichzeitige Erregung der Prä- wie auch der Postsynapse ist nicht unbedingt der Normalfall und kann darauf hinweisen, dass die zwischen diesen Nervenzellen befindliche Synapse häufiger als andere zur Informationsübertragung genutzt wird. NMDA-Rezeptoren postsynaptischer Membranen, die an solchen häufig genutzten Verbindungen liegen, können theoretisch durch die ständige Depolarisation der postsynaptischen Membran von den Mg^{2+} -Ionen deblockiert werden. Dadurch werden diese Bahnen besser leitfähig als alternative Verschaltungen. Diese Leitfähigkeitserhöhung des NMDA-Rezeptors könnte

eines der wesentlichen Elemente für die Induktion synaptischer Plastizität sein und damit einen molekularen Mechanismus für das Lernen und das Gedächtnis darstellen.

Auch der Einfluss von Neurotransmittern, insbesondere von Dopamin, auf die NMDA- und AMPA-Rezeptoren wurde bereits untersucht. So wird die NMDA-Rezeptor-induzierte Erregung der Postsynapse durch Aktivierung von Dopamin-D2-Rezeptoren abgeschwächt und durch Aktivierung von DA D1-Rezeptoren verstärkt. Die Dopamin-D1-Rezeptoren können synergistisch die exzitatorischen Einflüsse des Glutamat auf die NMDA-Rezeptoren erhöhen und damit die Zeit der geöffneten NMDA-Kanäle verlängern und so die Stärke des Kalziumsignals vergrößern (Wirkner et al., 2004). Die Aktivierung des Dopamin-D1-Rezeptor-Proteinkinase A-Signalwegs vergrößert die Mobilisierung der AMPA- und NMDA-Rezeptoren zur Zelloberfläche, auch dadurch kann die LTP gefördert werden (Dunah et al., 2004; Mangiavacchi und Wolf, 2004; Wolf et al., 2004). Die Aktivierung der DA D1-Rezeptoren ist auch für die Stimulation der cAMP-Formation erforderlich und nachfolgend für die cAMP-abhängige Proteinkinase, die Phosphorylation von CREB und die Gentranskription für die Konsolidierung von Gedächtnisspuren (Fukunaga et al., 1996; Tan et al., 1994; Bailey et al., 2000). Heterosynaptische Aktivierung kann durch unterschiedliche afferente Projektionen des HC erfolgen. Diese Afferenzen stammen hauptsächlich aus den Subkortikalen Nuclei: GABAerge (γ -Aminobutyric-acid) (Peterson et al., 1987; Miettinen und Freund, 1992), nicotinerge/muscarinerge (Acetylcholin) (Shute und Lewis, 1966; Frotscher und Léránth, 1985) und glutamaterge Afferenzen (Colom et al., 2005; Bland et al., 2007) vom Septum mediale. Weiterhin wurde eine absteigende serotonerge Verbindung vom Nucleus raphe zum HC nachgewiesen (Freund, 1992; Léránth und Hajszan, 2007). Die noradrenergen Projektionen des HC stammen ausschließlich (Loy et al., 1980) aus dem Locus coeruleus (Moore und Bloom, 1979; Berridge und Waterhouse, 2003). Dopaminerge Projektionen erhält der HC aus mesolimbischen Strukturen wie der Substantia nigra und der VTA (Ventrales Tegmentales Areal) (Carter und Fibiger 1977; Scatton et al. 1980; Swanson 1982; Gasbarri et al. 1994a und 1994b).

Die serotonerge Innervation des HC hat einen wichtigen Einfluss auf die elektrische Aktivität des HC und im Zusammenhang mit Depression auf die synaptische Plastizität. Der typische Effekt von Serotonin auf die Neuronen des HC ist eine durch die Erhöhung der K^+ -Ionenkonzentration ausgelöste Hyperpolarisation. Jedoch wurde auch von durch Serotonin ausgelösten Depolarisationen berichtet (Freund et al., 1990).

Die Integrität des noradrenergen Systems wurde als sehr wichtig für die Erkundung neuer Umgebungen (Delini-Stula et al., 1984), ebenso für die Wiederherstellung des Gedächtnisses (Devauges und Sara, 1991; Murchison et al., 2004), für die Rekonsolidierung (Roullet und Sara, 1998) und für die Verstärkung der hippocampalen LTP (Izquierdo und Medina, 1995; Seidenbecher et al., 1997) erkannt.

Wenn auch die Verteilung der β -Adrenorezeptoren in allen Gebieten des HC nahezu gleich ist, so ist doch die Konzentration von Noradrenalin im Gyrus dentatus zweimal so hoch wie im restlichen HC (Crutcher und Davis, 1980). Im Vergleich mit der sehr dichten noradrenergen Innervation sind die dopaminerge Projektionen zum HC nur gering in der Anzahl und zudem noch diffus verteilt (Swanson, 1982). Im Gyrus dentatus ist Dopamin in die Depotenzierung verwickelt und dient zum Erhalt synaptischer Reliefs in kürzlich potenzierten Verbindungen (Léránth und Hajszan, 2007). Dopamin D2 Rezeptoren im Gyrus dentatus spielen eine wichtige Rolle in der Regulation der Depotenzierung und der LTP (Manahan-Vaughan und Kulla, 2003).

Die Aktivierung der verschiedenen Neurotransmittersysteme, die in die Modulation der LTP involviert sind, wurde bisher hauptsächlich pharmakologisch untersucht. Dies geschah durch Applikation selektiver Rezeptoragonisten oder -antagonisten (Straube und Frey, 2003; Williams et al., 2006). Es gibt bisher nur sehr wenige Informationen über die Konzentrationen und die zeitliche Dynamik der extrazellulären Neurotransmitterniveaus innerhalb des HC nach dessen Stimulation über den Tractus perforans durch verschiedene Reizprotokolle.

Deshalb befasst sich ein Teil der vorliegenden Untersuchung mit dem Einfluss unterschiedlicher Stärken der elektrophysiologischen Stimulation des HC über den Tractus perforans auf die Konzentration der extrazellulären Niveaus von Dopamin, Noradrenalin und Serotonin im HC der nicht anästhetisierten Ratte.

2.6 Neurotransmitter

Als Neurotransmitter wird eine heterogene Gruppe von Stoffen bezeichnet, die an der Synapse Informationen von einer Nervenzelle zur anderen übertragen. Aktionspotentiale veranlassen in der Präsynapse die Freisetzung dieser chemischen Botenstoffe aus den synaptischen Vesikeln. Durch die Fusion der Vesikelmembran mit der Membran des präsynaptischen Endes der Nervenzelle gelangen die Neurotransmitter in den synaptischen Spalt und diffundieren dort entlang des Konzentrationsgradienten zu den Rezeptoren der postsynaptischen Membran der nachfolgenden Nervenzelle. Die Botenstoffe können auf verschiedene Weise deaktiviert oder abgebaut werden. Dies kann auch schon im synaptischen Spalt geschehen. So werden die Monoamin-Neurotransmitter (Dopamin, Noradrenalin, Serotonin) nach ihrer Freisetzung durch die Monoaminoxidase desaminiert und damit deaktiviert. Dies geschieht in Konkurrenz zur Affinität der Neurotransmitter zu ihren postsynaptischen Rezeptoren. Ebenfalls in Konkurrenz dazu steht die Inaktivierung der Neurotransmitter durch die Wiederaufnahme in die Präsynapse (Kandel et al., 1995; Dudel et al., 2005; Bear et al., 2008).

biogene Amine	Neuropeptide	Aminosäuren	lösliche Gase
Acetylcholin Adrenalin Dopamin Noradrenalin Serotonin Dimethyltryptamin Histamin	Endorphine Enkephaline Substanz P Somatostatin	Glutamat Glycin γ -Aminobuttersäure (GABA) Aspartat	Stickstoffmonoxid (NO) Kohlenmonoxid (CO)

Tabelle 1. Übersicht der wichtigsten Neurotransmitter und ihrer chemischen Zugehörigkeit.

Die bekannten Neurotransmitter gehören unterschiedlichen chemischen Gruppen an. Die wichtigsten sind in Tabelle 1 dargestellt.

Biogene Monoamine, wie Dopamin, Noradrenalin und Serotonin, enthalten eine Aminogruppe ($-\text{NH}_2$), die über einen Ethylrest ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$) mit einem aromatischen Ring verbunden ist. Alle Monoamine sind Derivate aromatischer Aminosäuren wie Tyrosin für Dopamin und Noradrenalin und Tryptophan für Serotonin (Kandel et al., 1995; Dudel et al., 2005; Bear et al., 2008).

Neurotransmitter werden auch als exzitatorisch oder inhibitorisch beschrieben. Dies ist, im logischen Sinne, ein wenig irreführend. Die einzige Aktion, die ein Neurotransmitter an der Zielzelle durchführen kann, ist, einen einzelnen oder mehrere Arten von entsprechenden Rezeptoren zu aktivieren. Bis heute wurde noch kein Mechanismus nachgewiesen, bei dem ein Neurotransmitter durch die Verbindung mit einem Rezeptor diesen inaktiviert. Lediglich die weiteren, nachfolgend ablaufenden Reaktionskaskaden, die durch den Kontakt des Neurotransmitters mit dem Rezeptor ausgelöst wurden, bewirken ein verstärktes (exzitatorisch) oder verringertes (inhibitorisch) Feuern der postsynaptischen Zielzelle. Für die Art der Reaktion der Zielzelle spielen weitere Faktoren, wie die Anzahl der registrierten Neurotransmittermoleküle pro Zeiteinheit und die Anzahl der aktivierten Rezeptoren pro Zeiteinheit, eine wichtige Rolle (Rosenzweig et al., 2007; Gluck et al., 2008; Bear et al., 2008).

Die bedeutendsten Neurotransmittersysteme des Säugetiergehirns sind das noradrenerge, das dopaminerge, das serotonerge und das cholinerge System. Da mit der bei der Auswertung der Experimente benutzten HPLC-Anlage kein Acetylcholin nachgewiesen werden konnte, wurden in der vorliegenden Untersuchung nur die Konzentrationen von Dopamin, Noradrenalin und Serotonin gemessen. Diese konnten gleichzeitig bestimmt werden.

2.6.1 Dopamin

Ein wichtiger Neurotransmitter ist das aus der Gruppe der Katecholamine stammende biogene Amin Dopamin (Abbildung 2.1).

Dopamin (DA) ist ein Zwischenprodukt der Biosynthese von Adrenalin. Die Aminosäure Tyrosin wird durch die Tyrosin-Hydroxylase in L-DOPA (Dihydroxy-

phenylalanin) umgewandelt und dieses durch das Enzym AADC (Aromatische-L-Aminosäure-Decarboxylase) in DA (Dudel et al., 2005; Bear et al., 2008).

DA spielt eine wichtige modulatorische Rolle im Gehirn der Säugetiere. DA-freisetzende Neuronen beeinflussen das Verhalten des Tieres durch das Ausüben modulatorischer Effekte auf die Informationsübertragung durch neuronale Kreise, die funktionell deutlich getrennte kortikale Areale mit spezifischen Regionen des Striatums in parallelen kortiko-striato-thalamo-kortikalen Pfaden verbinden. DA unterstützt die Umprogrammierung des Gehirns durch selektive Verstärkung der Gewichtung von Synapsen, die um den Zeitpunkt des Verhaltensreinforcement aktiv sind (Wickens et al., 1996).

Dopaminerge Neuronen befinden sich im Zentralnervensystem vor allem im Mittelhirn. Vom Mittelhirn verlaufen wichtige dopaminerge Projektionen ins Zwischenhirn und ins Endhirn. Die dafür verantwortlichen Populationen von Neuronen befinden sich in der Substantia nigra, den retro-rubralen Regionen und dem ventralen Tegmentum. DA ist im Gehirn an der Steuerung des motorischen Systems, des Belohnungssystems und des endokrinen Systems beteiligt. Es spielt aber auch bei kognitiven Vorgängen wie auch beim Auslösen von Übelkeit und Erbrechen eine Rolle (Dreher et al., 2008). Besonders letzteres wird häufig im Zusammenhang mit Drogenkonsum berichtet. So kommt es nach der Applikation verschiedener Drogen zur Ausschüttung von GABA, DA, Serotonin und Endorphinen. Weiterhin blockiert beispielsweise Kokain die Wiederaufnahme des DA in die präsynaptische Nervenzelle (Goldstein et al., 2009). Das längere Verbleiben des DA im synaptischen Spalt führt daher auch zu einer erhöhten Häufigkeit der Aktivierung postsynaptischer DA-Rezeptoren (de Almeida et al., 2005; Frederick und Stanwood, 2009). Das ist möglicherweise die Ursache des durch die Drogeneinnahme erhofften Hoch- bzw. Glücksgefühls. Verringert sich dann der Einfluß der Droge, verfällt die Hochstimmung sehr rasch, da der Körper versucht, die drastisch erhöhte Konzentration von DA-Molekülen im synaptischen Spalt schnell wieder auf ein normales Gleichgewicht zu reduzieren (Howell und Kimmel, 2008; Volkow et al., 2008, Volkow et al., 2009). Bei einer exzessiven Zufuhr von Drogen wird eine weitere Schutzreaktion aktiviert. Da auch die postsynaptische Rezeptorenanzahl einem Regelmechanismus zwischen angebotenen, d.h. postsynaptisch ankommenden und dort erwarteten Neurotransmittermolekülen unterliegt, wird die Anzahl der Rezeptoren verringert. Daraus folgt, dass eine immer größere Drogenmenge nötig wird, um die gewünschte Qualität der Folgen zu erreichen. Auf diese Weise läßt sich auch die Rolle der Störungen im DA-Spiegel bei einem Teil der Entzugserscheinungen erklären. DA wird eine sehr wichtige Rolle bei Suchterkrankungen und deren Folgen zugeschrieben (Rosenzweig et al., 2007; Bear et al., 2008).

DA ist kein exzitatorischer oder inhibitorischer Neurotransmitter sondern wirkt in erster Linie als Neuromodulator (Seamans und Yang, 2004).

DA ist jedoch auch ein Botenstoff in einigen Strukturen des vegetativen Nervensystems. Es reguliert hier die Durchblutung innerer Organe, besonders die Steuerung der Niere (Dudel et al., 2005; Rosenzweig et al., 2007; Bear et al., 2008).

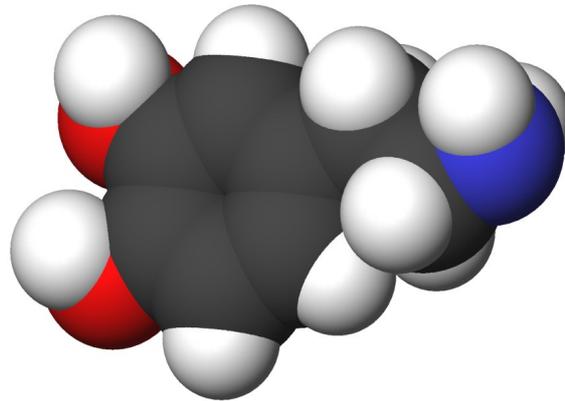


Abbildung 2.1. 3D-Kalottenmodell eines Dopaminmoleküls. Atome des Kohlenstoffs sind grau, des Wasserstoffs weiß, des Sauerstoffs rot und des Stickstoffs blau dargestellt.

Die Auswirkungen der Ausschüttung von DA durch ein präsynaptisches Terminal auf die postsynaptische Zelle hängt von dem dort vorhandenen DA-Rezeptortyp ab. Gegenwärtig unterscheidet man fünf DA-Rezeptoren (D1-D5). Bindet das freigesetzte DA an D1- oder D5-Rezeptoren, wird das postsynaptische Neuron depolarisiert. Es wird ein exzitatorisches postsynaptisches Potential gebildet. Eine Bindung des DA an Rezeptoren der Typen D2-D4 (D2-Gruppe) verursacht eine Hyperpolarisation der Postsynapse. Es entsteht ein inhibitorisches postsynaptisches Potential (Dudel et al., 2005; Rosenzweig et al., 2007; Bear et al., 2008). Es konnte gezeigt werden, dass aus D1- und D2-Rezeptoren gebildete Heterodimere eine Aktivierung des Phospholipase-Signalweges und somit einen Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration bewirken können (Lee et al., 2004).

Im Gehirn existieren vier wichtige dopaminerge Informationswege (Dudel et al., 2005; Rosenzweig et al., 2007; Bear et al., 2008; Gluck et al., 2008):

1. Das tuberoinfundibuläre System, dessen Neuronen vom Nucleus arcuatus zum Hypophysenvorderlappen projizieren und dort die Freisetzung des Hormons Prolactin hemmen.
2. Das mesokortikale DA-System projiziert vom ventralen tegmental Areal zu kortikalen Gebieten, einschließlich der präfrontalen, parietalen und temporalen Kortices. Diese DA-Projektionen modulieren neuronale Kreise, die für ihre wichtige Rolle bei einer Vielzahl ausführender Funktionen, einschließlich der motorischen Kontrolle, der Aufmerksamkeit und des Arbeitsgedächtnisses, bekannt sind (Goldman-Rakic, 1995). Die Aktivierung der DA D1-Rezeptoren sind verantwortlich für gedächtnisbezogene andauernde Aktivierung von Neuronen im PFC. Die DA D2-Aktivierung moduliert selektiv neuronale Aktivitäten, die mit gedächtnisgeführten motorischen Aktivitäten assoziiert sind (Wang et al., 2004).
3. Das nigrostriatale DA-System verläuft von der Substantia nigra im Mesencephalon zum Striatum dorsalis (Nuclei caudatus und putamen). Da die Basalganglien essentiell bei der Steuerung von Bewegungen sind, wird dieser Verbindung eine wesentliche Rolle bei den dyskinetischen

Symptomen des Morbus Parkinson sowie den häufig auftretenden extrapyramidalen Störungen als Nebenwirkungen von Neuroleptika zugeschrieben (Anderson, 2007; Bear et al., 2008; Gluck et al., 2008). Das nigrostriatale DA-System ist an den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Vorgängen wahrscheinlich wenig beteiligt.

4. Das mesolimbische System hat seinen Ursprung ebenfalls im ventralen Tegmentum. Es projiziert vor allem zum limbischen System (Amygdala, Corpus mamillare, Fornix, HC). Dieses System gilt als das Belohnungssystem, bei dessen medikamentöser Funktionsreduktion Patienten lust- und antriebslos werden (Anhedonie bei Morbus Parkinson). Dieses System wird auch von der intrakraniellen Selbststimulation genutzt, mittels der sich beispielsweise Mäuse bis zur Erschöpfung über implantierte Elektroden selbst stimulieren. Die Menge des in der Amygdala vorhandenen DA korreliert direkt mit der Größe der Angst des betreffenden Individuums (Kienast et al., 2008). Die Feuerrate der mesolimbischen DA-Neuronen vergrößert sich als Antwort auf eine unerwartete Belohnung und verringert sich, wenn eine vorauszusehende Belohnung versäumt wird (Fiorillo et al., 2003; Schultz, 1998).

2.6.2 Noradrenalin

Ein weiterer wichtiger Neurotransmitter ist das aus der Gruppe der Katecholamine stammende biogene Amin Noradrenalin (Abbildung 2.2).

Der Großteil des Noradrenalins (NA) des Gehirns wird im Locus coeruleus im Mesencephalon synthetisiert. Von hier projizieren Nervenzellen in fast alle Hirnareale. Ein weitere Bildungsort ist das laterale tegmentale Areal (Anderson, 2007; Bear et al., 2008; Gluck et al., 2008).

NA wird ebenfalls wie DA aus L-Tyrosin synthetisiert. Dabei wird L-Tyrosin durch die Tyrosin-Hydroxylase zu L-DOPA umgewandelt. L-DOPA wird durch die AADC (Aromatische-L-Aminosäure-Decarboxylase) zu DA katalysiert. Dieses kann durch die Dopamin- β -Hydroxylase zu NA umgewandelt werden (Dudel et al., 2005; Bear et al., 2008).

NA ist zum einen ein Neurotransmitter, zum anderen aber auch ein Hormon des Nebennierenmarks. Es wirkt vorwiegend an den Arteriolen und bewirkt durch die Aktivierung von Adrenorezeptoren eine Verengung dieser Blutgefäße und infolgedessen eine Blutdrucksteigerung (Dudel et al., 2005; Bear et al., 2008).

NA kann im synaptischen Spalt enzymatisch inaktiviert werden. Die Eliminierung des NA erfolgt hauptsächlich durch Wiederaufnahme in die präsynaptische Zelle durch aktive Mechanismen. An dieser Stelle setzen auch zahlreiche Psychopharmaka an, die depressiven Patienten verabreicht werden, um ihr Befinden zu verbessern. Es zeigte sich, dass bei dieser Patientengruppe auch die Konzentration des NA gestört sein kann und nicht nur, wie längere Zeit angenommen wurde, nur die Serotoninkonzentration. Das ist ein Beispiel für das komplexe Zusammenspiel der verschiedenen Neurotransmittersysteme (Anderson, 2007; Gluck et al., 2008; Rosenzweig et al., 2007).

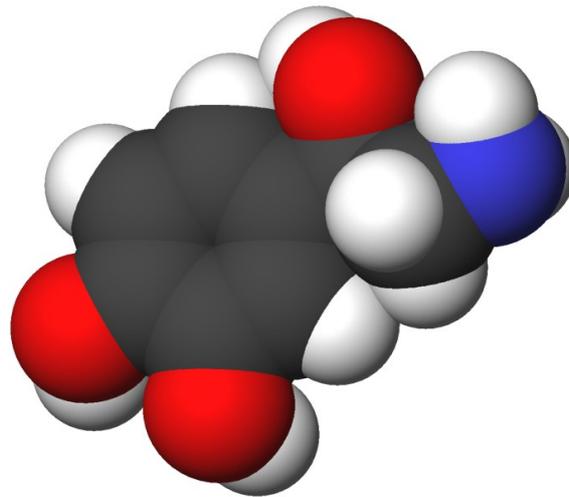


Abbildung 2.2. 3D-Kalottenmodell eines Noradrenalinmoleküls. Atome des Kohlenstoffs sind grau, des Wasserstoffs weiß, des Sauerstoffs rot und des Stickstoffs blau dargestellt.

2.6.3 Serotonin

Ein weiterer wichtiger und phylogenetisch alter Transmitter, der sich selbst bei einfachsten Lebewesen findet, ist das biogene Amin Serotonin (Abbildung 2.3). Da Serotonin (5-HT) die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren kann (Ermisch, 1978), muss es im Gehirn synthetisiert werden. Diese Synthese beginnt mit der Aminosäure L-Tryptophan. Diese wird durch die L-Tryptophan-5-Monooxygenase bzw. Tryptophan-Hydroxylase in das 5-Hydroxy-L-Tryptophan umgewandelt. Dieses wird durch die 5-Hydroxy-L-Tryptophan-Decarboxylase bzw. Aromatische-L-Aminosäure-Decarboxylase (AADC) in 5-HT umgewandelt (Dudel et al., 2005; Bear et al., 2008).

Ein Mangel an 5-HT kann durch eine stark verminderte Verfügbarkeit von L-Tryptophan im Liquor cerebrospinalis (Gehirnflüssigkeit) der Säugetiere verursacht werden. Hin und wieder wird beim Menschen die Zufuhr von Süßigkeiten thematisiert, um die Unterversorgung des Gehirns mit L-Tryptophan zu vermeiden. Dem liegt der physiologische Zusammenhang zugrunde, dass die Aufnahme von Zucker die Freisetzung des Hormons Insulin ins Blut auslöst. Das Insulin bewirkt nicht nur die Resorption des Zuckers in die Muskulatur und andere Gewebe, sondern es ermöglicht auch die Passage des L-Tryptophans durch die Blut-Hirn-Schranke. Ein erhöhter Tryptophan-Spiegel im Gehirn führt jedoch keineswegs automatisch zu mehr 5-HT, da die Synthese von 5-HT entsprechend der Aktivität der Raphe-Neuronen vom Gehirn selbst reguliert wird (Dudel et al., 2005; Anderson, 2007; Rosenzweig et al., 2007; Gluck et al., 2008).

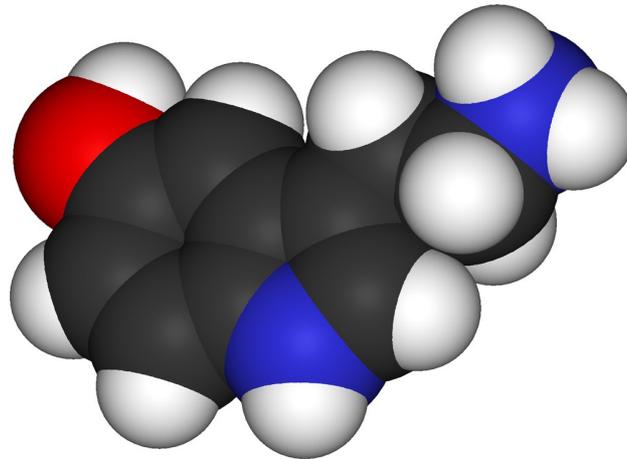


Abbildung 2.3. 3D-Kalottenmodell eines Serotoninmoleküls. Atome des Kohlenstoffs sind grau, des Wasserstoffs weiß, des Sauerstoffs rot und des Stickstoffs blau dargestellt.

In den Nuclei raphe befinden sich die Somata serotonerger Nervenzellen, deren Axone in alle Teile des Gehirns projizieren. 5-HT wird an ihren Terminals diffus als Neurohormon ausgeschüttet. Die Nuclei raphe liegen im medianen Bereich des Stammhirns zwischen der Medulla oblongata (dem verlängerten Rückenmark) und dem Mesencephalon (dem Mittelhirn) (Kandel et al., 1995; Bear et al., 2008).

An den postsynaptischen Membranen von Nervenzellen wirkt 5-HT polarisierend und somit hemmend. Durch abweichende starke Ausschüttung von 5-HT in den verschiedenen Gehirnarealen können die Nuclei raphe das globale Erregungsmuster des Gehirns beeinflussen. Diese diffuse Steuerung versetzt das Gehirn z.B. in die für den Schlaf notwendigen Zustände der Aktivitätsverteilung. Aber auch bei Stress variiert die diffuse Ausschüttung von 5-HT in den verschiedenen Hirnarealen. Im Stamm- und Zwischenhirn ist die Konzentration von 5-HT dann vermindert, in der Großhirnrinde erhöht (Anderson, 2007; Rosenzweig et al., 2007; Gluck et al., 2008).

Umstritten ist gegenwärtig, ob Depressionen und Angststörungen von einem Mangel an 5-HT im Gehirn zumindest begleitet oder gar durch diesen verursacht werden. Nachgewiesen ist jedoch, dass die Symptome dieser Störungen durch eine Erhöhung der aktuellen 5-HT-Konzentration deutlich gelindert werden kann. Diese Erhöhung erfolgt hauptsächlich durch Psychopharmaka, die die Wiederaufnahmemechanismen des 5-HT in die Präsynapse hemmen und somit die 5-HT-Konzentration im synaptischen Spalt und damit an den postsynaptischen Rezeptoren erhöhen (Dudel et al., 2005; Rosenzweig et al., 2007; Bear et al., 2008; Gluck et al., 2008).

Eine vom Normalzustand abweichende 5-HT-Konzentration wird auch von Verliebten behauptet. Eine wenigstens ausgeglichene oder leicht erhöhte Konzentration von 5-HT soll Glücksgefühle und Zufriedenheit bewirken. Dies entspräche der erwähnten antidepressiven Wirkung.

2.7 Tierisches Verhaltensmodell

Tiermodelle werden in der Regel verwendet, um allgemeingültige, auch auf andere Lebewesen, insbesondere dem Menschen, übertragbare, grundlegende Erkenntnisse zu erhalten. Dabei wird eine der experimentellen Fragestellung entsprechend geeignete Tierart gewählt. Diese besitzt zumeist eine kurze Generationsfolge, ist in der Haltung und Zucht unkompliziert und in biologisch vielfältiger Hinsicht gut dokumentiert.

Während für zellbiologische Prozesse Untersuchungen an Einzellern ausreichen können, um die grundlegenden Funktionsweisen auch komplizierterer Organismen zu verstehen, benötigt man für evolutiv später entstandene biologische Systeme, wie beispielsweise das Immun- oder Nervensystem, unbedingt mehrzellige Lebewesen. Dabei reichen beispielsweise auch für elementare neuronalen Vorgänge (z.B. der Verschaltung einzelner Nervenzellen bei Reflexen) Experimente an ursprünglicheren Tieren, wie der Meeresschnecke *Aplysia*, aus. Für die Untersuchung komplexerer Vorgänge, wie das Lernen und das Gedächtnis, ist in der als Modell verwendeten Tierart ein dem Menschen ähnliches Gehirn notwendig, dessen Funktionsweise relativ gut verstanden wird, um die Ergebnisse auch auf Vorgänge im menschlichen Gehirn übertragen zu können.

Die Experimente der vorliegenden Untersuchung wurden ausschließlich an männlichen Wanderratten, *Rattus norvegicus* (BERKENHOUT) durchgeführt. Es wurde der Albinostamm Wistar (Schönwalde) gewählt (s.a. Seite 36). Dieser Stamm wird in der biologisch-medizinischen Forschung am häufigsten verwendet. Er ist, nicht zuletzt wegen seiner Position als erste für wissenschaftliche Untersuchungen gezüchteten Variante der Ratte, die am besten untersuchte Linie der Wanderratte. Der ähnliche Aufbau der Gehirne von Mensch und Ratte prädestiniert den Nager für Untersuchungen, die zu einem besseren Verständnis der Funktionsweise des menschlichen Gehirns führen.

Um die Relevanz bestimmter Hirnstrukturen für definierte Verhaltensweisen, Lernstrategien, Gedächtnisleistungen verifizieren zu können, müssen Versuche am frei beweglichen, nicht anästhesierten Tier durchgeführt werden. Auf diese Weise können auch Theorien, deren Daten auf *in vitro* Experimente oder Untersuchungen an betäubten Tieren beruhen, überprüft werden. Für Menschen wie auch für Tiere ist die Fähigkeit, sich in ihrer Umwelt zurecht zu finden, eng mit der Fähigkeit zu lernen verknüpft. Durch das Lernen gelingt es Lebewesen, sich wechselnden Umweltbedingungen anzupassen, in dieser Umwelt sinnvoll zu agieren, somit das eigene Überleben bzw. das der eigenen Art zu fördern oder gar die Umwelt zum eigenen Vorteil zu gestalten.

Neben dem eigentlichen Lernprozess (dem Aneignen von Kenntnissen und Fertigkeiten) gehören zum Lernen auch das Gedächtnis (die Abspeicherung des Erlernen) und das Erinnern (das Abrufen des Erlernen). Das Lernen umfasst das Wahrnehmen und das Beurteilen der Umwelt, das Verknüpfen mit Bekanntem (Erfahrung), aber auch das Erkennen von Regelmäßigkeiten.

In der vorliegenden Untersuchung wurden die Versuchstiere einem Gedächtnis- bzw. Lerntest in einem Lochlabyrinth (Holeboard) ausgesetzt. Die im Holeboard zu zeigende Lernleistung hat nur wenig mit den biologischen Grundformen des Lernens wie der klassischen Konditionierung, der Prägung, der Habituation oder der Sensitivierung zu tun. Es handelt sich um eine kognitive Verknüpfung, da den einzelnen Reizen (leere oder mit Futterpellets gefüllte Löcher) Bedeutungen zugewiesen und Zusammenhänge zwischen diesen Reizen und anderen – wie z.B. der aktuellen Position im Raum – gezogen werden. Dabei muss von den Versuchstieren die aktuelle Situation mit Erfahrungswerten verglichen werden.

Dabei werden alle 4 Aspekte des gegenwärtig besonders akzeptierten Gedächtnismodells involviert. Das episodische Gedächtnis zeichnet die autobiografischen Ereignisse auf. Damit werden auch die Erlebnisse in der neuen Umgebung des Holeboards erfasst. Das Wissenssystem speichert beispielsweise die Verteilungsregeln der Belohnungen. Das prozedurale Gedächtnis speichert die teilweise komplexen Bewegungsabläufe, um die Löcher des Holeboards inspizieren zu können. Beim Priming können die einzelnen Trials, also die einzelnen Versuche des Experimentes gespeichert werden.

Die Fähigkeit der Assoziation von Sinneseindrücken und bisher Abgespeichertem ist auf neuronaler Ebene durch die aktivitätsabhängige Änderung (Ausprägung von Aktionspotentialen) der Stärke der synaptischen Übertragung (Bildung und/oder Verstärkung synaptischer Verknüpfungen) repräsentiert. Diese Veränderung der neuronalen Verbindung wird als synaptische Plastizität bezeichnet (siehe hierzu besonders Kapitel 2.5 ab Seite 19) (Kandel et al., 1995; Dudel et al., 2005; Rosenzweig et al., 2007; Bear et al., 2008).

In der Verhaltensbiologie werden zwei unterschiedliche Ansätze verwendet, um Verhaltensweisen zu erklären bzw. deren Ursachen zu erklären. Einen Teil der Ursachen kann man als unmittelbare Gründe oder proximate Ursachen, den anderen Teil als grundlegende oder ultimate Ursachen bezeichnen (Tinbergen, 1963).

Zu den proximativen Ursachen für ein gezeigtes Verhalten gehören alle inneren, das sind beispielsweise physiologische und chemische, Bedingungen aber auch äußere Reize. Auch Verhaltensgründe, die auf der Ontogenese des Individuums beruhen, also Vorerfahrungen wie das Lernen darstellen, werden zu den proximativen Ursachen von Verhalten gezählt. Ultimate Ursachen sind hingegen die Antworten der Fragen nach dem Nutzen der gezeigten Verhaltensweise für das Individuum und den Selektionsvorteil, den das Verhalten für das Individuum oder dessen Vorfahren hatte. Das lässt Rückschlüsse auf die Gründe zu, die im Verlauf der Phylogenese die Ausprägung einer bestimmten Verhaltensweise begünstigt haben (Tinbergen, 1963; Franck, 1997; Dawkins, 2007). Während sich der Nutzen eines Verhaltens experimentell nur sehr schwer überprüfen lässt und somit nur mehr oder weniger stichhaltige Hypothesen aufgestellt werden können, sind die proximativen Ursachen oft, beispielsweise durch neurophysiologische Experimente, empirisch nachweisbar.

In der vorliegenden Untersuchung wird versucht, einen Zusammenhang zwischen den proximativen Ursachen – den Änderungen der Konzentrationen bestimmter Neurotransmitter in definierten Hirnstrukturen – und dem Erfolg bzw. Misserfolg beim Erlernen eines räumlichen Verteilungsmusters herzustellen. Die Ergebnisse dieser Experimente erlauben natürlich nur eine Aussage über die eingeschränkten Bedingungen der Versuchsanordnung. Jedoch ist es möglich, die gefundenen Resultate mit anderen Ergebnissen, Modellen und Theorien zu vergleichen und darin einzuordnen.

Unabhängig vom Ergebnis der vorgelegten Arbeit ist von vornherein jedoch klar, dass die zu untersuchenden Konzentrationsänderungen das Verhalten nicht direkt beeinflussen können, sondern auf Ebenen höherer Ordnung als Reizstärkeänderung weiterverarbeitet werden. Außerdem wird in der theoretischen Überlegung deutlich, dass mit der benutzten Experimentieranordnung nicht entschieden werden kann, ob die zu messenden Konzentrationsänderungen der Neurotransmitter Ursache oder Wirkung der Lern- und Gedächtnisleistung sind. Das führt bereits zum Zusammenspiel mit darüber liegenden Ebenen wie z.B. der anatomischen Verschaltung der Neuronen: Allein auf die Ergebnisse der basalen Ebene, der Konzentrationen der Neurotransmitter, und der Kenntnis aller äußeren Reizparameter zurückgreifend, ist es nicht möglich, das auch auf der komplexen Neuronenverschaltung resultierende Verhalten vollständig vorhersagen zu können, d.h., die Kausalkette vollständig zu verstehen. Oder anders formuliert: Die emergierenden Aktivitätsverteilungen einzelner Hirnstrukturen bilden die eigentliche Leistung des Gehirns, z.B. das Lernen und das Gedächtnis.

Wegen der standardisierten Aufzuchtbedingungen und dem gleichen Handling der Ratten kann man von einer vergleichbaren Lebenserfahrung der Tiere ausgehen. Die proximativen Ursachen bezüglich der Vorerfahrung durch Lernen sind sehr ähnlich.

Im Gegensatz dazu lässt sich die Frage nach den ultimativen Ursachen des Suchverhaltens im Holeboard mit folgenden mehr oder weniger plausiblen Hypothesen beantworten:

Das Überwinden der Furcht und das anschließende Suchen nutzt dem Individuum durch den erzielten Energiegewinn der gefundenen Futterpellets (Erschließung neuer Nahrungsquelle), die Überlebenswahrscheinlichkeit erhöht sich. Mit der verlängerten Lebensdauer vergrößert sich aber auch die Wahrscheinlichkeit der sexuellen Fortpflanzung und damit des Fortbestehens der Art. Wegen der Auflösung des Konflikts zwischen Flucht und Neugier durch die allmähliche Erkundung des Holeboards erreicht das einzelne Tier jedoch auch eine Erhöhung der Lebensqualität und Vergrößerung der individuellen Sicherheit (Franck, 1997; Dawkins, 2007). Denn alles Unbekannte wirkt anziehend. Unerkannte und damit unkalkulierbare Gefahren gibt es nur dort, wo es Unerforschtes gibt. Das Sammeln von Erfahrungen ist für das individuelle Überleben zwingend notwendig (Bilenkin, 1979).

Da neue Dinge und Situationen neben Neugier auch Angst auslösen (können), werden die Ratten vor dem eigentlichen Holeboardtraining an das Holeboard selbst und an das Handling durch den Experimentator gewöhnt. Auf diese

Weise neigt sich die Waage des widersprüchlichen Verhaltens, das schon McDougall (1928) beschrieb, des Konflikts zwischen Erkunden und Flucht, in Richtung des Gefühls einer sicheren Umgebung und einer überschaubaren, ungefährlichen Situation. Die Tiere sind dann während des Experimentes weniger ängstlich und erkunden intensiv die Löcher des Holeboards. Dies geschieht jedoch anfangs im Rahmen des sogenannten Erkundungsverhaltens. Das bedeutet, dass sich die Tiere in der Regel langsam in einem Wechsel von Vordringen und Rückzug bewegen. Diese Verhaltensweise ermöglicht es den Ratten ihren Aktionsraum auszudehnen und das unbekannte Areal des Holeboards kennenzulernen und sich mit den Gegebenheiten vertraut zu machen. Dabei sollten sich individuelle Unterschiede zwischen ängstlichen und weniger ängstlichen Tieren bemerkbar machen. Diese werden aber durch die Gewöhnung an Umgebung und Experimentator relativiert. Mit steigendem Vertrautheitsgrad wird für die Tiere das Erkennen des Futtermusters, die eingesetzte Gedächtnisleistung, aber auch die Planung und das Anwenden einer entsprechenden Strategie wichtiger. Deshalb wird allen für Experimente im Holeboard vorgesehenen Tieren ein längerer Probelauf in diesem gewährt. Dabei können sich die Tiere an die neue Umgebung gewöhnen und auch die durch die implantierte Mikrodialysesonde komplizierte Bewegung der Inspektion der Löcher erlernen.

2.8 Ziele der vorliegenden Arbeit

In der vorliegenden Arbeit sollten die Änderungen der Konzentrationen bestimmter Neurotransmitter mit der Methode der Mikrodialyse in für das Lernen relevanten Hirnarealen untersucht werden.

Nach den besonders unter Kapitel 2.5 (ab Seite 19) beschriebenen Einflüssen spielen vor allem β -adrenerge Verbindungen eine wichtige Rolle auf die Ausprägung der LTP im Gyrus dentatus. Allerdings wurden die dort beschriebenen Ergebnisse durch die Blockierung der entsprechenden Rezeptoren gefunden, nicht durch eine direkte Messung der Konzentrationen der Neurotransmitter. Somit stellte sich die Frage, wie und ob sich die extrazellulären Konzentrationen bestimmter Neurotransmitter im Gyrus dentatus durch die Tetanisierung über den Tractus perforans verändern, wie also die Verarbeitung der Informationen auf der Ebene der Neurotransmitter erfolgt. Eine Methode dies zu untersuchen, ist die Mikrodialyse, also der Austausch der extrazellulären Flüssigkeit in den interessierenden Hirnarealen gegen eine isotonische Ersatzflüssigkeit über eine semipermeable Membran.

Weiterhin wäre es interessant zu wissen, ob und wie die Konzentrationen der Neurotransmitter sich auch unabhängig von den artifiziellen Stimuli bei mehr oder weniger natürlichen Verhaltensausrägungen wie dem räumlichen Lernen verändern. Den Antworten auf diese Fragen wenigstens einen Schritt näher zu kommen, ist der Zweck eines nicht unbedeutenden Teils der vorliegenden Arbeit. Dazu bedurfte es der Auswahl von Hirnarealen, die Schlüsselpositionen bei der Bewältigung kognitiver Verhaltensaufgaben besetzen. Gleichzeitig musste auch die Mikrodialyse angewandt werden können. Das bedeutet, dass

die Größe des zu untersuchenden Hirngebietes in einer gewissen Mindestrelation zur verwendeten Mikrodialysesonde respektive deren aktiver Membrangröße stehen muss.

Aus diesen Gründen fiel die Wahl auf den HC und den PFC. Die Neurotransmitterkonzentrationen im HC wurden während der Tetanisierung über den Tractus perforans und während räumlicher Lernversuche ermittelt. Bei letzteren wurden auch die Konzentrationen der Neurotransmitter im PFC untersucht.

Der Versuchsansatz zur Untersuchung des räumlichen Gedächtnisses beruht auf einem konstanten bzw. zufälligen Muster von Futterpellets, die in einem Lochlabyrinth verteilt wurden. Dabei werden Aspekte verschiedener Gedächtnissysteme (episodisches, prozedurales System, Priming, Wissenssystem) berührt. Weiterhin werden damit das Kurz- wie auch das Langzeitgedächtnis involviert.

These 1:

Nach elektrophysiologischer Stimulation des Hippocampus über den Tractus perforans ändern sich die extrazellulären Konzentrationen der Neurotransmitter Dopamin, Noradrenalin und Serotonin im Hippocampus.

These 2:

Die extrazellulären Konzentrationen von Dopamin, Noradrenalin und Serotonin im Hippocampus verändern sich während eines räumlichen Lern- und Gedächtnistests.

These 3:

Die extrazellulären Konzentrationen von Dopamin, Noradrenalin und Serotonin im Cortex praefrontalis verändern sich während eines räumlichen Lern- und Gedächtnistests.

These 4:

Die extrazellulären Konzentrationen von Dopamin, Noradrenalin und Serotonin ändern sich in Abhängigkeit mit der Lern- und Gedächtnisleistung.

3 Tiere, Material und Methoden

3.1 Tiere

Aus der Zucht des Leibniz-Instituts für Neurobiologie Magdeburg wurden ausschließlich männliche Wistar-Ratten (Stamm Schönwalde) verwendet. Die Tiere wurden unter einem täglichen Zyklus von 12 h Dunkelheit und 12 h Licht in Standardkäfigen (25 cm x 40 cm x 18 cm) gehalten. Als Einstreu dienten Holzspäne (Ssniff, Soest, Deutschland). Gefüttert wurden komprimierte Futterpellets (Ssniff, Soest, Deutschland). Wasser wurde *ad libitum* gegeben.

Die Ratten wurden im Alter von 7 Wochen und bei einem Gewicht von 240 bis 300 g präpariert. Nach einer einwöchigen Rekonvaleszenz begann für die Tiere das Experiment.

Für die elektrophysiologischen Stimulationsversuche am HC wurden 37 Tiere eingesetzt, für die Verhaltensexperimente im Holeboard wurden 86 Tiere verwendet.

3.2 Material

3.2.1 Mikrodialyse-Setup

Die Mikrodialyse wurde hauptsächlich mit einer Kombination aus Komponenten der Firmen CMA Sweden und Eicom, Japan durchgeführt.

Die Mikrodialysesonden wurden von der Firma CMA Sweden, Schweden bezogen. Es wurden ausschließlich CMA 12 (Elite) Sonden verwendet. Diese hatten folgende Charakteristika:

- Außendurchmesser der Membran: 0,5 mm
- Länge der Membran: 1,0 mm
- Außendurchmesser des Stahlschaftes: 0,64 mm
- Länge des Stahlschaftes: 14 mm
- Internes Volumen: 2 μ l

Die Membran besteht aus einem Polyacrylethersulfon (PAES) mit einem molekularen cut-off von 20000 Daltons.

Eine Mikrodialysepumpe CMA100 der Firma CMA Sweden pumpte eine Ringer-Lösung (147 mM NaCl, 4 mM KCl, 2,3 mM CaCl₂) mit einer gleichbleibenden Menge von 1,8 μ l/min durch das System.

Die Verbindung zwischen der Pumpe und der in der Ratte befindlichen Sonde wurde über ein Schlauchsystem gewährleistet. Um den Tieren innerhalb des Käfigs und im Holeboard eine freie Bewegung zu ermöglichen, wurde ein Rotating Joint (SSU-20) der Firma Eicom Corp., Japan unterschiedlicher Länge ver-

wendet. Der spiralfederartig gestaltete Schlauch verhinderte gleichzeitig, dass die Tiere sich in ihm verhedderten oder ihn durchtrennten. Auch ermöglichte diese Swivel-ähnliche Verbindung, dass die Dialysate außerhalb des Käfigs bzw. des Holeboards gesammelt und die Probengefäße, ohne die Ratten zu stören, gewechselt werden konnten.

Zum Auffangen der gewonnenen Dialysate dienten Rotilabo-Reaktionsgefäße mit einem Volumen von 250 µl der Firma Carl-Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland.

Um einen schnellen Austausch der einzelnen Sammelgefäße zu ermöglichen, wurden mehrere Deckel der Reaktionsgefäße auf folgende Weise modifiziert. Der Deckel wurde vom Behälter getrennt und an zwei Stellen durchlöchert. Durch eines der beiden Löcher des Deckels wurde ein ca. 2 cm langes Schlauchstück, durch das andere eine Kanülenspitze eingeführt und jeweils mit Dentalzement fixiert. Das obere (äußere) Ende der Kanülenspitze diente der Befestigung des von der Mikrodialysesonde kommenden Schlauches. Am anderen Ende der Kanülenspitze wurde ein etwa 4 cm langes Schlauchstück befestigt, um das Dialysat entfernt vom Deckel in das Probengefäß zu leiten. Das 2 cm lange Schlauchstück diente dem Druckausgleich im Probenbehälter. An der äußeren Kanülenspitze wurde ein etwa 6 cm langes Schlauchstück angesetzt, um den Probenbehälter in der Nähe des Kopfes der Ratte, aber außerhalb ihrer Reichweite zu befestigen (s. Abbildung 3.4-B auf Seite 44). Auf diese Weise kann das Dialysat rasch nach der Dialyse aus dem Gehirn zur Analyse in die HPLC-Anlage gegeben werden.

3.2.2 schwache und starke Tetanisierung

Für die schwache (weak) und starke (strong) Tetanisierung (tetanus) und der Erfassung deren Resultate wurden folgende Geräte verwendet:

- isolierter Puls-Stimulator 2100 von A-M Systems, USA
- Oszilloskop HM407-2 von HAMEG Instruments, Deutschland
- Differentialverstärker,
- Power1401 von CED, Großbritannien zur Datenerfassung inklusive der entsprechenden Software

3.2.3 HPLC-Setup

Die Analyse der gesammelten Dialysate wurde mit einer HPLC-ECD (High-Performance-Liquid-Chromatography/ Electrochemical Detection) durchgeführt. Die gesammelten Mikrodialysate wurden in den auf 7,0 °C gekühlten Autoinjektor (PAL-System, CTC Analytics, Schweiz) gegeben und unmittelbar in das HPLC-System injiziert.

Um ein hohes Maß an Reproduzierbarkeit zu erreichen, wurde die mobile Phase für die HPLC fertig von der Firma ESA, Inc., USA unter der Seriennummer ESA MD-TM Mobile Phase 70-1332 bezogen. Diese mobile Phase wurde für den Nachweis von Katecholaminen konzipiert. Sie setzte sich wie folgt zusammen:

- 75 mM Natriumdihydrogenphosphat, Monohydrat, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (10,35 g/l)
- 1,7 mM 1-Natrium-Octansulfonicsäure (0,3675 g/l)
- Triethylamin (100 ml/l)
- 25 μM Ethylendiamintetraacetat EDTA (250 μl einer 100 μM Lösung auf 1 l)
- 10 % Acetonitril (100 ml/l)

und wurde mit Phosphorsäure auf einen pH-Wert von 3,00 eingestellt.

Die mobile Phase wurde durch eine HPLC-Pumpe (LC20-AD, Shimadzu, Japan) mit 300 $\mu\text{l}/\text{min}$ durch das HPLC-System (Degasser DGU-14A und System Controller SCL-10A, Shimadzu, Japan, Elektrochemischer Detektor LC-4C und CC-5C, Bioanalytical Systems, USA) gepumpt. Die Trennung der Substanzen erfolgte in einer 15 cm langen, umgekehrten Phase Säule mit 3,2 μm Porengröße (MD-150x3,2, ESA, USA). Der elektrochemische Detektor war während der Analysen auf eine Spannung von -0,691 V eingestellt. Diese Größe hat sich während der Vorversuche als für die vorhandene Säulen-Detektor-mobile Phase-Kombination optimal zur gleichzeitigen Analyse von DA, NA und 5-HT erwiesen.

3.2.4 Holeboard

Zum Testen des räumlichen Lernens der Versuchstiere wurde ein Holeboard verwendet (COGITAT der Firma Cognitron GmbH, Göttingen, Deutschland). Dieses besteht aus einer 1 m x 1 m großen, schwarzen Fläche. Auf dieser sind in regelmäßigen Abständen 36 gleichförmige Löcher (6 cm Durchmesser, 8 cm tief) angeordnet. Jedes Loch wird durch drei Lichtschranken kontrolliert. Je eine nahe des Randes, in mittlere Tiefe und am Boden des Loches. In den Lichtstrahl der letzteren können Futterpellets gelegt werden. Für die hier beschriebenen Versuche wurden ausschließlich Pellets der Firma BioServ verwendet (dustless precision pellets, 45 mg, BioServ, USA).

In einer zweiten Ebene des Holeboards unterhalb der Löcher wurden zahlreiche weitere Futterpellets verteilt, um den Tieren eine olfaktorische Orientierung zu erschweren. Der Boden der Löcher hat ringsum einen Spalt, der direkt zu dieser zweiten Ebene führt.

Die Fläche des eigentlichen Holeboards wird durch eine 27 cm hohe, durchsichtige Plexiglaswand abgeschlossen. An drei Seiten dieser Wand befinden sich visuelle Orientierungsmöglichkeiten, die den Versuchstieren erst ein räumliches Lernen ermöglichen. Die vierte Seite der Wand wird durch eine Öffnung, die als Startbox dient, charakterisiert. Diese kann mit einer Schiebetür verschlossen werden. Das Holeboard stand während der Experimente in einem schallisolierten und -reduzierten Raum, so dass eine akustische Orientierung ebenfalls erschwert wurde. Vor der Startbox befindet sich ein vom eigentlichen Experimentierfeld durch die Plexiglaswand abgetrennter Bereich, der Warteraum, in dem die Tiere die Zeit zwischen den einzelnen Trials verbringen. Siehe hierzu auch Abbildung 4.10 auf Seite 68.

Das Unterbrechen der Lichtschranken wurde registriert als:

Inspektion: Unterbrechen der oberen Lichtschranke,

Besuch: Unterbrechen der mittleren Lichtschranke,

Finden: Entfernen des Futterpellets vom Boden des Loches.

Die Aufzeichnungen dieser Ereignisse ermöglichte die Bestimmung des Arbeitsgedächtnisfehlers (Inspektion oder Besuch eines ursprünglich beköderten Loches, dessen Futterpellet schon entfernt wurde) und des Referenzgedächtnisfehlers (Inspektion oder Besuch eines ursprünglich unbeköderten Loches). Für genauere Definitionen beider Fehler siehe die Erläuterungen ab Seite 79 und 82. Gespeichert und ausgewertet wurden die Signale der Lichtschranken mit Hilfe der Software RatMemory V2.4.

Die einzelnen Trials endeten automatisch nach Ablauf eines vorher festgelegten Zeitraumes (240 s) oder wenn alle Pellets gefunden wurden.

Durch ein Videotracking-System (Field2020 for PLUS+, HVS Image Ltd., UK) wurden während der Versuche die Bewegungen der Ratten aufgezeichnet. Die Software dieses Systems erlaubte die Analyse der von den Ratten zurückgelegten Wegstrecken, der Reihenfolge der besuchten und inspizierten Löcher, aber beispielsweise auch die Analyse der Bewegungsmuster zwischen den einzelnen Löchern.

3.3 Methoden

3.3.1 Mikrodialyse

Das Sammeln extrazellulärer Flüssigkeiten in lebenden Tiere ist in fast allen Organen, aber auch in Körperhöhlräumen (Uterus, Peritonealraum) oder in der Blutbahn möglich. Das Sammeln erfolgt mittels einer semipermeablen Membran und wird folgerichtig als Mikrodialyse bezeichnet.

Die Membran ist auf zwei dünnen, ineinander gesteckten Metallröhrchen aufgespannt. Diese ermöglichen so einen kontinuierlichen Flüssigkeitsstrom. Die ganze Konstruktion wird als Mikrodialysesonde bezeichnet. Die von außerhalb durch die Sonde in das Tier gepumpte Flüssigkeit kommt durch die semipermeablen Membran mit der extrazellulären Flüssigkeit des Organs in Kontakt, in dem die Mikrodialysesonde positioniert wurde.

Durch die Wahl bzw. Zusammensetzung der in die Mikrodialysesonde gepumpten Flüssigkeit, kann die Entnahme aus dem bzw. der Transport bestimmter Substanzen in das Gewebe kontrolliert werden.

Die Größe des perfundierten Raumes und die Effektivität der Mikrodialyse kann durch die Länge der Membran beeinflusst werden. Aber auch die Fließgeschwindigkeit beeinflusst direkt die Konzentration der dialysierten Substanzen. Der Austausch über eine semipermeablen Membran funktioniert den jeweiligen Diffusionsgradienten folgend stets in beide Richtungen.

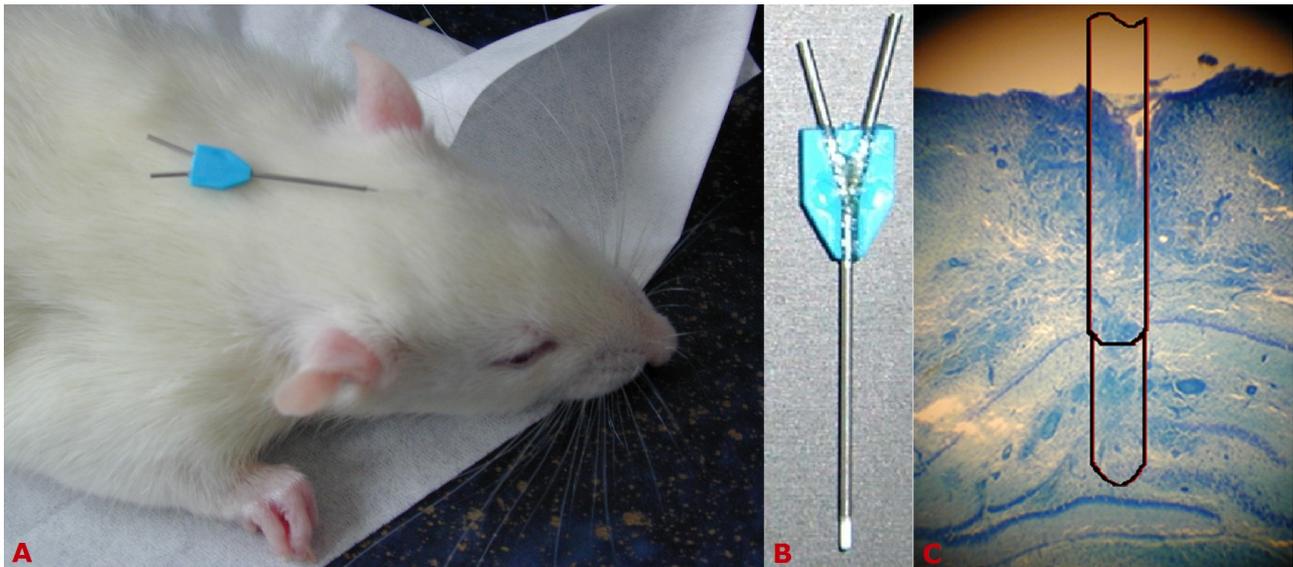


Abbildung 3.1. Diese Darstellungen zeigen die Größenverhältnisse zwischen Ratte und Mikrodialyse-Apparat (A), die Mikrodialyse-Apparat (B) und eine mikroskopische Fotografie eines coronalen Querschnitts des Hippocampus (ungefähr 3,2 mm posterior der Bregma) einer Ratte, der eine Führungskanüle inklusive Stopper implantiert wurde. Ca. 15fache Vergrößerung. Die Spitze der Mikrodialyse-Apparat ist als Skizze eingefügt. Die semipermeable Membran ist in allen 3 Abbildungen zu erkennen.

Die wichtigsten Vorteile der Mikrodialyse sind:

- das kontinuierliche Sammeln über Stunden und Tage
- das Sammeln repräsentativer Mischungen aller Substanzen in der extrazellulären Flüssigkeit (in Abhängigkeit von der Porengröße der Membran)
- die Möglichkeit, durch die Porengröße der Membran, größere Moleküle, wie Enzyme, von der Dialyse auszuschließen, die die interessierenden Substanzen zersetzen könnten
- bei solch einfachen Perfusionen ist keine Kontrolle des Flusses notwendig

Der letztendlich limitierende Faktor ist jedoch die Diffusionsgeschwindigkeit der interessierenden Substanzen durch den Extrazellulärraum und durch die semipermeablen Membran der Mikrodialyse-Apparat.

Die Mikrodialyse an frei beweglichen, nicht anästhetisierten Tieren (Ratten) ist vielfach und für die verschiedensten Hirnareale beschrieben worden.

Zum Beispiel:

- Hippocampus (Chastain Jr et al., 1989; Puig de Parada et al., 1995; Stancampiano et al., 1997; Saito et al., 2002; Ueda et al., 2007)
- Cortex praefrontalis (Chen et al., 1992; Hashimoto et al., 1995; Rossi et al., 2005)
- Striatum (Osborne et al., 1990; Parent et al., 2002; Hara et al., 2002; Trabace et al., 2004)

Die zeitliche Auflösung der Mikrodialyse hängt auch von der Menge der pro Zeiteinheit durch die Mikrodialysesonde gepumpten Ersatzlösung und der Sammelzeit ab. Bei Vorversuchen für die vorliegende Studie hat sich die Kombination von 1,8 µl/min gepumpter Ringerlösung und eine Sammelzeit von 15 min als optimal erwiesen. Die resultierende Menge von 27-28 µl Dialysat reichte aus, um mit dem HPLC-System einen zweiten Test des gleichen Dialysates durchzuführen, falls die erste Analyse, beispielsweise durch Softwareprobleme misslang.

3.3.2 Präparation

Die Ratten wurden im Alter von etwa 7 bis 8 Wochen und einem Gewicht von 240 bis 300 g für das jeweilige Experiment präpariert. Die Betäubung erfolgte intraperitoneal mit Nembutal in einer Menge von 40 mg/kg Körpergewicht.

Die Tiere wurden in eine stereotaxische Apparatur eingespannt und der Schädel fixiert. Nach Kürzen der Kopfhaare wurde die Kopfhaut auf einer Fläche von ca. 1 cm (medial-lateral) x 2 cm (anterior-posterior) entfernt. Ebenso die darunter liegenden Gewebeschichten bis zur Freilegung des Schädelknochens. Dieser wurde mit 3 %igem H₂O₂ gereinigt.

Hippocampus

Um das Zielgebiet, den Gyrus dentatus des HC, direkter und mit so wenigen Zerstörungen wie möglich zu erreichen, wurde der Schädel der Ratte so fixiert, dass sich die Bregma relativ zur Lambda 1 mm über deren Ebene erhob.

In den Schädel wurden 6 Löcher mit einem Durchmesser von etwa 1 mm gebohrt. In zwei dieser Löcher wurden Schrauben mit angelötetem Silberdraht befestigt, die als indifferente Elektroden dienten. Zwei weitere Löcher erhielten nur Schrauben, die die Fixierung der entstehenden Dentaltzementkappe am Schädel verstärkten. Die beiden anderen gebohrten Löcher nahmen die Stimulations- bzw. die Ableitelektrode und die Führungskanüle für die Mikrodialysesonde auf. Die bipolare Stimulationselektrode aus isoliertem rostfreien Stahl mit einem Durchmesser von 125 µm wurde in den medialen Tractus perforans implantiert. Die Koordinaten von der Bregma aus waren: 6,9 mm (anterior-posterior [AP]), 4,1 mm (medial-lateral [ML]) sowie 2,0 mm (dorso-ventral [DV]) von der Hirnoberfläche aus. Eine monopolare Ableitelektrode ((isolierter, rostfreier Stahl, Durchmesser 125 µm) wurde in die Granularzellschicht des Gyrus dentatus implantiert. Hierfür wurden folgende Koordinaten verwendet: 3,2 mm (AP), 2,0 mm (ML) und 2,5 mm (DV). Die Führungskanüle für die Mikrodialysesonde (Durchmesser 800 µm) wurde unter folgenden Koordinaten implantiert: 4,0 mm (AP), 2,7 mm (ML) von der Bregma (Abbildung 3.2). Der in der Führungskanüle befindliche Stopper wurde so modifiziert, dass er 1 mm über das Ende der Führungskanüle hinausragt. Die auf diese Weise veränderte Kombination aus Führungskanüle und Stopper wurde so implantiert, dass sich dessen Spitze 3,5 mm unterhalb der Hirnoberfläche befand.

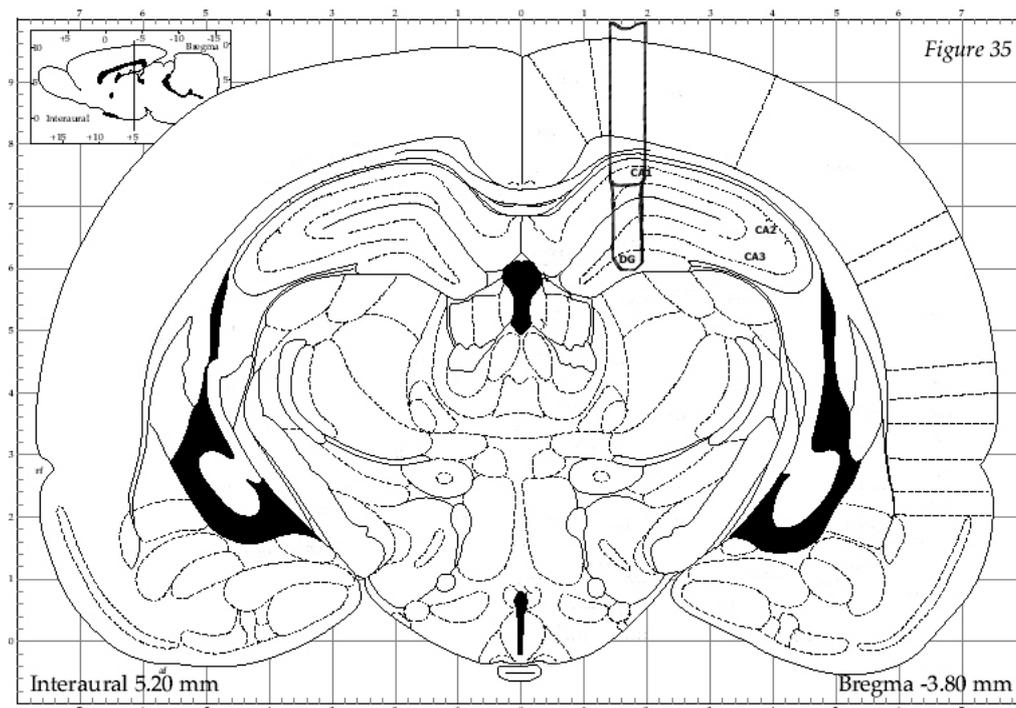


Abbildung 3.2. Zeichnung des coronalen Querschnitts eines Rattengehirns in der Umgebung der Position der Mikrodialysesonde im Hippocampus (verändert nach Paxinos und Watson, 2007).

Die Dura mater wurde in den 3 Löchern der Elektroden und der Mikrodialysesonde geöffnet, um eine ungehinderte Positionierung der Elektroden und der Führungskanüle zu ermöglichen. Geschieht dies nicht, wird das Gehirn spätestens durch die größere Führungskanüle deformiert. Die Elektroden wurden langsam und vorsichtig in das Gehirn gesenkt.

Die Positionen der beiden Elektroden wurden auf ein Maximum der Amplitude des Populationsspikes justiert. Der Stimulus hierzu war ein biphasischer Puls von 0,1 ms Dauer bei einer konstanten Stromstärke von 0,4 mA.

Da die Mikrodialysesonde und die Ableitelektrode sehr eng beieinander liegen, wurde nach dem Erreichen der optimalen Position der Reizelektrode die Ableitelektrode entfernt und die Führungskanüle langsam in das Gehirn implantiert. Reizelektrode, Führungskanüle und Schrauben wurden mit Dentalzement am Schädel befestigt.

Die HC-Präparationen ohne elektrische Stimulation bzw. Ableitung erfolgten bis auf die entsprechenden elektrophysiologischen Parameter identisch.

Alle Ratten erhielten die Möglichkeit, sich wenigstens eine Woche von der Präparation zu erholen, bevor sie in einem Experiment verwendet wurden.

Cortex praefrontalis

Um das Zielgebiet, das prälimbische Areal des ventralen medialen PFC oder vereinfacht den mPFC, optimal und störungsfreier zu erreichen, wurde der Schädel der Ratte so fixiert, dass sich die Bregma relativ zur Lambda 1 mm über deren Ebene erhob.

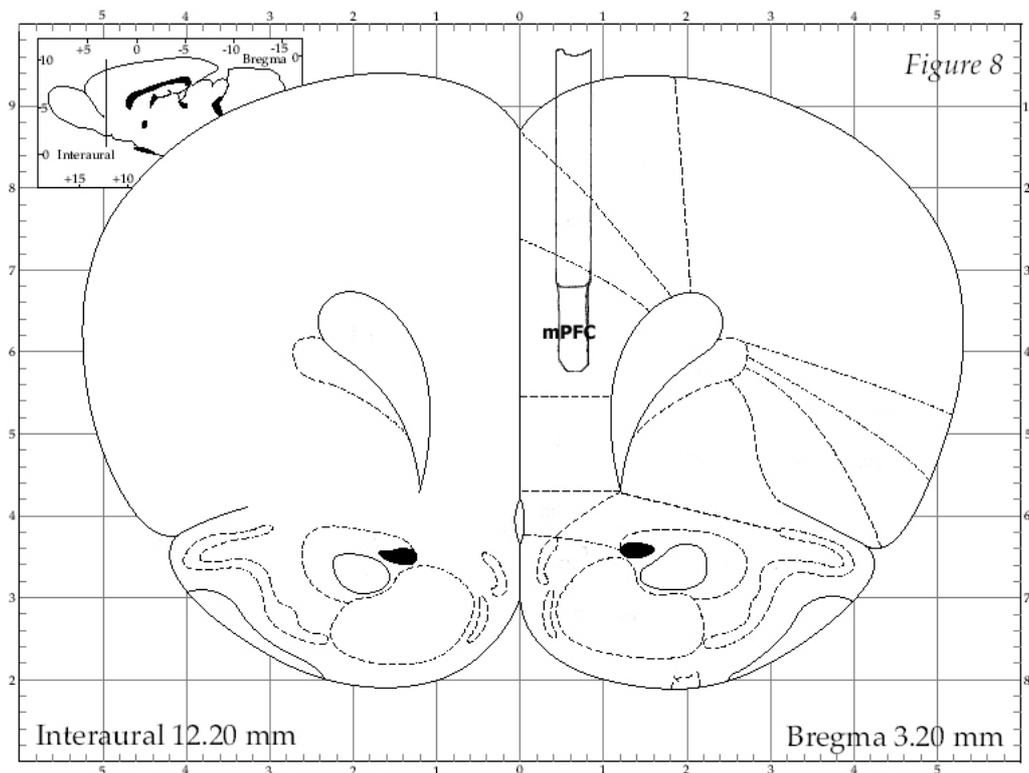


Abbildung 3.3. Zeichnung des coronalen Querschnitts eines Rattengehirns in der Umgebung der Position der Mikrodialysesonde im präfrontalen Cortex (verändert nach Paxinos und Watson, 2007).

Die Koordinaten für die Mikrodialysesonde im PFC wurden mit verschiedenen Untersuchungen abgeglichen (Carr und Sesack, 2000; Berridge und Stalnaker, 2002; Koch et al., 2002; Marsteller et al., 2002). An den Koordinaten 0,9 mm lateral und 3,2 mm anterior zur Bregma wurde in der rechten Schädelhälfte ein Loch (Durchmesser 0,7 mm) gebohrt. In dieses wurde die mit einem Blindstopfen versehene Führungskanüle der Mikrodialysesonde eingesetzt (Tiefe von der Hirnoberfläche bis zur Spitze der Sonde: 3,7 mm). Im posterioren Teil des Schädels wurden 4 weitere Löcher gebohrt, die dazu dienten, Halteschrauben aufzunehmen. Die Schrauben und die Führungskanüle wurden mit Dentalzement fixiert.

Die auf diese Weise präparierten Tiere erhielten für wenigstens eine Woche die Möglichkeit zur Rekonvaleszenz.

3.3.3 Ablauf der Tetanusexperimente

Das eigentliche Tetanusexperiment wurde in einer besonderen Recording-Box (s. Abbildung 3.4-A) von 40 cm x 40 cm x 40 cm Größe durchgeführt. Einen Tag vor Beginn des Experimentes wurden die Tiere in diese Boxen gesetzt. Während des Experimentes erhielten die Ratten kein Futter. Die kurzzeitige Futterdeprivierung sollte eventuelle Beeinflussung der Neurotransmitterkonzentrationen durch die Nahrungsaufnahme vermeiden (Torres et al., 2002; Gamaro et al., 2003). Sie sollte aber auch die Vergleichbarkeit der vorliegenden Untersuchung mit anderen Arbeiten (Uzakov et al., 2005; Korz und Frey 2007; Makhracheva-Stepochkina et al., 2008) erleichtern. Durch die Konstruktion der Box (eng beieinander stehende Metallstangen wenige Zentimeter über dem Boden) lag die Einstreu und somit auch die hier eventuell befindlichen Nahrungsreste außer Reichweite der Tiere. Wasserzugang wurde *ad libitum* ermöglicht.

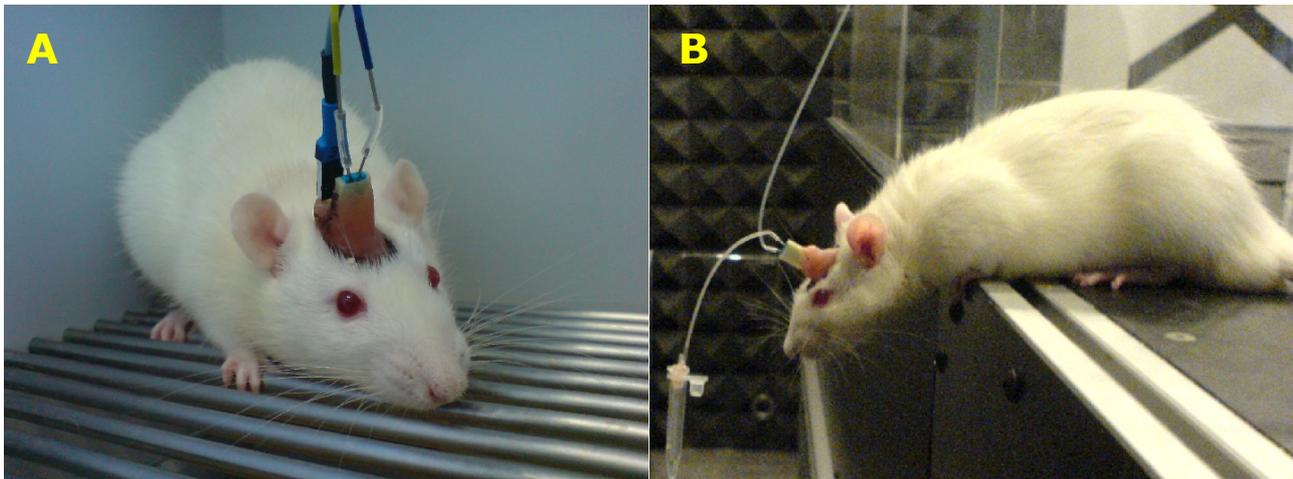


Abbildung 3.4. Fotografien von Ratten, die an das Mikrodialysesystem (A und B) sowie an das elektrophysiologische Setup (A) angeschlossen sind. Ratte A befindet sich in der Recordingbox, die für die elektrophysiologischen Versuche als Experimentierraum verwendet wurde. Über Nacht hielten sich in den Recordingboxen (A) auch die Ratten auf, die auf ihre Versuche im Holeboard (B) warteten. Ratte B befindet sich im Warteraum unmittelbar neben dem Holeboard.

Unmittelbar vor dem Experiment wurde der Ratte der Stopper der Führungskanüle durch eine Mikrodialysesonde ersetzt. Diese wurde über den zweikanaligen Spiralschlauch mit der Mikrodialysepumpe verbunden. Die Pumpe wurde gestartet. Die elektrische Verbindung zur Reizelektrode wurden über einen Swivel und einem flexiblen Kabel ebenfalls mit dem Tier verbunden. Das erlaubte dem Tier freie Bewegungen innerhalb der Experimentierbox.

Jedes Tier erhielt die Möglichkeit sich für eine Stunde an die neue, reizarme Umgebung der Experimentierbox und die Swivelverbindungen zu gewöhnen.

30 min nach Beginn dieser Gewöhnungsphase wurden 2 Dialysate (à 15 min) gesammelt, um eine Basislinie aufzunehmen. Die gemessenen Werte des folgenden Dialysates wurden als Basiswert (100 %) gesetzt. Danach erfolgte die Induzierung eines Tetanus in beiden Testgruppen. Schwache tetanische Reize (3 Reize mit je 15 Impulsen von 200 Hz mit einer Dauer von 0,1 ms jedes Stimulus und 10 s Pause zwischen den Reizen bei einer Stromstärke von 0,4 mA), die üblicherweise eine hippocampale early-LTP induzieren, wurden der weak-Tetanus-Gruppe appliziert. Das Reizprotokoll für die starke Tetanisierung, die üblicherweise eine hippocampale late-LTP auslöst, war bis auf die Anzahl der Reize (10 statt 3) identisch. Die Stimulation wurde jeweils unmittelbar nach dem Auswechseln des Probengefäßes gegeben.

3.3.4 Ablauf der Verhaltensexperimente

Drei Tage vor Beginn der Verhaltensversuche wurden die Tiere gehändelt. Dabei wurden sie für 15 min direkt mit dem Experimentator vertraut gemacht, d.h., dieser hielt sie einzeln auf dem Arm, der vom während des Experimentes getragenen Laborkittels bedeckt war. Die Ratten wurden ausschließlich mit einem Tuch vorsichtig gehandhabt. Die Vorteile des Handlings mit dem Tuch sind zahlreich. Zum einen stellt es nach sehr kurzer Zeit für die Tiere etwas Vertrautes, Ungefährliches und Sicheres dar. Weiterhin sind so auch unterschiedliche Gerüche der Hand des Experimentators weniger relevant. Der wichtigste und ursprüngliche Grund für das durchgehende Handling mit Tuch liegt in der damit wesentlich unproblematischeren Entfernung der Tiere aus dem Holeboard. Auf diese Weise wird ein Verheddern in den Mikrodialyseschläuchen verhindert. Das Tuch ist aber auch eine Art Versteck für die Ratten. Die Tiere sind wesentlich ruhiger und gelassener als ohne Tuch, da diese Art des Handlings nur wenig mit dem Angriff eines Feindes zu tun hat. Anfangs versuchten sich die Ratten beim Handling in der Armbeuge zu verstecken. Doch bereits nach wenigen Minuten erkundeten sie die nächste Umgebung im Rahmen des natürlichen Erkundungsverhaltens, des Wechsel zwischen Vorgehen und Zurückweichen. Dabei wurde das Tuch als sicheres Versteck betrachtet. Nach diesen 15 min des Handlings wurde den Ratten für wenigstens weitere 15 min gestattet, sich mit dem Warteraum des Holeboards vertraut zu machen, sowie die gleichzeitige Anwesenheit des Experimentators in unmittelbarer Nähe zu tolerieren. Die Ratten konnten sich in dem Warteraum frei bewegen. Je vertrauter die Tiere nach dem ersten Teil des Handlings waren, um so rascher erkundeten sie auch hier den Warteraum. Dieser Teil des Handlingtrainings endete, wenn die Tiere 2 Futterpellets, die in der entfernten Ecke des Warteraums platziert wurden, gefunden und gefressen hatten. Nur Ratten, die sich relativ sicher fühlen, fressen. Auf diese Weise wurde ein ungefähr gleicher Vertrautheitsstatus aller Ratten mit dem Experimentator und der Versuchsausrüstung gewährleistet. Außerdem haben so alle Tiere die Futterpellets als fress- und genießbar erkannt.

Anschließend wurden die Tiere bis zum Beginn des Experimentes für etwa 72 Stunden Futter depriviert. Die Menge der zugeteilten Futterpellets wurde so

bemessen, dass die Ratten nach diesen drei Tagen noch etwa 80 % ihres *ad libitum* Gewichtes erreichten. Der Zugang zu Wasser wurde nicht eingeschränkt. Die Tiere wurden mit Beginn des Handlings bis zum Ende des Experimentes in einer der bereits beschriebenen Recording-Boxen (Seite 44) gehalten.

Zum Experiment wurde der Blindstopfen der Führungskanüle durch eine Mikrodialysesonde ersetzt. Die aktive Membran der Sonde hatte eine Länge von 1 mm. Die Sonde wurde an die Mikrodialysepumpe CMA100 angeschlossen. Diese pumpte mit 1,8 µl/min eine Ringerlösung als Austauschflüssigkeit in das Gehirn. Die Dialysate wurden ununterbrochen während des gesamten Experimentes gesammelt. Die Ratten hielten sich im Warteraum des Holeboards auf. Nach 1 h, die zur Stabilisierung der Basislinie der Dialysate (à 27 bis 28 µl in 15 min) diente, wurde den Tieren die Möglichkeit gegeben, das Holeboard erstmals für 10 min zu erkunden. Der Erkundungszeitraum wurde wegen der Kompliziertheit der zu erlernenden Bewegung so hoch angesetzt. Der Kopf der Ratten ist mit implantierter Mikrodialysesonde etwa 2 cm höher als normal. Da die Löcher des Holeboards einen Durchmesser von 6 cm haben, wird die normale Bewegung der Ratte – zentral die Nasenspitze in ein Loch zu führen – enorm eingeschränkt. Durch den Aufbau auf ihrem Kopf müssen die Ratten einen neuen Bewegungsablauf erlernen, der es ihnen ermöglicht, durch ein Abducken des Kopfes bei gleichzeitigem Hochziehen der Schultern an den Ränder des Loches und dem Abstemmen der Hinterpfoten auf dem glatten Boden des Holeboards, die Schnauzenspitze dezentral in das Loch zu schieben und so an das Futterpellet zu gelangen. Wegen dieser komplexen Bewegung wurde auch die Versuchszeit von 2 min (Uzakov et al., 2005) auf 4 min erhöht. Damit die Ratten während dieses Testdurchganges nur lernten, dass es in diesen Löchern Futter gibt und wie sie daran gelangen können, wurden alle Löcher mit Futterpellets beködert. Hatte eine Ratte in weniger als den vorgegebenen 10 min bereits 6 oder 7 Pellets aus den Löchern entfernt, wurde der Übungsdurchlauf vorzeitig beendet. Zum einen geschah dies, um die Futterdeprivation nicht aufzuheben, zum anderen um den Ratten, die diese komplizierte Bewegung langsamer lernten, keinen zu großen Nachteil zu verschaffen.

Vor den eigentlichen Trials im Holeboard wurden Basiswerte der Dialysate aufgezeichnet. Unmittelbar vor jedem Trial wurde das Sammelgefäß ausgetauscht, so dass jedes Dialysat einen vollständigen Trial im Holeboard und den anschließenden bis zu den vollen 15 min Sammlungszeit verbleibenden Zeitraum erfasste. Die Dialysate wurden unmittelbar nach dem Austauschen in den Autoinjektor des HPLC-Systems gegeben und auf ihre Inhalte hin analysiert. Kawahara et al. (2001) fanden nach der Applikation verschiedener Substanzen (NMDA, Kainat, Idazoxan, Propranolol) in den Locus coeruleus im mPFC Konzentrationsänderungen für DA und NA über wenigstens 60 min. Daher erscheint es richtig, die Sammlungszeit von 15 min als sinnvoll für die Registrierung von Änderungen der Neurotransmitterkonzentrationen zu betrachten.

Ein Versuchsdurchgang im Holeboard lief auf folgende Weise ab. Fünf Löcher wurden zufällig ausgewählt (mit zwei Würfeln, bei 6 x 6 Löchern je einer für eine Koordinate) oder nach dem festgelegten Muster mit Futterpellets

beködert. Der Probenbehälter wurde nach den abgelaufenen 15 min Sammlungszeit durch einen neuen ersetzt. Unmittelbar darauf wurde das Tier durch die Schleuse vom Warteraum in den Experimentierteil des Holeboards geschickt. Dabei musste darauf geachtet werden, dass die Verbindung zur Mikrodialyse-Pumpe erhalten blieb. Betrat die Ratte das eigentliche Holeboard, wurden die Holeboard- und die Videoaufzeichnungen gestartet. Der Zeitraum des Experimentes war auf 240 s begrenzt. Die Aufzeichnungen wurden entweder nach Ablauf dieser Zeit oder wenn die Ratte alle Pellets gefunden hatte gestoppt. Unmittelbar danach wurde das Tier aus dem eigentlichen Holeboard mit Hilfe des Handlingstuches entfernt und in den davor gelegenen Warteraum überführt. Hier verblieb die Ratte unbeeinflusst bis zum Start des nächsten Trials und dem davor erfolgenden Austausch des Probenbehälters.

Das einzelne Experiment erstreckte sich in Anlehnung an andere Arbeiten (Uzakov et al., 2005; Korz und Frey 2007; Makhracheva-Stepochkina et al., 2008) über 3 Tage: 5 Trials wurden am ersten Tag durchgeführt, 4 am zweiten und ein Lauf am dritten Tag. Am Ende jedes Versuchstages verblieb das Tier für die 15 min eines weiteren zu sammelnden Dialysates im Warteraum des Holeboards. Da der letzte Trial des Tages (5., 9., 10.) jeweils nach maximal 4 min beendet ist, sich dem noch weitere 11 min verbleibender Sammelzeit dieses Dialysates anschließen, verbringt das Tier die nächsten 26 bis maximal knapp 30 min nach dem letzten Trial noch im Warteraum des Holeboards.

Die Tiere der Kontrollgruppen verblieben während ihrer kompletten Versuchszeit, d.h., während der Sammlung der Dialysate, im Warteraum vor dem Holeboard. Sie hatten, wie die anderen Gruppen auch, keinen Zugang zu Wasser und erhielten während dieser Zeit auch keine Nahrung. Sie verbrachten den größten Teil dieser Zeit schlafend.

Bei dem Teil der Verhaltensversuche, bei denen in den PFC eine Injektion mit spezifischen Blockersubstanzen erfolgte, wurde, bis auf die folgende Beschreibung, wie eben erwähnt vorgegangen. Nach abgeschlossener Aufnahme der Basiswerte wurde unmittelbar vor dem ersten Trial im Holeboard die intakte Mikrodialysesonde durch eine ohne Membran ausgetauscht. Dadurch war es möglich, dem Tier in den PFC Substanzen in den gegebenen Konzentration zu injizieren. Bei einem Teil der Versuche wurde 1 μ l einer SCH 23390-Lösung (Schering, Deutschland) in einer Konzentration von 10 ng/ μ l bei einer Geschwindigkeit von 1 μ l/2 min mit einer Hamilton-Spritze als DA-Rezeptorblocker injiziert. Bei anderen Experimenten wurde 1 μ l einer Propranolol-Lösung als Blocker noradrenerger Rezeptoren ebenfalls in einer Konzentration von 10 ng/ μ l mit einer Geschwindigkeit von 1 μ l/2 min gegeben. Auch die Kontrollsubstanz, 1 μ l einer NaCl-Lösung, wurde in einer Konzentration von 10 ng/ μ l mit einer Geschwindigkeit von 1 μ l/2 min injiziert. Nach der Applikation verblieb die membranlose Mikrodialysesonde noch für eine halbe Stunde in der Führungskanüle, um eine Diffusion der Substanz weg von der Sondenspitze zu ermöglichen. Danach wurde wieder eine intakte Sonde eingesetzt und der normale Versuchsablauf fortgesetzt.

3.3.5 Analysen und Auswertung

Alle Probenbehälter mit den gesammelten Dialysaten wurden nach jeweils 15 min ausgetauscht. Die Dialysate wurden unmittelbar (innerhalb 1 min) in das HPLC-System in einem Volumen von jeweils 15 µl injiziert. Der Rest der Dialysate verblieb im auf 7 °C abgekühlten (um eine rasche Denaturierung der Substanzen zu vermeiden) Autoinjektor, bis die korrekte Aufzeichnung des Chromatogramms durch das HPLC-System abgeschlossen und die Analyse somit erfolgreich war.

Das Sammeln der Dialysate erfolgte in den Tetanus-Versuchen bis 5 h post-tetanisch. In den Verhaltensversuchen wurde das Sammeln bis etwa 30 min nach dem Start des letzten Trials fortgesetzt. D.h., dass nach der Aufnahme des letzten Trials ein weiteres Dialysat gesammelt wurde.

Nach dem Ende des Experimentes wurde die korrekte Position der Mikrodialysesonde respektive der Führungskanüle und des Stoppers im Zielgebiet histologisch untersucht. Die Ratten wurden durch eine Überdosis Nembutal artgerecht und schnell getötet. Anschließend wurden sie dekapitiert. Nach Entfernung der Dentalzementkappe wurde das Gehirn sehr vorsichtig dem Schädel entnommen. Das Gehirn wurde unmittelbar darauf in durch flüssigem Stickstoff auf ca. -30 °C heruntergekühltem Isopentan schockgefroren. In einem auf -18 °C gekühlten Mikrotom wurden von den Zielgebieten der Untersuchungen, dem HC und dem PFC, 40 µm dicke Schnitte angefertigt, auf Objektträger aufgezogen und bei 37 °C auf einer Heizplatte getrocknet. Die Position der Führungskanüle der Mikrodialysesonde wurde durch ein Lichtmikroskop verifiziert.

Die Induzierung von early- und late-LTP in den HC durch die hier benutzten Reizparadigma des Tractus perforans sind sehr gut dokumentiert (Seidenbecher et al., 1995 und 1997; Frey et al., 2001 und 2003; Uzakov et al., 2005; Korz und Frey 2007; Makhracheva-Stepochkina et al., 2008). Um die elektrochemischen Änderungen untersuchen zu können, die die Auslösung und Erhaltung einer solchen hippocampalen LTP begleiten, wurden die beschriebenen Stimulationsparadigma verwendet.

Von mir durchgeführte Vorversuche mit paralleler Implantation von Reizelektrode, Ableitelektrode und Mikrodialysesonde bestätigten die Resultate der oben erwähnten Arbeiten. Da die gleichzeitige Implantation von Ableitelektrode und Führungskanüle im HC durch den notwendigerweise sehr geringen Abstand zwischen beiden extrem zeitaufwendig ist und vor allem einen hohen Tierversbrauch durch einen sehr hohen Prozentsatz an misslungenen Präparationen verursacht, wurde auf diese Art der Versuchsdurchführung verzichtet.

Da die Neurotransmittersysteme des DA, NA und 5-HT im Gehirn auch in vielen anderen Funktionen als bei den Lernvorgängen und der Ausbildung von LTP eine Rolle spielen, ist die Konzentration dieser Substanzen in einem bestimmten Hirnareal wohl niemals über einen längeren Zeitraum konstant. Deshalb wurde den Tieren in beiden Versuchen (HC und PFC) jeweils eine Zeitspanne von 1 h gegeben, um sich vom Handling, also dem Einsetzen der Mikrodialysesonde und der Verbindung zur elektrischen Stimulation, zu erholen. 30 min nach dem

Handling wurden 2 Dialysate aufgenommen. Diese sind in den Abbildungen dargestellt. Die Konzentrationen der Neurotransmitter im nächsten Dialysat wurden immer als Basiswerte angesehen und als 100 % für jeden anderen Wert gesetzt.

Die Konzentrationen für jeden Neurotransmitter wurden in den Versuchen über eine Sammlung von je 15 min bestimmt und als Prozentwert der Basis-konzentrationen angegeben. Zusätzlich wurden die so erhobenen Daten jedes Individuums als Prozentwert für jeden Zeitpunkt festgestellt und einer statistischen Berechnung unterworfen. Dazu wurde die ANOVA (Allgemeines Lineares Modell) mit wiederholten Messungen verwendet. Als Zwischensubjektvariablen wurden die einzelnen Gruppen und die Zeit als Innersubjektvariable verwendet. Unterschiede bzw. Korrelationen wurden nur als signifikant dargestellt, wenn $p < 0,05$ war. Die arithmetischen Mittelwerte und Standardfehler sind in den Abbildungen angegeben.

Aufgrund der teilweise geringen Versuchstieranzahl in einzelnen Gruppen wurde bisweilen auf die Anwendung der statistischen Methode ANOVA (s. unten stehende Formel) verzichtet und stattdessen das statistische Mittel der signifikanten Korrelation herangezogen. Hierbei wurde die Spearman-Korrelation nach der weiter unten stehenden Formel angewandt. Dies geschah besonders bei den Auswertungen zur Relevanz und Abhängigkeit der einzelnen im Holeboard aufgezeichneten Verhaltensparameter untereinander und bezüglich der untersuchten Neurotransmitter.

ANOVA

- (1) *Nullhypothese*: $H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k$
- (2) *Alternativhypothese*: $H_1 : \exists i, j : \mu_i \neq \mu_j$
- (3) *arithmetisches Mittel*: $\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$
- (4) *Stichprobenvarianz*: $var = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$
- (5) *gemeinsame Varianz*: $var_g = \frac{n_1 var_1 + n_2 var_2}{n_1 + n_2}$
- (6) *F-Verteilung*: $F = \frac{n_1 n_2 (\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}{(n_1 + n_2) var_g} = \frac{n_1 n_2 (\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}{n_1 var_1 + n_2 var_2}$
- (7) *Signifikanz*: $F_{k-1, n-k} > F_{(k-1, n-k)_{0,05}}$
für $k =$ Gruppenanzahl und $n =$ Anzahl der Meßwerte
sowie der Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %

Spearman-Korrelation

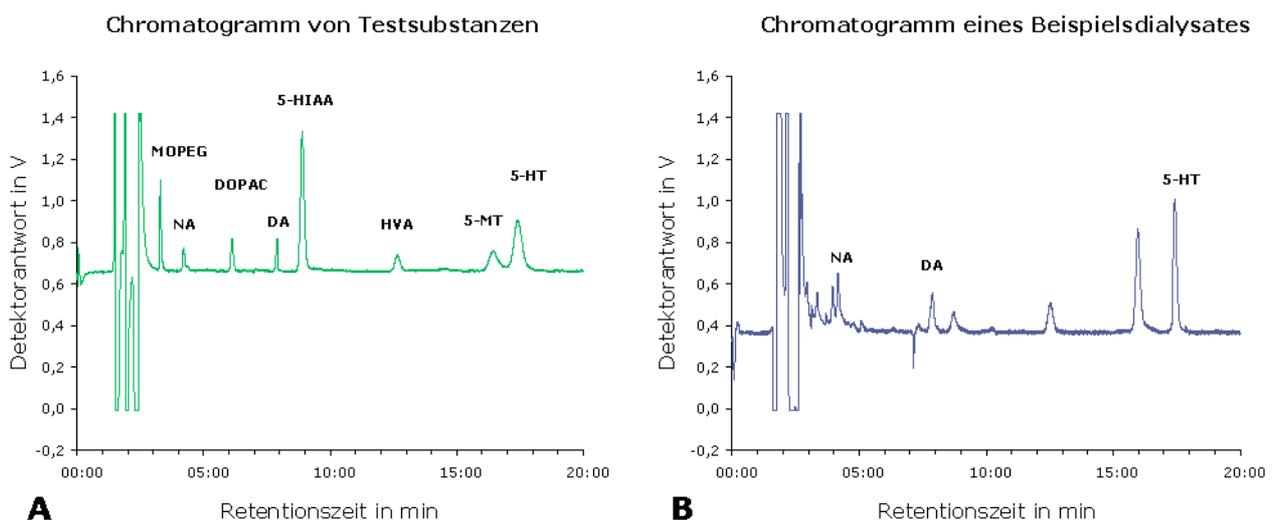
$$\rho_s = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \sum (y_i - \bar{y})^2}} \quad \rho_s \in [-1, 1]$$

- $\rho_s = \pm 1$ *lineare Abhängigkeit zwischen x und f(x) ist 100 %*
 $\rho_s = 0$ *keine lineare Abhängigkeit zwischen x und f(x)*

4 Ergebnisse

4.1 Chromatogramme der HPLC

Die Auswertung der gesammelten Dialysate mit der HPLC lieferte eine Vielzahl von Chromatogrammen, in denen, methodenbedingt, mehr oder weniger alle im jeweiligen Dialysat vorkommenden Substanzen deutlich mit einem Peak in Erscheinung traten. Um die interessierenden Neurotransmitter anhand ihrer Retentionszeit zu erkennen, wurden in Vorversuchen eine Vielzahl von Testsubstanzen mit der HPLC analysiert. Dabei wurden auch Nebenprodukte der interessierenden Neurotransmitter analysiert. Die Auswahl der Nebenprodukte erfolgte aufgrund ihrer vermuteten Häufigkeit. Nicht alle dieser eingesetzten Substanzen konnten in der Mehrzahl der Dialysate mit einem auswertbaren Peak identifiziert werden. Daher wurde auf ihre Auswertung verzichtet.



verändert nach Neugebauer et al. Brain Res. 2009;1273:29-38.

Abbildung 4.1. Beispielchromatogramme. Chromatogramm A zeigt 8 in einer Mischung injizierten Vergleichssubstanzen (MOPEG – 3-Methoxy-4-hydroxyphenylethylenglycol, NA – Noradrenalin, DOPAC – 3,4-Dihydrophenylethylsäure, DA – Dopamin, HIAA – 5-Hydroxyindolethylsäure, HVA – Homovanilinsäure, 3-MT – 3-Methoxytyramin, 5-HT – Serotonin [jeweils in Konzentrationen von 4-10 pg/μl]). Das rechte Chromatogramm B zeigt ein typisches Abbild eines Dialysates (NA – Noradrenalin, DA – Dopamin, 5-HT – Serotonin).

Die Analyse der gesammelten Dialysate erfolgte mit Hilfe der elektrochemischen Detektion der HPLC (s. Seite 37). In Abbildung 4.1 sind zwei Beispielchromatogramme dargestellt. Im linken Chromatogramm sind 8 Testsubstanzen analysiert worden. Darunter die 3 interessierenden Neurotransmitter (DA,

NA und 5-HT), aber auch Vorstufen und Abbauprodukte dieser Substanzen (MOPEG, DOPAC, HIAA, HVA, 3-MT). Das rechte Chromatogramm zeigt ein typisches Resultat der Mikrodialyse. Interessant ist, dass der negative Peak sich nur in den Dialysaten nicht aber in der ins Gehirn gepumpten Ersatzflüssigkeit fand.

Die Sensivität des verwendeten Setups betrug für DA 13,06-32,64 nmol/l (oder 2-5 pg/ μ l), für NA 11,82-23,64 nmol/l (oder 2-4 pg/ μ l) und für 5-HT 45,40-68,10 nmol/l (oder 8-12 pg/ μ l).

4.2 Neurotransmitter im Hippocampus

Im HC wurde einerseits die Auswirkungen der elektrophysiologischen Stimulation auf die verschiedenen Neurotransmittersysteme näher untersucht. Andererseits wurde versucht, entsprechende Veränderungen auch unter nichtartifizialen Bedingungen, also dem normalen Verhalten der Tiere beim Suchen und Lernen im Holeboard, nachzuweisen.

4.2.1 Dopamin

Elektrophysiologische Stimulation

Die Abbildung 4.2 auf Seite 52 zeigt den Zeitverlauf der extrazellulären Konzentration von DA im HC.

Die Basalwerte des hippocampalen DA lagen für die elektrophysiologisch stimulierten Tiere im Bereich von $151,39 \pm 8,03$ nmol/l oder $23,19 \pm 1,23$ pg/ μ l (arithmetischer Mittelwert aller Tiere dieser Gruppen und Standardfehler).

Der Signifikanztest zeigte einen Unterschied der DA-Konzentrationen zwischen den Zeitverläufen der einzelnen Gruppen [$F(2,34) = 4,5979$, $p < 0,05$]. Paarweise post-hoc-Tests fanden Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der schwach und der stark tetanisierten Gruppe sowie zwischen der schwach und der stark tetanisierten Gruppe. Es gibt keinen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe ohne jegliche elektrophysiologische Stimulation und den Werten der Basislinie.

Nach der Induktion eines schwachen Tetanus, der üblicherweise zur Ausbildung einer early-LTP führt, gab es einen signifikanten und schnellen Anstieg des DA. Diese Erhöhung der Konzentration hielt für etwa 1 h an. Etwa 2 h nach dem Tetanus erreichte die Konzentration des DA wieder die Größe der Basiswerte und zeigte auch nicht länger signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe.

Die Zeitverlauf der DA-Konzentration der stark tetanisierten Gruppe, die üblicherweise eine late-LTP ausbildet, zeigte einen sehr ähnlichen initialen Anstieg wie die schwach tetanisierte Gruppe. Jedoch ist der Anstieg der Konzentration größer und hielt auch mehr als 4 h posttetanisch an, bevor er wieder zur Basislinie abfiel.

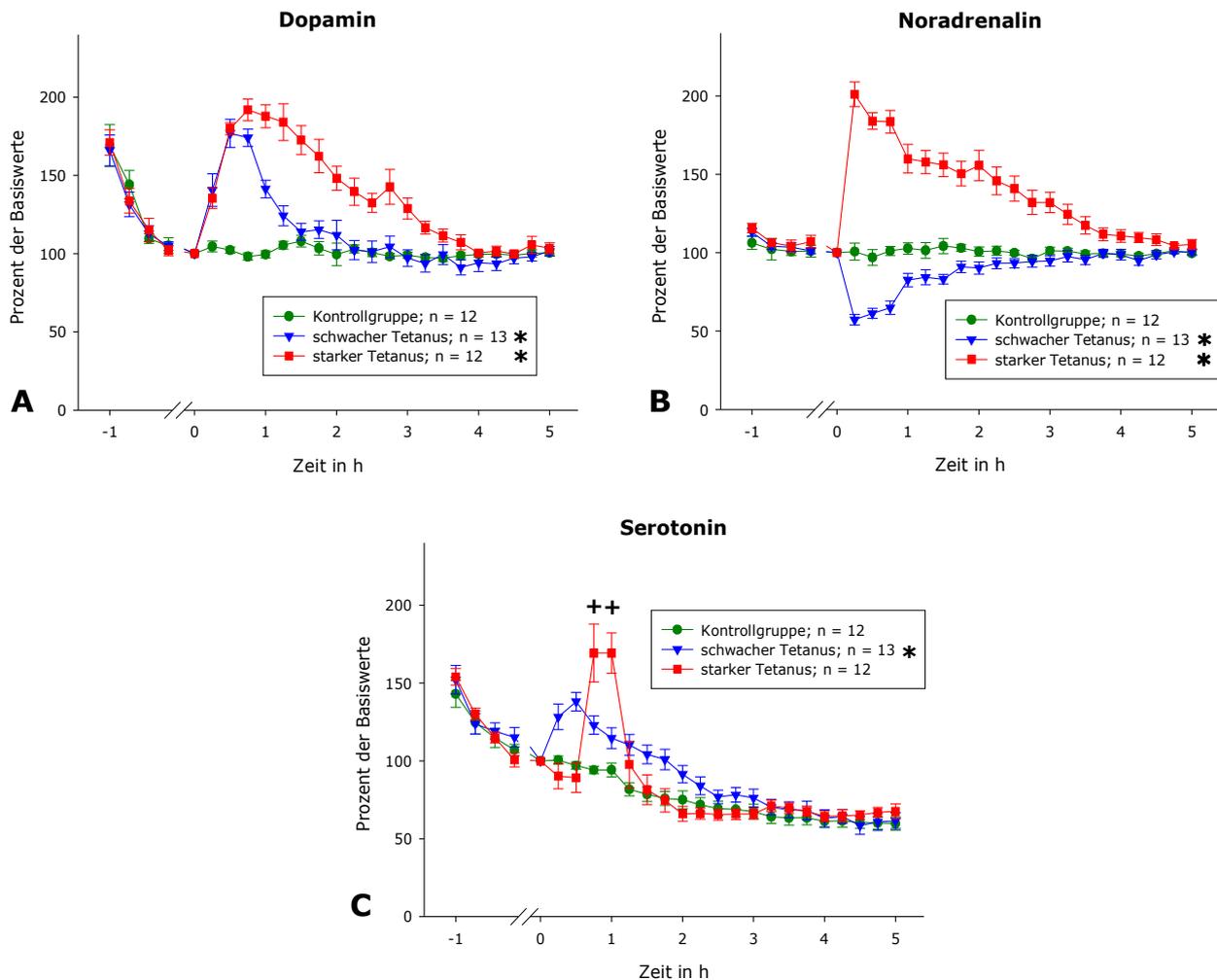


Abbildung 4.2. Zeitverlauf der Konzentration der extrazellulären, hippocampalen Neurotransmitter in Abhängigkeit der Stimulation über den Tractus perforans. A. DA. B. NA. C. 5-HT. Die Sterne hinter den Gruppen geben signifikante Unterschiede zu den anderen Gruppen an bei $p < 0,05$. Die Plus-Symbole weisen signifikant unterschiedliche Einzelwerte aus ($p < 0,05$).

Verhaltensbedingte Änderungen

Die im Holeboard durchgeführten Verhaltensversuche bei gleichzeitiger Mikrodialyse ergaben für die Konzentration des extrazellulären DA im HC den in Abbildung 4.3 auf Seite 55 dargestellten Verlauf.

Die Basalwerte des hippocampalen DA lagen für die nicht elektrophysiologisch stimulierten Tiere im Bereich von $170,29 \pm 7,07$ nmol/l oder $26,09 \pm 1,08$ pg/ μ l (arithmetischer Mittelwert aller Tiere dieser Gruppen und Standardfehler) und erreichte damit ähnliche Werte wie die stimulierten Tiere.

Ebenfalls wie bei den Aufzeichnungen für NA und 5-HT ist bei DA eine aktivitätsabhängige Konzentrationsänderung erkennbar. Nach der Verbindung der Tiere mit dem Mikrodialysetup sinken die Werte für beide Gruppen rasch auf den Basiswert.

In der auf ein konstantes Pelletmuster trainierten Gruppe steigt die DA-Konzentration im 1. Trial auf etwa 120 % des Ausgangswertes. Im 2. bis 5. Trial werden konstant Werte knapp unter 150 % des Basiswertes erreicht. Nach dem 5. Trial sinkt die Konzentration auf ca. 105 % rasch ab. Am 2. Versuchstag wird eine DA-Konzentration von etwa 150 % bereits im 6. Trial, dem ersten des Tages, erreicht. Geringfügig höhere bis über 155 % werden im 7. und 8. Trial erreicht. Im 9. Trial sinkt die Konzentration unter den Wert des 6. Trials auf etwa 140 %. Der Messwert nach dem 9. Trial sinkt wiederum auf ca. 105 %. Am 3. Versuchstag, im 10. Trial wird nur ein Wert von ungefähr 130 % des Ausgangswertes erreicht.

Bei der auf ein zufälliges Verteilungsmuster trainierten Gruppe ist der Verlauf der Konzentration des extrazellulären DA prinzipiell ähnlich dem der auf ein konstantes Muster trainierten Gruppe. Jedoch sind in der ersteren die Standardfehler deutlich geringer, der Kurvenverlauf gleichmäßiger.

Auch hier sinkt die Konzentration nach Verbindung mit dem Mikrodialysetup rasch auf den Ausgangswert. Im 1. Trial wird eine Änderung der Konzentration auf ca. 120 % erreicht. Diese steigert sich bis zum 5. Trial nur geringfügig aber stetig auf etwa 125 % des Basiswertes. Nach dem 5. Trial erfolgt eine rasche Verringerung der Konzentration auf ca. 100 %. Ähnlich ist der Verlauf am 2. Versuchstag. Nur wird hier die Maximalkonzentration von ca. 125 % bereits im ersten Trial des Tages, dem 6., erreicht. Ebenso schnell verringert sich die Konzentration nach dem 9. Trial wiederum auf 100 %. Analog ist der Verlauf mit dem Anstieg auf 125 % und dem Abfall auf 100 % am 3. Tag.

Die dargestellte Übersicht aller im HC untersuchter Neurotransmitter während der Holeboardversuche mit konstantem Verteilungsmuster der Pellets zeigt eine deutliche Aktivitätsabhängigkeit der Konzentrationsänderungen. Während der einzelnen Trials sind die Konzentrationen deutlich erhöht und verringern sich danach immer wieder auf die Ruhe- respektive Ausgangswerte.

Ähnliches gilt für die gezeigten hippocampalen Konzentrationen der Neurotransmitter während der Holeboardversuche mit zufälligem Pelletmuster. Auch hier ist deutlich eine aktivitätsabhängige Komponente zu erkennen, während eine kognitive Änderung nicht offensichtlich ist.

Der Signifikanztest zeigte einen Unterschied der DA-Konzentrationen zwischen den Zeitverläufen der Gruppe mit konstantem Pelletmuster und der Kontrollgruppe [$F(2,21) = 4,098$; $p < 0,05$]. Es gibt keinen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und der ein zufälliges Pelletmuster suchenden Gruppe sowie zwischen den Testgruppen.

4.2.2 Noradrenalin

Elektrophysiologische Stimulation

Das Diagramm B der Abbildung 4.2 zeigt den Zeitverlauf der extrazellulären Konzentration von NA im HC nach elektrophysiologischer Stimulation.

Die Basalwerte des hippocampalen NA lagen bei $133,05 \pm 18,09$ nmol/l oder $22,51 \pm 3,06$ pg/ μ l (arithmetischer Mittelwert aller Tiere dieser Gruppen und Standardfehler) für die elektrophysiologisch stimulierten Tiere.

Nach der Induktion eines schwachen tetanischen Stimulus, der üblicherweise zu einer early-LTP führt, verringert sich die NA-Konzentration schnell auf etwa 60 % des mittleren Basiswertes. Daraufhin folgt ein langsamer aber stetiger Anstieg bis die Konzentration ca. 3 h nach der schwachen Tetanisierung das Niveau der Kontrollgruppe erreicht wird. Im weiteren Zeitverlauf sind beide Kurven nahezu identisch.

Im Gegensatz dazu verursacht die Induktion eines starken Tetanus, der üblicherweise zu einer late-LTP führt, einen sehr raschen Anstieg der NA-Konzentration bis zu etwa 200 % der Basiswerte. Dem folgt eine sehr langsame Verringerung der Konzentration bis ca. 5 h nach dem starken Tetanus die Konzentration der Kontrollgruppe erreicht wird.

Es gibt signifikante Unterschiede zwischen den Zeitverläufen der NA-Konzentrationen der einzelnen Gruppen [$F(2,34) = 5,4967$; $p < 0,05$] mit signifikanten post-hoc-Tests zwischen der Kontrollgruppe, der schwachen und der starken Tetanus-Gruppe und zwischen der schwachen und der starken Tetanus-Gruppe. Es gibt keinen signifikanten Unterschied zwischen der Kontrollgruppe ohne jegliche elektrophysiologische Stimulation und dem Basiswert zum Zeitpunkt Null.

Verhaltensbedingte Änderungen

Die im Holeboard durchgeführten Verhaltensversuche bei gleichzeitiger Mikrodialyse ergaben für die Konzentration des extrazellulären NA im HC den in Diagramm B der Abbildung 4.3 auf Seite 55 dargestellten Verlauf.

Die Basalwerte des hippocampalen NA lagen für die nicht elektrophysiologisch stimulierten Tiere bei $124,83 \pm 16,78$ nmol/l oder $21,12 \pm 2,84$ pg/ μ l (arithmetischer Mittelwert aller Tiere dieser Gruppen und Standardfehler) und damit unwesentlich geringer als bei den stimulierten Tieren. Die Konzentration des NA steigt während des ersten Trials auf etwa 120 % des Basiswertes. Vom 2. bis zum 5. Trial liegen die Werte relativ dicht bei 150 % des Basiswertes. Nach dem letzten Trial des Tages sinkt die Konzentration wieder auf den Ausgangswert. Die Werte der 4 Trials des zweiten Versuchstages ähneln in ihrem Verlauf und ihrer Größe (≤ 150 %) stark den Werten des 2. bis 5. Trials.

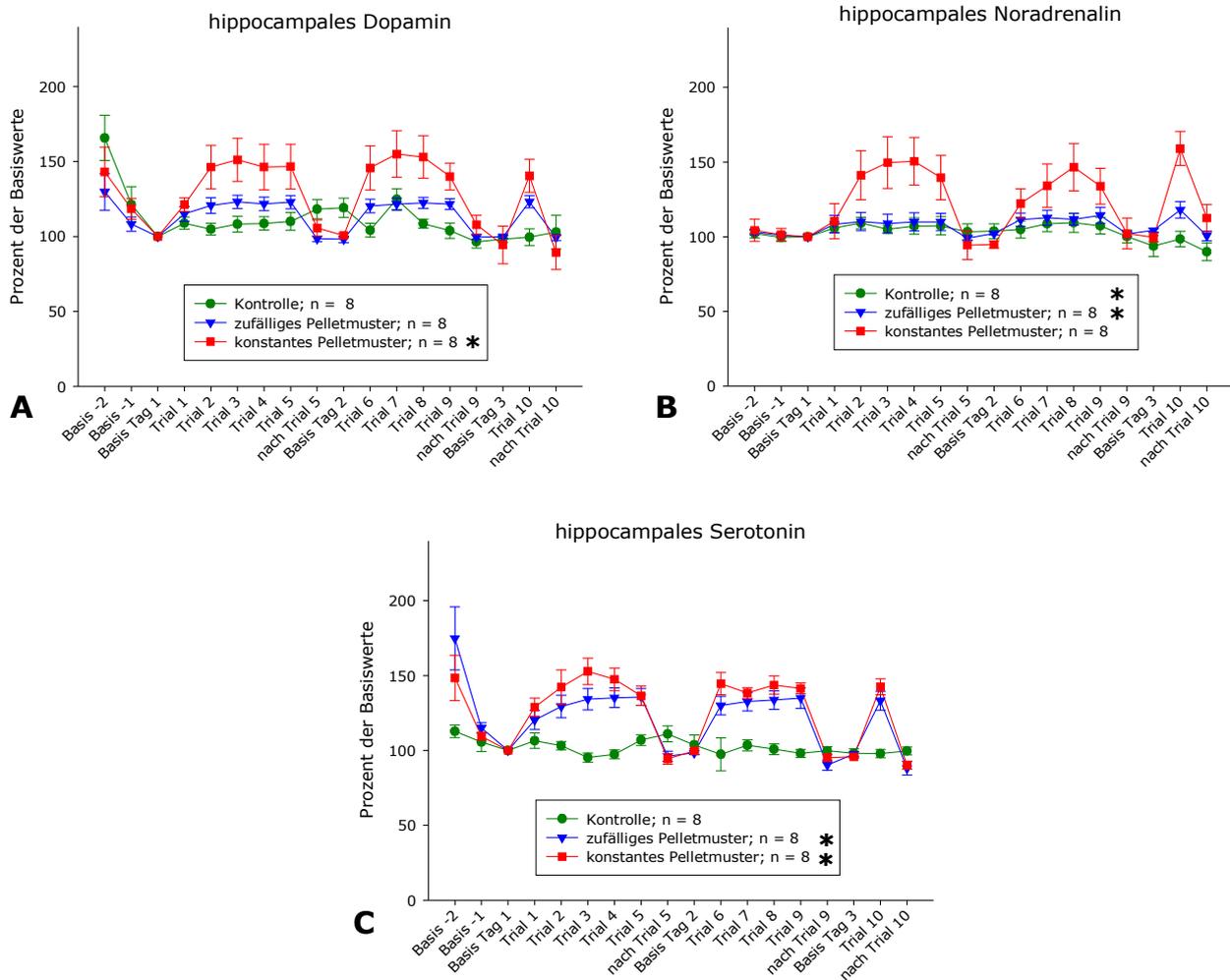


Abbildung 4.3. Zeitverlauf der Konzentration der extrazellulären, hippocampalen Neurotransmitter während der Holeboardversuche. Die Sterne hinter den Gruppen geben signifikante Unterschiede zu den anderen Gruppen an ($p < 0,05$).

Auch nach dem 9. Trial sinkt die Konzentration wieder auf den Ausgangswert. Die Konzentration des 10. Trials liegt bei über 150 % des Basiswertes. Hier ist der Anstieg gegenüber den ersten beiden Versuchstagen, bei denen 1. und 6. Trial geringere Werte aufwiesen, wesentlich steiler. Nach dem 10. Trial sinkt die Konzentration des NA auf ca. 110 % des Ausgangswertes.

Der Zeitverlauf der Konzentration des extrazellulären, hippocampalen NA bleibt bei zufälligen Pelletmustern gegenüber den Werten bei konstanten Mustern nahezu unverändert. Beide Kurven ähneln sich in ihrem Verlauf sehr. Jedoch erreichen die Werte für die zufälligen Muster maximal etwa 120 % des Basiswertes gegenüber ca. 150 % für die konstanten Muster. Es gibt signifikante Unterschiede zwischen den Zeitverläufen der NA-Konzentrationen der einzelnen Gruppen [$F(2,21) = 15,321$; $p < 0,05$] mit signifikanten post-hoc-Tests zwischen der Kontrollgruppe und der konstanten Muster-Gruppe sowie zwischen der zufälligen und der konstanten Muster-Gruppe.

4.2.3 Serotonin

Elektrophysiologische Stimulation

Der Zeitverlauf der extrazellulären Konzentration von 5-HT im HC nach elektrophysiologischer Stimulation ist in Abbildung 4.2 auf Seite 52 dargestellt. Die Basalwerte des hippocampalen 5-HT lagen für die elektrophysiologisch stimulierten Tiere bei $367,11 \pm 50,05$ nmol/l oder $64,69 \pm 8,82$ pg/ μ l (arithmetischer Mittelwert aller Tiere dieser Gruppen und Standardfehler) und damit in ähnlichen Bereichen wie die stimulierten Tiere.

Es gibt eine langsame aber stetige Verringerung der 5-HT-Konzentration in allen Gruppen. Auch und besonders deutlich wird dies in der Kontrollgruppe ohne jegliche elektrophysiologische Stimulation. Die 5-HT-Konzentration erreicht nach 5 h etwa 70 % des mittleren Basiswertes.

Nach der Applikation eines schwachen Tetanus, der üblicherweise zu einer early-LTP führt, erhöht sich die Konzentration von 5-HT auf etwa 130 % des Basiswertes. Dem folgt eine sehr langsame Verringerung, bis nach ca. 3 h der Zeitverlauf der Kontrollgruppe erreicht wird.

In den ersten 30 min nach der Applikation eines starken Tetanus, der üblicherweise zu einer late-LTP führt, sinkt die Konzentration auf etwa 90 % des Basiswertes ab, jedoch noch unter die Konzentrationen zu den gleichen Zeitpunkten in der Kontrollgruppe. Dieser Unterschied ist zwar im gewählten Signifikanzniveau nicht signifikant zu den Basiswerten, jedoch zu den Werten des schwachen Tetanus. Zwischen der 30. und der 60. posttetanischen Minute, dem Zeitraum der nächsten beiden Dialysatsammlungen, steigt die 5-HT-Konzentration stark an. Die Werte beider Messungen liegen mit 170 % signifikant ($p < 0,05$) höher als die Basiswerte. Danach sinkt die 5-HT-Konzentration beinahe ebenso rasch wieder ab und ist im weiteren Zeitverlauf nahezu identisch mit der langsam absinkenden Kurve der Kontrollgruppe.

Der Signifikanztest fand einen Unterschied zwischen den Zeitverläufen der 5-HT -Konzentrationen zwischen den Gruppen [$F(2,34) = 2,4017$, $p < 0,05$]. Post-hoc-Tests zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen der schwach tetanisierten und der Kontrollgruppe. In der stark tetanisierten Gruppe unterschieden sich nur die beiden höchsten Werte signifikant von der Kontrollgruppe.

Verhaltensbedingte Änderungen

Die im Holeboard durchgeführten Verhaltensversuche bei gleichzeitiger Mikrodialyse ergaben für die Konzentration des extrazellulären 5-HT im HC den in Abbildung 4.3 auf Seite 55 dargestellten Verlauf.

Die Basalwerte des hippocampalen 5-HT lagen für die nicht elektrophysiologisch stimulierten Tiere bei $371,07 \pm 38,29$ nmol/l oder $65,39 \pm 6,74$ pg/ μ l (arithmetischer Mittelwert und Standardfehler).

Auch hier zeigt sich, ähnlich wie für NA, eine eher aktivitätsabhängige Änderung der 5-HT-Konzentration. Bei zufälligem wie bei konstantem Pelletmuster verringern sich die Konzentrationen rasch nach dem Anschließen der Tiere an das Mikrodialysetup und dem Beginn der Aufzeichnungen.

Bei den Tieren, die auf ein konstantes Pelletmuster trainiert worden, wird bereits in Trial 1 eine 5-HT-Konzentration von etwa 130 % des Basiswertes erreicht. Im 3. Trial wird mit ca. 150 % das Maximum erreicht. Danach fällt zum 5. Trial die Konzentration leicht zu etwa 140 % des Basiswertes ab. Der nach dem 5. Trial gemessene Wert liegt im Durchschnitt deutlich unter dem Ausgangswert sowie dem Wert der Kontrollgruppe für diesen Zeitpunkt. Der 2. Versuchstag, Trials 6 bis 9, zeigt einen ähnlichen Verlauf wie der erste Tag. Jedoch steigt im 6. Trial die Konzentration des 5-HT sofort auf etwa 140 % des Basiswertes. Sie schwankt in den nächsten Trials um diesen Wert, sinkt allerdings auch nach dem letzten Trial rasch auf eine Konzentration knapp unter dem Ausgangswert. Am 3. Versuchstag, im 10. Trial ist der Konzentrationsverlauf analog; rascher Anstieg von ca. 100 % auf etwa 140 %, danach rascher Abfall auf ungefähr 90 % des Basiswertes.

Bei den auf ein zufälliges Verteilungsmuster der Pellets trainierten Tiere ist sehr ähnlich dem Verlauf bei konstantem Muster ebenfalls ein langsamer Anstieg im Verlauf des 1. Trials auf ca. 120 % zu verzeichnen. Dieser setzt sich, allmählich schwächer werdend, bis zum 5. Trial (etwa 140 % des Basiswertes) fort. Nach dem letzten Trial des Tages erfolgt eine Verringerung der 5-HT-Konzentration auf knapp unter 100 % des Ausgangswertes. Der Verlauf des zweiten Tages ähnelt dem des ersten. Nur erfolgt der Anstieg im 6. Trial auf ungefähr 130 % und erhöht sich bis zum 9. Trial auf etwa 140 %. Danach sinkt die Konzentration auf ca. 90 %. Der Verlauf am 3. Tag ist analog zum 2. Tag.

Der Signifikanztest fand einen Unterschied zwischen den Zeitverläufen der 5-HT-Konzentrationen zwischen den Gruppen [$F(2,21) = 12,898$; $p < 0,05$]. Post-hoc-Tests zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen beiden Testgruppen und der Kontrollgruppe.

4.3 Neurotransmitter im PFC

4.3.1 Dopamin

Die Basalwerte des präfrontalen DA lagen für die untersuchten Tiere im Bereich von $220,34 \pm 11,41$ nmol/l oder $33,75 \pm 1,75$ pg/ μ l (arithmetischer Mittelwert aller Tiere dieser Gruppen und Standardfehler) und damit höher als im HC.

Am zweiten Tag des Versuches sind die Basiswerte denen des ersten Tages sehr ähnlich. Die DA-Konzentration steigt im Lauf 6 auf etwas über 100 % an. Danach erhöht sich die Geschwindigkeit des Anstiegs. Im Lauf 7 beträgt die Konzentration des DA bereits 120 % des Basiswertes, im Lauf 9 dann etwa

130 %. Der Kontrollwert nach dem 9. Trial pendelt sich wieder um den Ausgangswert ein. Auffallend ist die an diesem Versuchstag gegenüber dem ersten deutlich geringere Standardabweichung.

Eine auffallend große Standardabweichung zeigen die Basiswerte am 3. Versuchstag. Geringer sind die Abweichungen dann bei den beiden letzten Messwerten, dem 10. Trial und dem Kontrollwert nach dem 10. Lauf. Der während des 10. Laufs aufgenommene Messwert liegt bei etwa 120 %, der anschließende Kontrollwert wiederum bei etwa 100 % des Basiswertes des ersten Versuchstages. Der Zeitverlauf der Konzentration des DA im PFC bei einem zufälligen Verteilungsmuster der beköderten Löcher des Holeboards ist weniger klar durch die einzelnen Trials beeinflusst als bei den trainierten Tieren. Die wesentlich größeren Standardabweichungen sind die Ursache dafür, dass sich keine deutlichen Trends ablesen lassen. Der Zeitverlauf der DA-Konzentration im PFC ist im Diagramm der Abbildung 4.4 auf Seite 59 dargestellt. Wieder wird von einem Basiswert ausgegangen, dessen Sammelzeitraum unmittelbar vor dem ersten Lauf im Holeboard endet. Alle anderen Messungen des einzelnen Tieres beziehen sich auf diesen, als 100 % gesetzten Wert. Die Kurve der suchenden Ratten mit einem konstanten Verteilungsmuster der Futterpellets steigt allmählich und mit größer werdender Standardabweichung bis auf etwa 120 % des Basiswertes in den Läufen 4 und 5 an. Der Kontrollwert nach dem letzten Trial des Tages erreicht nur noch etwa 105 %. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen wurden nicht gefunden.

4.3.2 Noradrenalin

Der Zeitverlauf der NA-Konzentration im PFC während der Holeboard-Versuche ist in Abbildung 4.4 auf Seite 59 dargestellt.

Die Basalwerte des präfrontalen NA lagen für die untersuchten Tiere im Bereich von $144,63 \pm 21,45$ nmol/l oder $24,47 \pm 3,63$ pg/ μ l (arithmetischer Mittelwert aller Tiere dieser Gruppen und Standardfehler) und damit etwas höher als im HC.

Bei den Versuchen mit einem zufälligen Verteilungsmuster der Futterpellets kommt es während und nach dem ersten Trial zu einem Abfall der NA-Konzentration auf etwa 90 % des Basiswertes. Dieses Level wird bis zum letzten Trial des Versuchstages gehalten und steigt dann im Kontrollwert wieder auf knapp unter 100 %. Der Basiswert des zweiten Tages liegt auch nahe 100 %. In den anschließenden Läufen 6 bis 9 steigt die Konzentration des NA erst auf etwa 105 % (Lauf 7) an und sinkt dann auf etwa 90 % (8 und 9) ab. Der abschließende Kontrollwert besitzt eine deutlich vergrößerte Standardabweichung. Am dritten Versuchstag liegt der Basiswert bei etwa 90% des Ausgangswertes. Während des 10. Trials und der abschließenden Messung ändert sich die Konzentration des NA kaum. Allgemein sind bei diesen Messungen die Standardabweichungen im Vergleich mit den Werten der Versuche mit konstantem Verteilungsmuster deutlich größer.

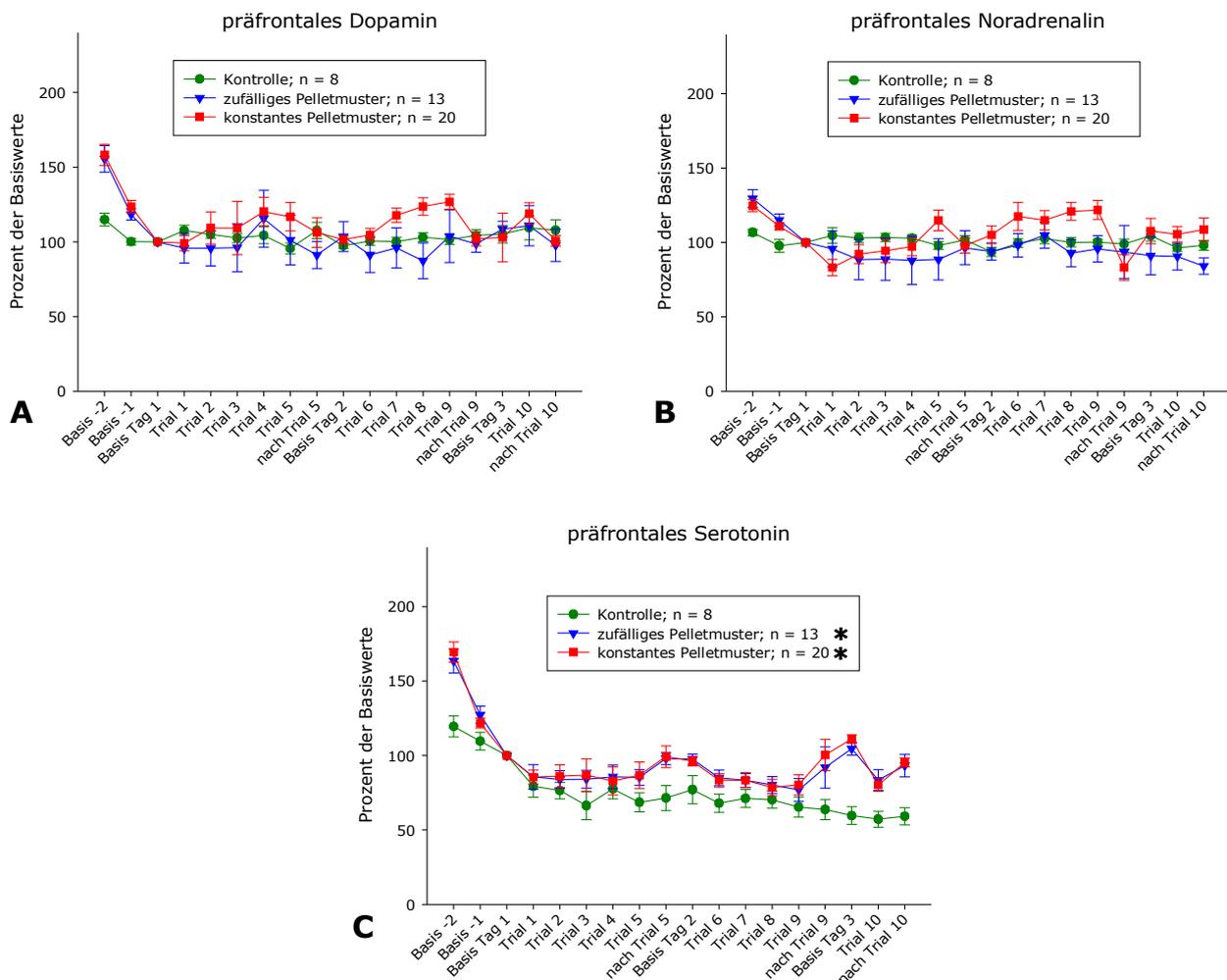


Abbildung 4.4. Zeitverlauf der Konzentrationen der extrazellulären, präfrontalen Neurotransmitter während der Holeboardversuche.

Bei der Betrachtung des Zeitverlaufs der NA-Konzentration im PFC bei konstant beköderten Holeboardlöchern fällt als erstes die geringere Standardabweichung auf. Während und nach dem ersten Lauf sinkt die Konzentration des NA auf etwa 80 % des Basiswertes ab. Bis zu Beginn des 5. Trials steigt die Konzentration auf ca. 95 % an. Im und nach dem 5. Trial steigt die NA-Konzentration auf etwa 115 % des Basiswertes an, um im anschließenden Kontrollwert wieder auf etwa 95 % abzusinken.

Am zweiten Tag des Versuches liegt die Ausgangskonzentration wieder nahe 100 % des Basiswertes. Von Trial 6 bis einschließlich des 9. Trials liegt die Konzentration des NA bei nahezu 120 % des Basiswertes. Der anschließende Kontrollwert beträgt dagegen nur noch etwa 80 %. Am letzten Versuchstag liegt der Basiswert bei knapp über 100 % des Ausgangswertes. Der zehnte Trial verursacht ein leichtes Absinken des NA auf etwa 100 %. Der abschließende Kontrollwert hat nahezu die gleiche Größe.

Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen wurden nicht gefunden.

4.3.3 Serotonin

Der Zeitverlauf der 5-HT-Konzentration im PFC während der Holeboard-Versuche ist in Abbildung 4.4 auf Seite 59 dargestellt.

Die Basalwerte des präfrontalen 5-HT lagen für die untersuchten Tiere im Bereich von $426,22 \pm 71,07$ nmol/l oder $75,11 \pm 12,52$ pg/ μ l (arithmetischer Mittelwert aller Tiere dieser Gruppen und Standardfehler) und damit höher als im HC.

Klar zu erkennen ist, dass es zwischen den Ergebnissen der suchenden Tieren nur marginale Unterschiede zwischen den Versuchen mit einem konstanten und einem zufälligen Verteilungsmuster der Futterpellets gibt. Beide Konzentrationskurven sinken während des ersten Trials auf etwa 85 % des Basiswertes ab. Diese Konzentration wird bis zum 5. Trial gehalten. Der nach dem letzten Lauf des Tages aufgenommene Kontrollwert erreicht in beiden Teilversuchen wieder Werte um den Basiswert. Zwischen den beiden Gruppen gibt es bis zu diesem Zeitpunkt keine signifikanten Unterschiede.

Am zweiten Tag des Versuches starten beide Gruppen, zufälliges und festes Verteilungsmuster der Futterpellets, mit Werten nahe 100 % des Basiswertes des Vortages. In beiden Gruppen sinken die 5-HT-Konzentrationen mit dem Versuchsbeginn im 6. Trial auf Werte um 80 % des Basiswertes. Die Konzentration bleibt bis zum 9. Trial auf diesem Niveau erhalten. Die Messung des Kontrollwertes nach dem letzten Trial des Tages erbringt in beiden Gruppen eine deutlich höhere Standardabweichung bei einem Mittelwert von etwa 90 % in beiden Gruppen.

Der dritte Tag zeigt in beiden Gruppen eine leicht erhöhte Basiskonzentration des 5-HT von 105-110 % des Basiswertes des ersten Versuchstages. Dem folgt im Verlauf des 10. und letzten Trial des Versuches ein deutlicher Abfall der Konzentration auf etwa 80 % des Basiswertes. In beiden Gruppen ist ein leichter Anstieg auf ca. 90 % des Basiswertes bei der Kontrolle nach dem einzigen Lauf im Holeboard an diesem Versuchstag zu verzeichnen.

Der Zeitverlauf der 5-HT-Konzentration im PFC der Gruppe der suchenden Tiere mit einem konstanten Verteilungsmuster der Futterpellets unterscheidet sich nur sehr gering von der Gruppe mit einem zufälligen Muster.

Der Signifikanztest fand einen Unterschied zwischen den Zeitverläufen der 5-HT-Konzentrationen zwischen den Gruppen [$F(2,38) = 5,080$; $p < 0,05$]. Post-hoc-Tests zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen beiden Testgruppen und der Kontrollgruppe.

4.4 Antagonisten der Neurotransmitter

4.4.1 SCH 23390

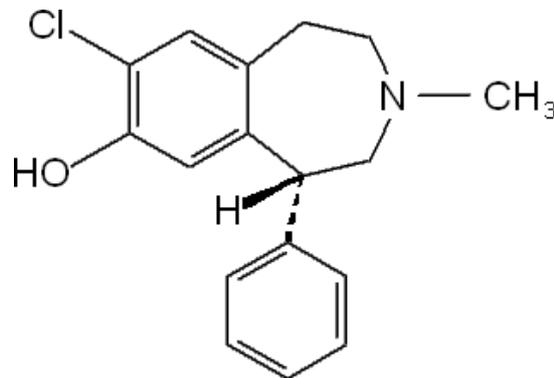


Abbildung 4.5. Strukturformel von SCH 23390.

SCH 23390 (SCH = Schering) oder 7-chloro-3-methyl-1-phenyl-1,2,4,5-tetrahydro-3-benzazepin-8-ol ist ein spezifisch auf D1-Rezeptoren wirkender DA-Rezeptor-Antagonist. Diese Substanz hat keine oder nur sehr begrenzte Effekte auf DA-D2-Rezeptoren. Dagegen wurden allgemein beruhigende Effekte, Hemmen konditionierter Vermeidungsantworten, sowie die Verschlechterung der Gedächtnisleistung nachgewiesen. SCH 23390 blockiert die kognitiven Beeinträchtigungen, die durch Stress bei Affen und Ratten ausgelöst wurden (Murphy et al., 1994, 1996a und b; Arnsten und Goldman-Rakic, 1998). DA ist somit möglicherweise ein wichtiger Vermittler für Stressreaktionen.

SCH 23390 wurde in einem Teil der Versuche als DA D1-Rezeptor-Antagonist eingesetzt. Dazu wurde jeweils am zweiten und dritten Versuchstag nach dem Sammeln des täglichen Basiswertes die Mikrodialysesonde gegen eine ohne distaler semipermeabler Membran getauscht. Durch diese wurde dann unmittelbar vor Trial 6 bzw. Trial 10 1 µl einer SCH 23390-Lösung in einer Konzentration von 10 ng/µl mit einer Geschwindigkeit von 1 µl/2 min direkt in das Zielgebiet des PFC injiziert. Details hierzu siehe am Ende des Kapitel 3.3.4 auf Seite 47 aufgeführt. Nach der Applikation des SCH 23390 wurde der normale Versuchsablauf fortgesetzt.

Dopamin

Die Auswirkungen auf die DA-Konzentration werden im Diagramm A der Abbildung 4.6 deutlich. Während die Basiswerte vor der Injektion von SCH 23390 bei 100 % des Ausgangswertes lagen, verringerte sich die Konzentration von DA im PFC danach auf ca. 50 %. Diese Größe blieb über alle Messwerte des zweiten Tages erhalten. Zu Beginn des dritten Tages war die

Konzentration wieder bei 100 % des Ausgangswertes. Nach erneuter Injektion von SCH 23390 fiel der Wert wieder auf 50 % der Ausgangskonzentration, stieg jedoch während des 10. Trials auf etwa 70 % an. Der abschließende Kontrollwert lag bei etwa 60 %. Ganz ähnlich ist der Verlauf der DA-Konzentration im Zusammenhang mit der Injektion von SCH 23390 bei Versuchen mit zufällig verteilten Futterpellets (blaue Dreiecke des Diagramms A der Abbildung 4.6). Allerdings sinkt hier die Konzentration des extrazellulären DA auf teilweise 30 % der Ausgangskonzentration ab.

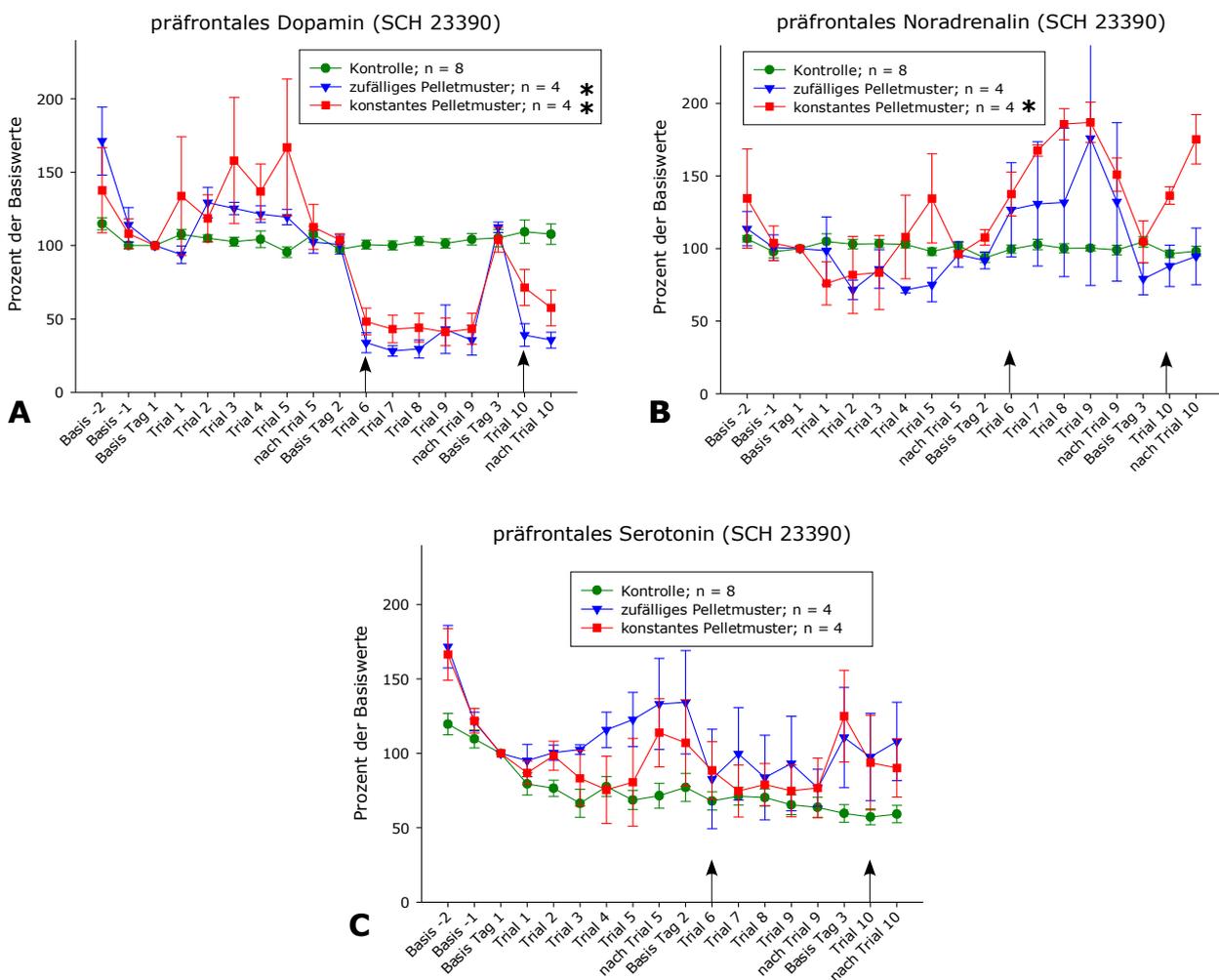


Abbildung 4.6. Zeitverlauf der Konzentrationen der extrazellulären, präfrontalen Neurotransmitter während des Holeboardversuches unter Applikation von SCH 23390 in den ipsilateralen PFC unmittelbar vor dem 6. und dem 10. Trial (Pfeile).

Zwischen der Kontrollgruppe und den beiden Testgruppen gab es in den Zeitverläufen der DA-Konzentrationen signifikante Unterschiede [$F(2,13) = 7,107$; $p < 0,05$]. Zwischen den Testgruppen gab es keine signifikanten Unterschiede.

Noradrenalin

Eine deutliche Änderung in der Konzentration des NA nach der Applikation von SCH 23390 zeigt das Diagramm B der Abbildung 4.6. Unmittelbar nach der Applikation steigt die Konzentration des NA auf etwa 140 % in beiden Testgruppen. Die NA-Konzentration steigt maximal bis auf Werte nahe 200 % des Ausgangswertes. Bei keinem anderen Versuchsteil wurden im PFC so hohe Konzentrationen erreicht. Auch in der relativen Ruhephase nach dem letzten Trial des zweiten Versuchstages liegen die Konzentrationen beider Gruppen noch bei 140 bis 150 % der Basiswerte. Uneinheitlicher ist der dritte Tag bei beiden Gruppen. In der Gruppe des konstanten Pelletmusters steigt die NA-Konzentration auf 130 % im 10. Trial und auf 170 % nach dem 10. Trial an. Dagegen liegt der Basiswert des dritten Versuchstages bei den Tieren mit einem zufälligen Pelletmuster bei etwa 80 % des Ausgangswertes. Die NA-Konzentration steigt im 10. Trial nur auf etwa 90 % und nach dem 10. Trial auf 100 % des Ausgangswertes. Auffällig sind in diesem Zusammenhang die außergewöhnlich großen Standardabweichungen in der Gruppe mit einem zufälligen Muster. Das spricht eher für einen Verlauf ähnlich dem der Konzentration in der Gruppe mit konstantem Pelletmuster.

Zwischen der Kontrollgruppe und der Testgruppe mit einem konstanten Pelletmuster gab es in den Zeitverläufen der NA-Konzentrationen signifikante Unterschiede [$F(2,13) = 7,071$; $p < 0,05$]. Zwischen den Testgruppen gab es keine signifikanten Unterschiede.

Serotonin

Weit weniger deutlich sind die Auswirkungen der Injektion von SCH 23390 auf die extrazelluläre Konzentration von 5-HT (Diagramm C der Abbildung 4.6). Bei den Versuchen mit konstantem Verteilungsmuster der Futterpellets und injiziertem SCH 23390 ähnelt der Zeitverlauf der 5-HT-Konzentration sehr dem der gleichen Versuche ohne diese Injektionen. Die geringere Anzahl an untersuchten Tieren in der Antagonistengruppe verursacht die im Vergleich deutlich vergrößerte Standardabweichung. Ähnliches ist für die Versuche mit zufälligem Verteilungsmuster für 5-HT und injiziertem SCH 23390 zu verzeichnen. Auch hier gleicht der Zeitverlauf dem der Versuche ohne Injektionen. Wohl nur die geringere Versuchstieranzahl lässt die Standardabweichungen größer werden. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen konnten nicht festgestellt werden.

4.4.2 Propranolol

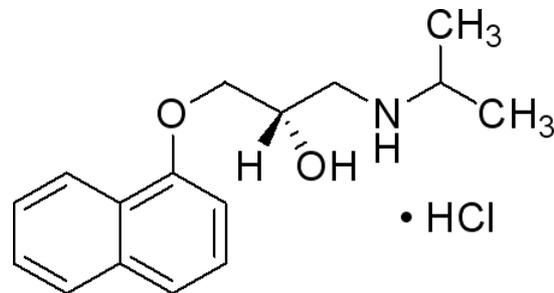


Abbildung 4.7. Strukturformel des Propranolols

Propranolol oder auch 1-(isopropylamino)-3-(naphthalen-1-yloxy)propan-2-ol ist ein nichtselektiver Blocker β -adrenerger Rezeptoren. Diese Substanz blockiert die Effekte von NA an diesen β_1 - und β_2 -Rezeptoren. Nur das L-Propranolol und nicht das D-Enantiomer hat die beschriebene Wirkung als Rezeptorantagonist. Propranolol ist ein künstlich hergestellter Stoff, der von James W. Black in den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts aus Vorstufen entwickelt wurde. Diese Vorstufen, Dichloroisoprenalin und Pronethalol, sind ebenfalls β -adrenerge Rezeptorantagonisten, jedoch deutlich ineffektiver und im Falle des Pronethalol auch stark kanzerogen. James W. Black gelang der Einbau einer Oxymethylen-Brücke in die Arylethanolamin-Struktur des Pronethalol. Dies hob nicht nur die Kanzerogenität auf, sondern verbesserte auch die Wirkung als Rezeptorantagonist erheblich. Unter anderem für diese Entwicklung erhielt James W. Black 1988 den Nobelpreis. Propranolol wird sehr häufig bei der Behandlung psychischer Erkrankungen eingesetzt. Aus diesem Anwendungsbereich ist auch die effektive Plasmakonzentration (10-100 ng/ml) im Gehirn bekannt.

Propranolol wurde in einem Teil der Versuche als β -adrenerger Rezeptorblocker eingesetzt. Dazu wurde jeweils am zweiten und dritten Versuchstag nach dem Sammeln des täglichen Basiswertes die Mikrodialysesonde gegen eine membranlose Sonde ausgetauscht. Dann wurde 1 μ l einer Propranolol-Lösung in einer Konzentration von 10 ng/ μ l mit einer Geschwindigkeit von 1 μ l/2 min direkt in das Zielgebiet des PFC injiziert. Details hierzu sind am Ende des Kapitel 3.3.4 auf Seite 47 erläutert. Nach der Applikation des Propranolol wurde der normale Versuchsablauf fortgesetzt.

Dopamin

In Abbildung 4.8 sind die Zeitverläufe für die untersuchten Neurotransmitter in den verschiedenen Holeboardversuchen mit appliziertem Propranolol dargestellt. Die DA-Konzentrationen (Abb. 4.8-A) zeigen nach Beginn der Experimente während aller drei Versuchstage eine Tendenz des Absinkens bis auf etwa 80 % des Basiswertes.

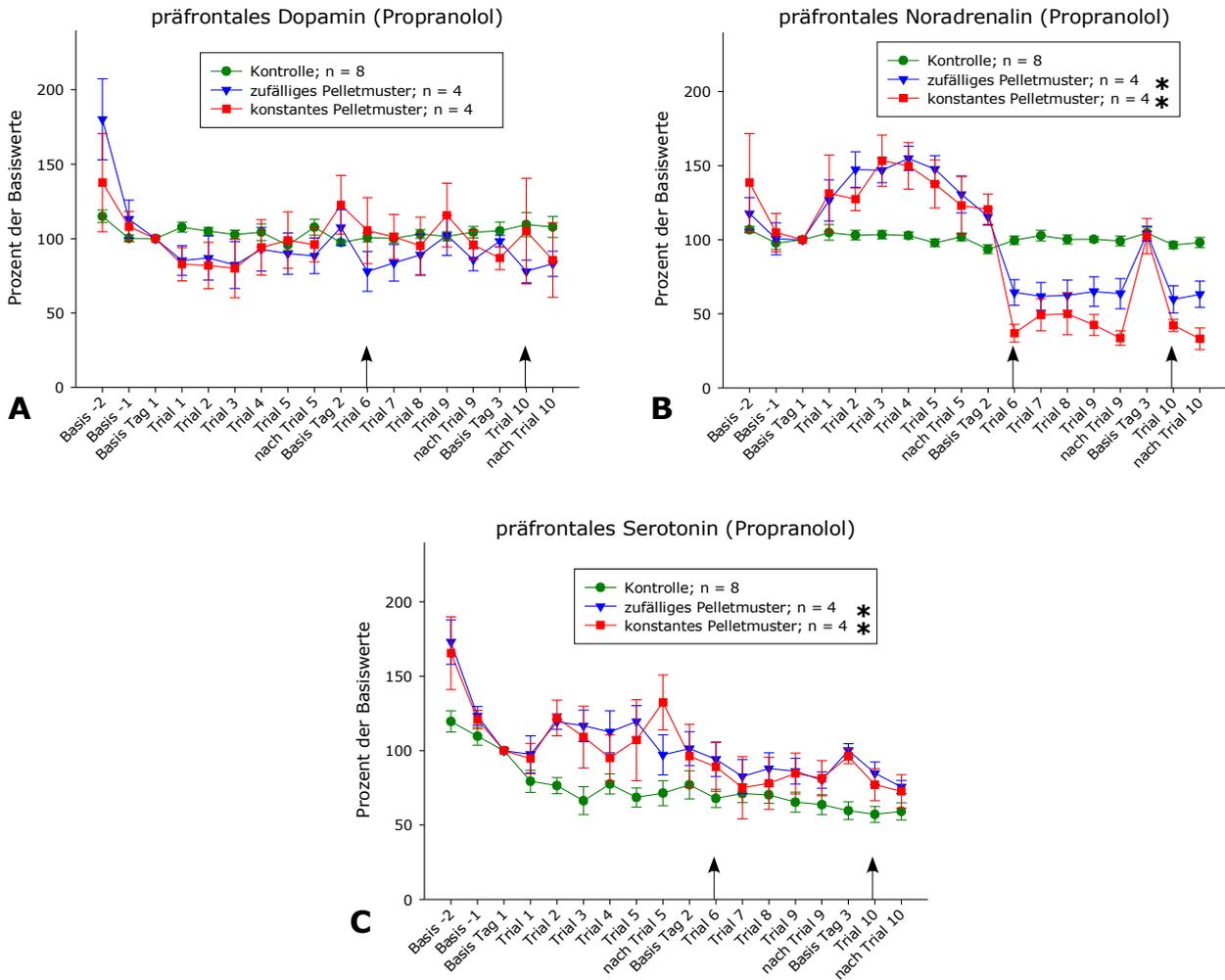


Abbildung 4.8. Zeitverlauf der Konzentrationen der extrazellulären, präfrontalen Neurotransmitter während des Holeboardversuches unter Applikation von Propranolol in den ipsilateralen PFC unmittelbar vor dem 6. und dem 10. Trial (Pfeile).

Noradrenalin

Dagegen erhöhen sich die Konzentrationen des NA (Abb. 4.8-B) bei beiden Experimenten am ersten Tag signifikant gegenüber den Basiswerten bis auf etwa 150 % der Ausgangswerte. Ebenso unterscheiden sich diese beiden Kurven am zweiten und dritten Versuchstag nach der Applikation des Propranolols von der Kontrollgruppe. Hierbei sinken die Konzentrationen des NA sofort auf 60 % (zufälliges Pelletmuster) bzw. 40 % (konstantes Pelletmuster) ab. Inwieweit der Unterschied zwischen diesen beiden Werten auf die abweichende Aufgabenstellung im Holeboard zurückzuführen sein kann, ist ungewiss. Zwischen der Kontrollgruppe und den beiden Testgruppen gab es in den Zeitverläufen der NA-Konzentrationen signifikante Unterschiede [$F(2,13) = 12,113$; $p < 0,05$].

Serotonin

Die präfrontalen 5-HT-Konzentrationen (Abb. 4.8-C) stiegen nach Beginn der Experimente bei den mit Propranolol behandelten Tieren in beiden Gruppen auf Werte zwischen 120 % und 140 % der Basiswerte an. Dagegen erreichen die Kurven am zweiten und dritten Versuchstag nur noch Werte zwischen 90 % und 105 % der Ausgangswerte. Dabei unterschieden sie sich kaum von den Werten ohne Propranolol-Applikation. Zwischen der Kontrollgruppe und den beiden Testgruppen gab es in den Zeitverläufen der 5-HT-Konzentrationen signifikante Unterschiede [$F(2,13) = 7,718$; $p < 0,05$].

4.4.3 Natriumchlorid als Kontrolle

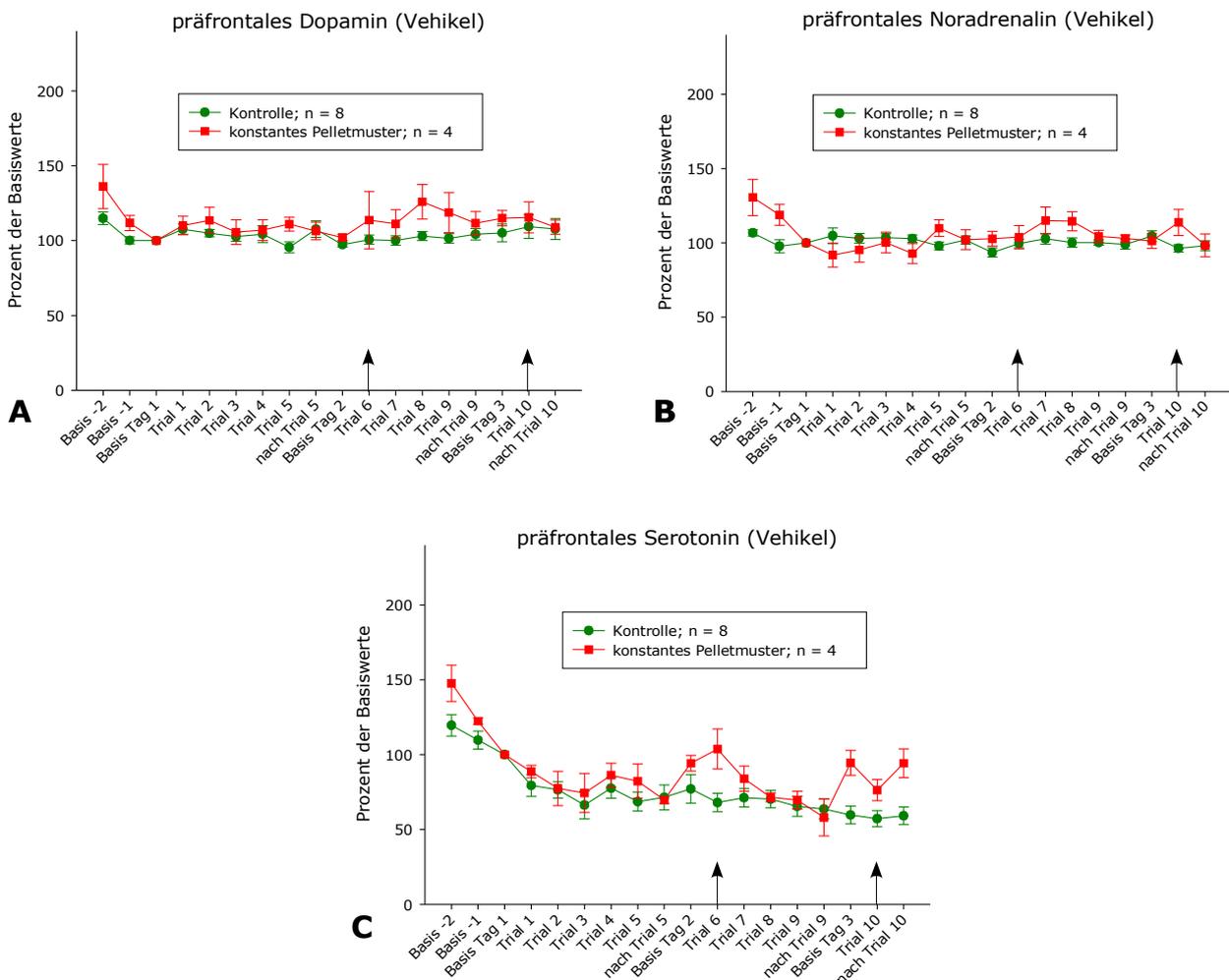


Abbildung 4.9. Zeitverlauf der Konzentrationen der extrazellulären, präfrontalen Neurotransmitter während des Holeboardversuches unter Applikation von NaCl-Lösung in den ipsilateralen PFC unmittelbar vor dem 6. und dem 10. Trial (Pfeile).

Natriumchlorid (NaCl) wurde als Kontrollsubstanz gewählt, um den Vorgang der Applikation der Antagonisten als Ursache der Änderungen der Neurotransmitterkonzentrationen und besonders der Veränderungen im Verhalten der Tiere ausschließen zu können. Die verwendeten Antagonisten Propranolol und SCH 23390 wurden vor der Applikation in einer 1 %igen NaCl-Lösung gelöst.

Für die Kontrollapplikation wurde die intakte Mikrodialysesonde gegen eine ohne distaler Membran ausgetauscht. 1 µl einer NaCl-Lösung in einer Konzentration von 10 ng/µl mit einer Geschwindigkeit von 1 µl/2 min wurde direkt in das Zielgebiet injiziert. Details hierzu sind in Kapitel 3.3.4 auf Seite 47 aufgeführt. Nach der Applikation wurde der normale Versuchsablauf fortgesetzt.

In Abbildung 4.9 sind die Zeitverläufe für die untersuchten Neurotransmitter in den verschiedenen Holeboardversuchen mit applizierter NaCl-Lösung dargestellt. Signifikante Unterschiede wurden bei keinem der drei Neurotransmitter festgestellt. Einige Abweichungen lassen sich trotzdem erkennen. So sind die Konzentrationen von DA (ca. 130 %) und NA (ca. 120 %) am zweiten Versuchstag gegenüber den Kontrollwerten (um 100 %) erhöht. Auch die Werte für 5-HT sind an diesem Tag und am letzten Tag etwas höher: ungefähr 100 % gegenüber etwa 70 % bzw. 90 % gegenüber etwa 60 % der Kontrollgruppe. Allerdings war auch bei diesem Versuchsteil die Anzahl der untersuchten Tiere gering.

4.5 Verhaltensexperimente

Die Einflüsse der Neurotransmitter DA, NA und 5-HT auf die Lern- und Gedächtnisleistungen der Ratten wurden in einem Holeboard-Versuch getestet. Dabei wurde für einen Teil der Versuchstiere eine bestimmte Verteilung der Futterpellets als konstantes Muster festgelegt (Abbildung 4.10).

Beim anderen Teil der Ratten wurde die Verteilung der fünf zu findenden Pellets durch zwei Würfel zufällig auf die 6 x 6 Löcher des Holeboards festgelegt.

Die Ratten hatten die Aufgabe, innerhalb von 4 min alle fünf Pellets zu finden und aus den Löchern zu entfernen. Geschah dies innerhalb weniger als 4 min, wurde der Versuch vorzeitig beendet. Durch die Messung verschiedener Parameter, wie der Zeit bis zum Entfernen des letzten Pellets, der zurückgelegten Wegstrecke, der Häufigkeit der Inspektion jeder einzelnen Zelle usw., lassen sich Rückschlüsse auf das Arbeits- und auf das Referenzgedächtnis ziehen.

Während des kompletten Versuches wurden Dialysate gesammelt und unmittelbar nach dem Austausch des Probengefäßes analysiert.

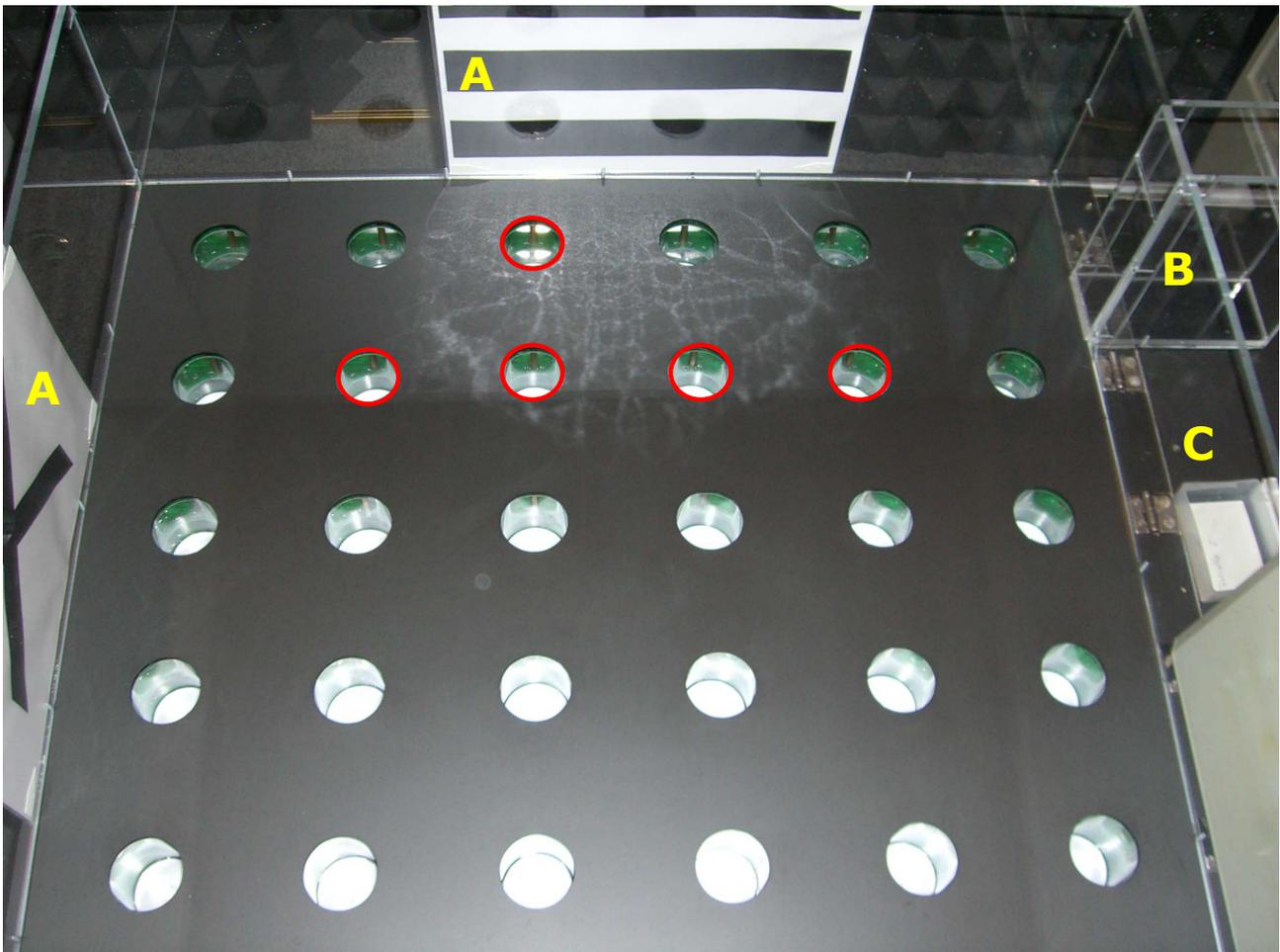


Abbildung 4.10. Fotografie des Holeboards. Zu sehen sind 30 der 36 Löcher. Die untere Reihe ist nicht im Bild. Die roten Kreise markieren die Löcher, die das konstante Pelletmuster der Versuchsreihen bildeten. A bezeichnet zwei der an den Seitenwänden des Holeboards angebrachten räumlichen Orientierungsmarken. Mit der Markierung B ist der Eingang zum Holeboard, die Schleuse, gekennzeichnet. C verweist auf den Bereich außerhalb des Holeboards, in dem sich die Tiere zwischen den einzelnen Trials aufhielten.

4.5.1 Latenz

Als Latenz wird in den vorliegenden Untersuchungen der Zeitraum bezeichnet, den die Ratten benötigen, um alle beköderten Löcher zu entdecken und die Futterpellets zu entfernen. Sie ist hier ein Maß für die Effektivität der Suche und, in den späteren Trials bei konstantem Muster, ein Maß für die Qualität des Lernens und des Gedächtnisses. Aber auch Zufall und eine glücklich gewählte Suchstrategie kann, besonders bei nichtkonstanter Verteilung der Futterpellets, einen nicht unerheblichen Einfluss auf die Ausprägung der Latenz haben.

Cortex praefrontalis

Im Diagramm A der Abbildung 4.11 auf Seite 69 ist die Latenz für die Tiere mit konstantem und mit zufälligem Verteilungsmuster dargestellt, denen eine Mikrodialysesonde in den PFC implantiert wurde. Die Latenzen beider Gruppen werden in den Läufen 1 bis 5 kleiner. Deutlich zu erkennen ist, dass die Latenz bei den auf ein festes Muster trainierten Tiere bereits am ersten Trainingstag (bis einschließlich Lauf 5) auf einen Wert sinkt, den die Ratten mit einem zufälligen Muster (pseudotraining) auch im letzten Lauf nicht erreichen. Im ersten Lauf des zweiten Tages, dem 6. Trial, verändern sich die Latenzen nur leicht: Ein Anstieg in der pseudotrainingierten Gruppe und ein Absinken in der auf ein konstantes Muster trainierten Gruppe. Nach einer deutlichen Verringerung der Latenz in beiden Gruppen im 7. Trial, ist bei der pseudotrainingierten Gruppe offensichtlich das suchstrategische Optimum erreicht. In den weiteren Läufen gelingt keine weitere Verbesserung der Latenz.

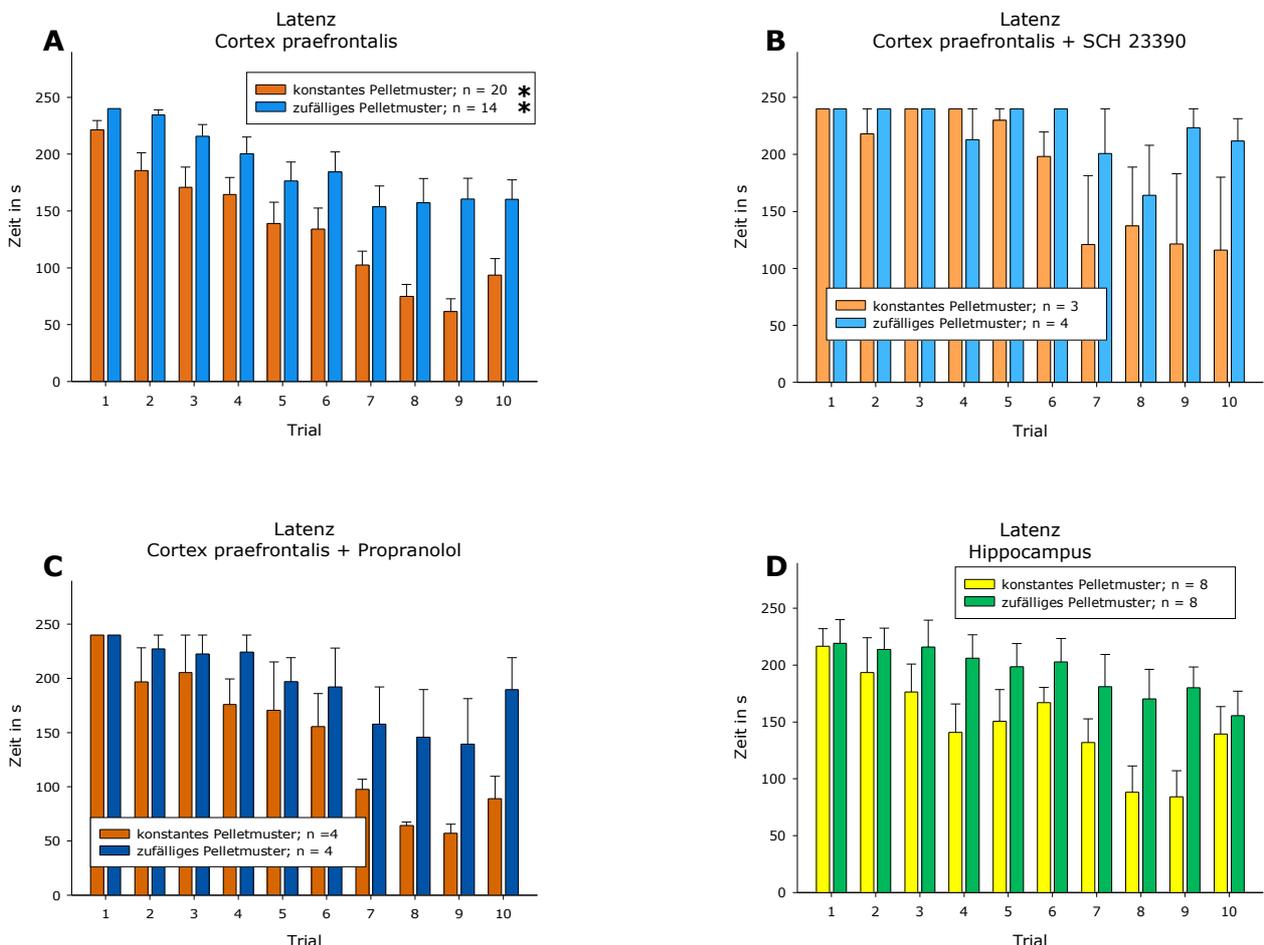


Abbildung 4.11. Zeitverlauf der Latenz in den Holeboardversuchen. Jeweils links in den einzelnen Abbildungen die Darstellung für die Tiere, die ein konstantes Pelletmuster suchen mußten, rechts für ein zufälliges Verteilungsmuster. A. PFC ohne zusätzliche Applikationen. B. PFC mit Applikation von SCH 23390 vor dem 6. und 10. Trial. C. PFC mit Applikation von Propranolol vor dem 6. und 10. Trial. D. Hippocampus ohne Applikationen.

Dagegen ist in der anderen Gruppe auch nach den Verringerungen der Latenz in den Trials 8 und 9 wohl noch nicht das Minimum erreicht. Denn der Vergleich zwischen Lauf 6 und Lauf 10, als jeweils ersten des Versuchstages, zeigt, dass auch hier eine weitere Optimierung der Suchstrategie stattfand. Sichtbar wird in diesem Diagramm auch die Notwendigkeit, wegen des durch die Mikrodialysesonde vergrößerten Durchmesser des Rattenkopfes und der dadurch zu erlernenden komplexen Bewegung die vorgegebene Versuchszeit von 2 min (Uzakov et al., 2005; Korz und Frey 2007; Makhracheva-Stepochkina et al., 2008) auf 4 min zu erhöhen (s. hierzu auch Seite 46). Bei einer Versuchszeit von zwei Minuten hätten sich erst beim 6. Trial Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ergeben.

SCH 23390

Nach erfolgter Injektion von SCH 23390 in den PFC sind die Latenzzeiten in beiden Gruppen gegenüber den unbehandelten Tieren deutlich erhöht (Diagramm B der Abbildung 4.11 auf Seite 69). Die Gruppe der Tiere mit einem zufälligen Muster der Pelletverteilung schafft es regelmäßig nur ab dem zweiten Versuchstag, alle Pellets in weniger als 200 s zu finden. Lagen bei der auf ein konstantes Muster trainierten Gruppen die Zeiten bei teilweise 70 s, werden nach der Injektion von SCH 23390 keine Zeiten mehr erreicht, die unter 110 s liegen. Allerdings ist die Anzahl der mit einem D1-Rezeptor-Antagonisten behandelten Tiere geringer als die der unbehandelten.

Propranolol

Gegenüber den mit SCH 23390 behandelten Tieren erreichen die mit Propranolol behandelten ähnliche Latenzzeiten wie die unbehandelten Ratten (Diagramm C der Abbildung 4.11 auf Seite 69). Hierbei sinkt die Latenzzeit in beiden Gruppen rasch auf Werte um 200 s im 4. und 5. Trial. Wobei die Werte der auf ein zufälliges Muster trainierten Tiere bereits ab dem 2. Trial stets größer sind als bei den auf ein konstantes Muster trainierten Tieren. Am zweiten Versuchstag (6. bis 9. Trial) sinken die Werte bei beiden Gruppen noch einmal deutlich (konstant: von 150 s auf etwa 50 s; zufällig: von 190 s auf etwa 120 s). Die mittleren Werte sind denen der unbehandelten Tiere ähnlich, meist sind sie geringfügig kleiner.

Hippocampus

Im Diagramm D der Abbildung 4.11 (Seite 69) sind die Latenzzeiten für die Holeboardversuche mit einer im HC implantierten Mikrodialysesonde dargestellt. Hier ist wie bei allen anderen Teilversuchen eine allmähliche Verbesserung der Tiere in beiden Gruppen zu verzeichnen. Im Vergleich mit den unbehandelten Gruppe des Diagramms A dieser Abbildung sind jedoch allgemein höhere Werte zu erkennen. Die Bestwerte liegen in den Trials 8 und 9 nur bei etwa 90 s bzw. 170 s und steigen im 10. Trial weiter bis auf 140 s bzw. 160 s.

NaCl

Im Diagramm A der Abbildung 4.17 auf Seite 81 sind die Latenzzeiten für die Holeboardversuche mit appliziertem Vehikel (NaCl) dargestellt. Die Werte weichen nur sehr gering von denen der unbehandelten Tiere in Diagramm A der Abbildung 4.11 auf Seite 69 ab. Lediglich geringfügige Erhöhungen von Trial 4 zu Trial 5 und Trial 8 zu Trial 9 sind zu verzeichnen. Der minimale Wert wird in Trial 8 mit etwa 50 s erreicht. In Trial 9 kommt es zu keiner weiteren Verbesserung. Die geringe Anzahl der Versuchstiere für dieses Telexperiment kann hierfür eine Ursache sein.

4.5.2 Suchgeschwindigkeit

Die Suchgeschwindigkeit der Ratten im Holeboard ist der Quotient aus dem während der Latenzzeit zurückgelegten Weg und der Zeit, die die Ratte benötigte, um alle 5 Pellets zu finden bzw. wenn dies nicht geschah, den 4 min Versuchszeit.

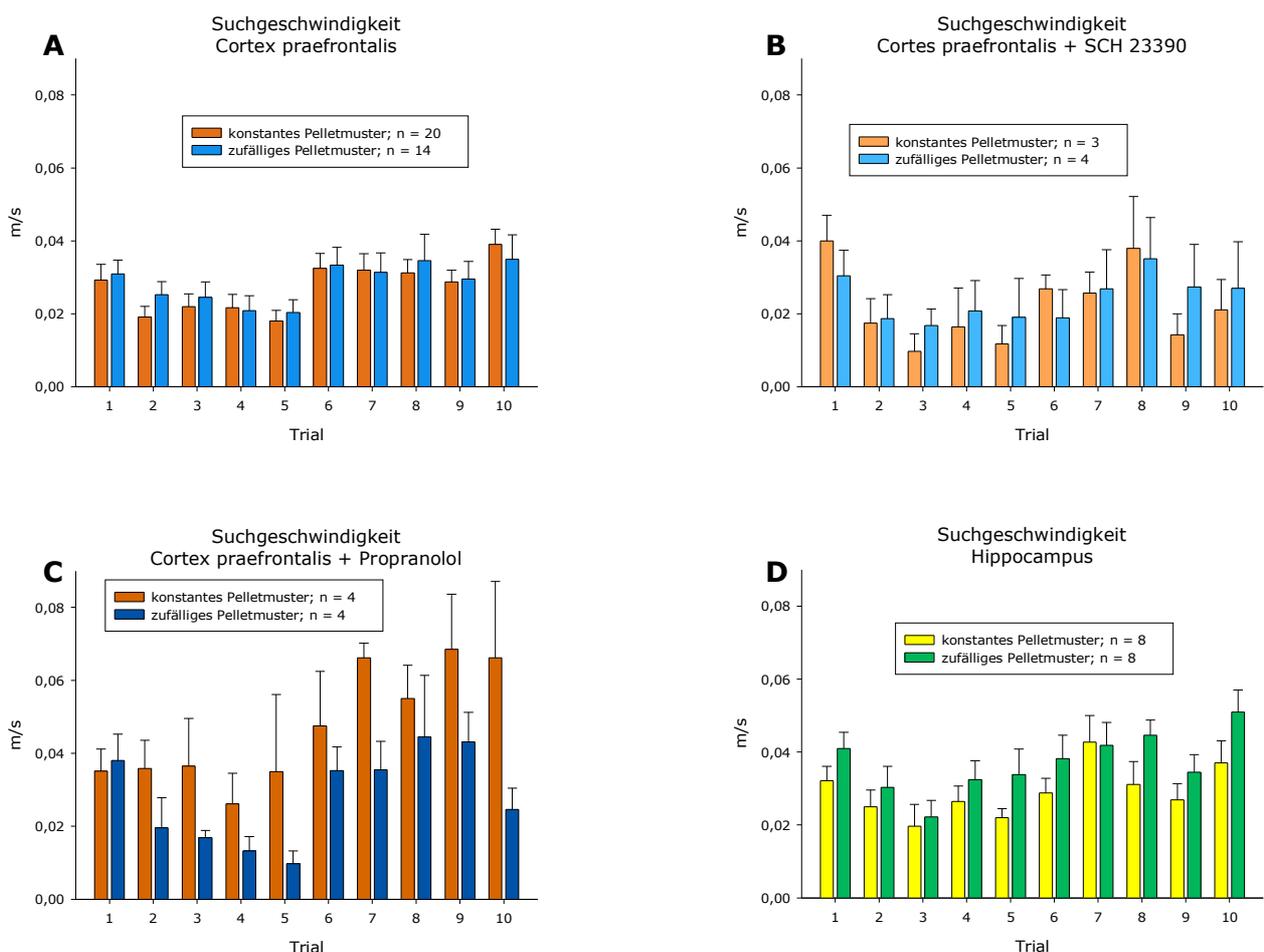


Abbildung 4.12. Verlauf der Suchgeschwindigkeit während der Holeboardversuche. Jeweils links in den einzelnen Abbildungen die Darstellung für die Tiere, die ein konstantes Pelletmuster suchen mußten, rechts für ein zufälliges Verteilungsmuster.

Cortex praefrontalis

Im Diagramm A der Abbildung 4.12 auf Seite 71 ist die Suchgeschwindigkeit für Ratten beider Gruppen dargestellt. Zwischen trainierten und pseudotrainierten Gruppen gibt es nur marginale Differenzen. Deutlicher sind die Unterschiede zwischen dem ersten Versuchstag (Lauf 1 bis 5) und den letzten 5 Läufen. Am ersten Tag laufen die Ratten beider Gruppen im Durchschnitt deutlich langsamer.

SCH 23390

In den Versuchen mit injiziertem SCH 23390 (Diagramm B der Abbildung 4.12 auf Seite 71) ist ebenfalls zwischen den beiden Gruppen kein Unterschied deutlich geworden. Auch hier scheinen jedoch die Ratten am 2. und 3. Tag schneller zu laufen. Die geringere Anzahl an Versuchstieren in diesem Teil der Experimente kann diese Differenzen jedoch erleichtern.

Propranolol

Bereits auf dem ersten Blick ist im Vergleich mit den anderen Diagrammen dieser Abbildung zu erkennen, dass die mit Propranolol behandelten Tiere nach der Applikation dieses Antagonisten eine deutlich erhöhte Suchgeschwindigkeit aufweisen (Diagramm C in Abbildung 4.12 auf Seite 71). Nach der allmählichen Verringerung der Geschwindigkeit in den ersten 5 Trials – die auch in den anderen Teilversuchen dieser Abbildung zu erkennen sind – vergrößert sich die Schnelligkeit der Suche am zweiten Versuchstag auf das zwei- bis dreifache.

Hippocampus

Im Diagramm D der Abbildung 4.12 auf Seite 71 sind die Suchgeschwindigkeiten der Tiere verzeichnet, die mit einer im HC implantierten Mikrodialysesonde die Holeboardversuche absolvierten. Diese Ergebnisse ähneln mehr denen der unbehandelten PFC-Tiere im Diagramm A dieser Abbildung. Auch hier sind die Unterschiede zwischen den Gruppen marginal. Deutlicher ist die Erhöhung der Geschwindigkeit zwischen dem ersten und zweiten Versuchstag zu erkennen.

NaCl

Ein geradezu eindeutiges Ergebnis zeigt das Diagramm B der Abbildung 4.17 auf Seite 81. Hier verringert sich die Suchgeschwindigkeit allmählich aber gleichmäßig während des ersten Versuchstages. Am zweiten Tag liegt anfangs die Geschwindigkeit über der höchsten des ersten Tages. Sie sinkt wiederum gleichmäßig ab, fällt aber nie unter den zweithöchsten des ersten Tages. Die Geschwindigkeit pendelt sich bei einem bestimmten Wert ein, der auch am dritten Tag wieder erreicht wird.

4.5.3 Wegstrecke

Die zurückgelegte Wegstrecke der Ratten im Holeboard wird automatisch durch das Videotracking-System erfasst und ausgewertet. Die auf ein konstantes Muster trainierten Ratten legen während der Versuche eine deutlich geringere Wegstrecke als die pseudotrainingierten Tiere zurück. Sie sinkt bereits im 2. Lauf von etwa 7,5 m auf weniger als 4 m, bleibt in den folgenden beiden Läufen bei diesem Wert und sinkt im 5. Lauf noch einmal auf weniger als 3 m. Bei den pseudotrainingierten Ratten sinkt die zurückgelegte Wegstrecke zwar stetiger, aber deutlich langsamer, bis sie im 5. Lauf ihr Minimum bei etwa 4 m erreicht.

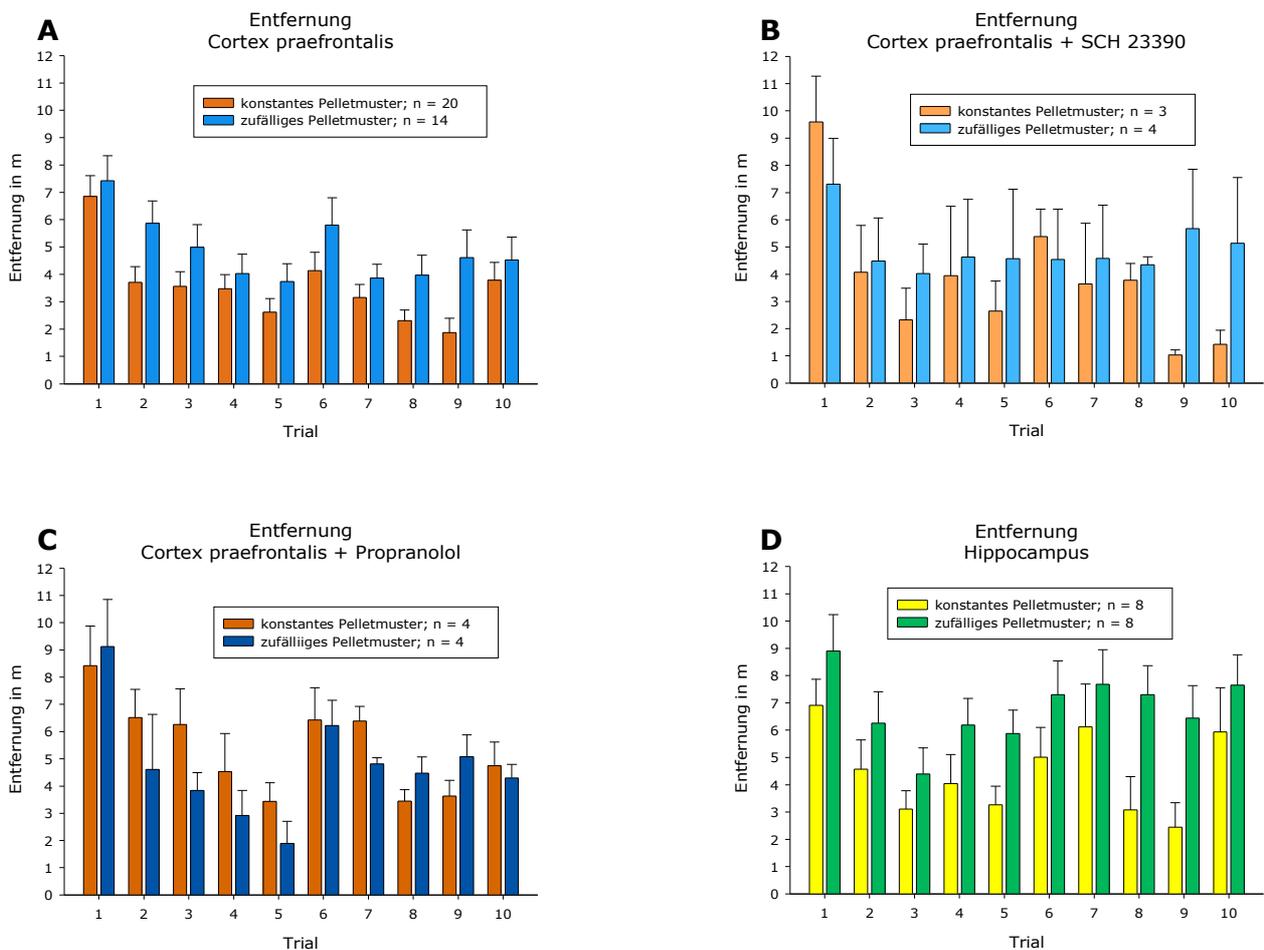


Abbildung 4.13. Darstellung der während der einzelnen Trials in den Holeboardversuchen zurückgelegten Distanzen. Jeweils links in den einzelnen Abbildungen die Darstellung für die Tiere, die ein konstantes Pelletmuster suchen mußten, rechts für ein zufälliges Verteilungsmuster.

Cortex praefrontalis

Im Diagramm A der Abbildung 4.13 auf Seite 73 sind die während der Versuche zurückgelegten Wegstrecken bei unbehandelten Tieren dargestellt. Liegen anfangs die Werte beider Gruppen noch dicht beieinander (1. Trial), so unterscheiden sie sich bereits ab dem 2. Trial deutlich. Während sich die ein konstantes Muster suchenden Tiere bereits ab dem 2. Trial eine effektive Suchstrategie zugelegt haben, die sie in den folgenden Trials des ersten Tages nur unwesentlich verbessern, können die ein wechselndes Muster suchenden Tiere nur allmählich ihren zurückgelegten Weg und damit ihre Suchstrategie effizienter gestalten.

Der zweite Versuchstag ist in beiden Gruppen zunächst mit einem Anstieg der Wegstrecke verbunden (Trainierte Ratten etwa 4 m, pseudotrainierte etwa 6 m). Dabei ähneln die erzielten Werte, denen des 2. Trials. Bei den trainierten sinken die Werte danach kontinuierlich bis auf etwa 2 m im 9. Lauf ab, während sich die Werte der anderen Gruppe zwischen 4 und 5 m einpendeln. Im 10. Trial ist wieder ein Anstieg in beiden Gruppen zu beobachten. Dabei ist der Wert der konstanten Gruppe ähnlich dem des 6. Trials, während der der zufälligen Gruppe den Werten zwischen 7. und 9. Trial ähnelt.

Bei der ein zufälliges Muster suchenden Gruppe ist wohl mit einer zurückgelegten Distanz zwischen 4 und 5 m die effektivste Suchstrategie erreicht (auf Seite 73 Abbildung 4.13-A). Hingegen fallen die ein konstantes Muster suchenden Tiere am 3. Tag deutlich hinter ihrer effektivsten Strategie zurück.

SCH 23390

Die Werte der zurückgelegten Wegstrecken in den mit SCH 23390 behandelten Gruppen (Diagramm B der Abbildung 4.13 auf Seite 73) ähneln in ihrem Verlauf denen der nicht behandelten Gruppen. Auch hier sinken die Werte der trainierten Gruppe stetig ab, während die der pseudotrainierten letztendlich um einen bestimmten Wert schwanken. Dass die Werte des 1. Trials eine größere mittlere Distanz für die ein konstantes Muster suchenden Tiere verzeichnet, ist ein unerhebliches Resultat, da zu diesem Zeitpunkt des Experimentes für beide Gruppen die Pellets zufällig verteilt sind.

Auch in diesem Telexperiment führt die geringe Anzahl von Versuchstieren zu Ergebnissen, die die deutlicheren Tendenzen der Werte in Diagramm A mimikrieren (große Standardabweichungen).

Propranolol

Diagramm C der Abbildung 4.13 auf Seite 73 zeigt die Resultate der mit Propranolol behandelten Tiere. Auffallend ist in dieser Darstellung, dass außer im 1., 8. und 9. Trial alle Werte der zufälligen Gruppe geringer sind als die der konstanten. Im Zusammenhang mit der offensichtlichen Tendenz beider Gruppen, am ersten Versuchstag stetig eine effektivere Suchstrategie zu ent-

wickeln (Verringerung der Distanz), und dem Fehlen der Klarheit dieser Tendenz am zweiten Tag, lässt sich mit der allgemeinen Vergrößerung der Distanz am zweiten und dritten Tag ein Einfluss des Propranolols vermuten.

Hippocampus

In Diagramm D der Abbildung 4.13 auf Seite 73 sind die zurückgelegten Distanzen für die HC-Sonde dargestellt. Auch hier zeigen am ersten Versuchstag beide Gruppen bis auf den 4. Trial eine klare Tendenz zu kürzeren Distanzen, d.h., zu effektiveren Suchstrategien. Während sich die Werte in der konstanten Gruppe bei etwa 3 m einpendeln, liegen sie in der zufälligen Gruppe bei 6 m. Auch in diesem Telexperiment steigen die Werte beider Gruppe zu Beginn des zweiten Tages an (konstant: 5-6 m, zufällig: 7-8 m), um dann wieder abzusinken. Die ein konstantes Muster suchende Gruppe kann im 9. Trial ihre zurückgelegte Distanz auf etwa 2,5 m stabilisieren, während die der ein zufälliges Muster suchenden Gruppe bei etwa 6 m liegt. Im 10. Trial liegen beide Gruppen wiederum oberhalb ihrer Bestwerte (6 m bzw. 8 m für die zufällige Gruppe).

NaCl

Im Diagramm C der Abbildung 4.17 auf Seite 81 sind die zurückgelegten Entfernungen der mit dem Vehikel NaCl behandelten Gruppe verzeichnet. Die aus den einzelnen Diagrammen der Abbildung 4.13 auf Seite 73 bekannte Tendenz, während des ersten Versuchstages die Suchstrategie zu effektivieren, also die Wegstrecke zu minimieren, ist auch hier deutlich erkennbar. Ausgehend von etwa 8 m im ersten Trial führt die stetige Verringerung im 5. Trial zu einer mittleren Distanz von unter 2 m. Im 6. Trial des zweiten Versuchstages steigt der Wert wieder auf etwa die gleiche Größe wie im 2. Trial an, um danach bis zum 9. wieder auf etwa 2 m zu sinken. Im 10. Trial liegt der Wert noch ein wenig unter dem des 9. Trials.

4.5.4 Bewegung

Der prozentuale Anteil der Bewegung an der Gesamtzeit im Holeboard, also die vom Videotracking-System registrierte Zeit zwischen den Inspektionen der Löcher, ist in Abbildung 4.14 auf Seite 76 dargestellt.

Cortex prefrontalis

In der Abbildung 4.14 auf Seite 76 ist der prozentuale Anteil der Bewegung im Holeboard an der gesamten dort verbrachten Zeit verzeichnet. Im Diagramm A sind die unbehandelten Tiere mit Mikrodialysesonde im PFC dargestellt.

Die Werte des ersten Versuchstages unterscheiden sich zwischen den Gruppen kaum. Sie sinken von anfangs etwa 50 % auf ca. 35 % im 5. Trial. Deutlicher sind die Differenzen zwischen den Gruppen wiederum am 2. und 3. Tag. Während sich die Werte der pseudotrainierten Gruppe auf etwas über 50 % einpendeln, bleiben die der trainierten Gruppe bei etwa 45 % konstant.

Noch klarer ist hingegen der Vergleich zwischen den Resultaten des ersten und des zweiten/dritten Tages. Bei beiden Gruppen sind die Werte am ersten Tag uneinheitlicher und niedriger als an den beiden letzten Tagen. Wobei es dann auch zu einer eindeutigen Differenzierung zwischen den Gruppen kommt.

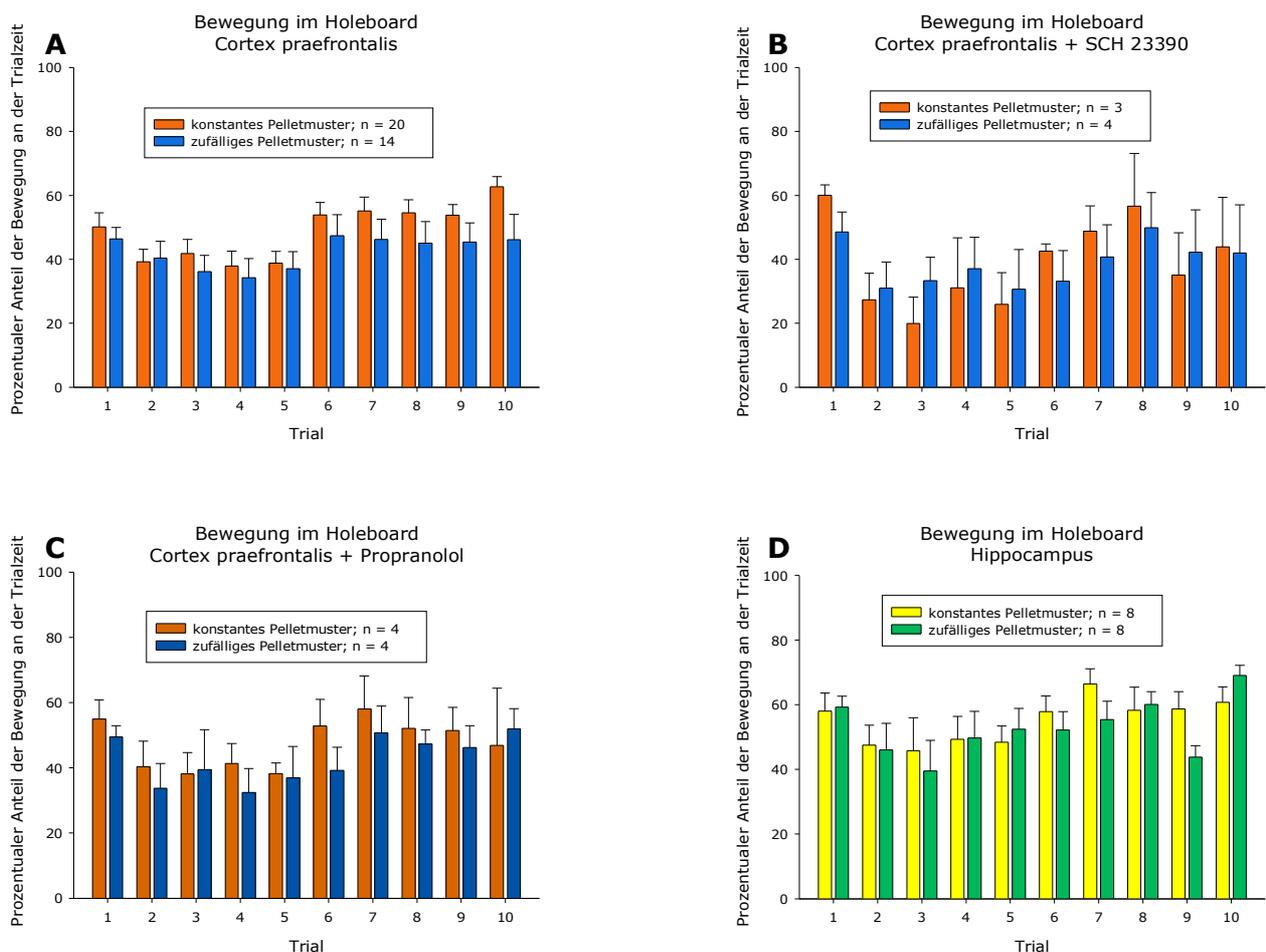


Abbildung 4.14. Prozentualer Anteil der Bewegung während der Holeboardversuche. Jeweils links in den einzelnen Abbildungen die Darstellung für die Tiere, die ein konstantes Pelletmuster suchen mußten, rechts für ein zufälliges Verteilungsmuster.

SCH 23390

Im Diagramm B der Abbildung 4.14 auf Seite 76 sind die Ergebnisse der mit SCH 23390 behandelten Tiere dargestellt. Das Ergebnis ist uneinheitlicher als in den unbehandelten Gruppen. Jedoch ist auch hier der Trend zu einem Anstieg am 2. und 3. Versuchstag gegenüber dem 1. Tag vorhanden.

Propranolol

Diagramm C der Abbildung 4.14 auf Seite 76 zeigt die Ergebnisse der mit Propranolol behandelten Tiere. Die Klarheit der Tendenz der Resultate liegt zwischen unbehandelten und den mit SCH 23390 behandelten Tieren. Auch hier ist der Bewegungsanteil in beiden Gruppen am zweiten und dritten Tag höher als am ersten. Ebenso verbringen auch bei diesem Telexperiment die ein konstantes Muster suchenden Tiere während des zweiten und dritten Tages einen größeren Zeitanteil mit der Bewegung zwischen den Löchern. Beiden Gruppen ist die einheitlichere Größe des Bewegungsanteils am zweiten und dritten Tag eigen.

Hippocampus

Im Diagramm D der Abbildung 4.14 auf Seite 76, der Darstellung der Resultate für die HC-Sonde, sind nicht so klare Tendenzen zu verzeichnen. Weder unterscheiden sich beide Gruppen im Zeitverlauf deutlich voneinander, noch ist zwischen den einzelnen Versuchstagen eine auffällige Differenz bemerkbar.

NaCl

Im Diagramm A der Abbildung 4.19 auf Seite 85 ist der Anteil der Bewegung an der Gesamtzeit im Holeboard für die Gruppe verzeichnet, die mit dem Vehikel NaCl behandelt wurde. Auch hier ähnelt der Verlauf wiederum der allgemeinen Tendenz bei den Gruppen mit im PFC implantierter Sonde. Am zweiten und dritten Versuchstag ist der Anteil gegenüber dem ersten Tag größer.

4.5.5 Besuchte Löcher

Den prozentualen Anteil der besuchten und inspizierten Löcher an der Gesamtzahl der Löcher während der einzelnen Trials gibt die Abbildung 4.15 auf Seite 78 wieder.

Cortex prefrontalis

Das Diagramm A der Abbildung 4.15 gibt den prozentualen Anteil der besuchten Löcher an allen Löchern für unbehandelte Tiere mit im PFC implantierter Mikrodialysesonde wieder.

Beide Gruppen suchen anfangs eine hohe Anzahl von Löchern auf (70 %). Doch bereits im 2. Lauf unterscheiden sich die Werte für die trainierte (45 %) und die pseudotrainierte (65 %) deutlich. Während in der pseudotrainierten Gruppe mit der Verbesserung der Suchstrategie die Zahl der besuchten Löcher allmählich auf etwa 50 % abnimmt, bleibt die Zahl in der trainierten Gruppe auch im 3. und 4. Lauf bei ca. 45 % und sinkt im 5. Lauf auf etwa 35 % ab.

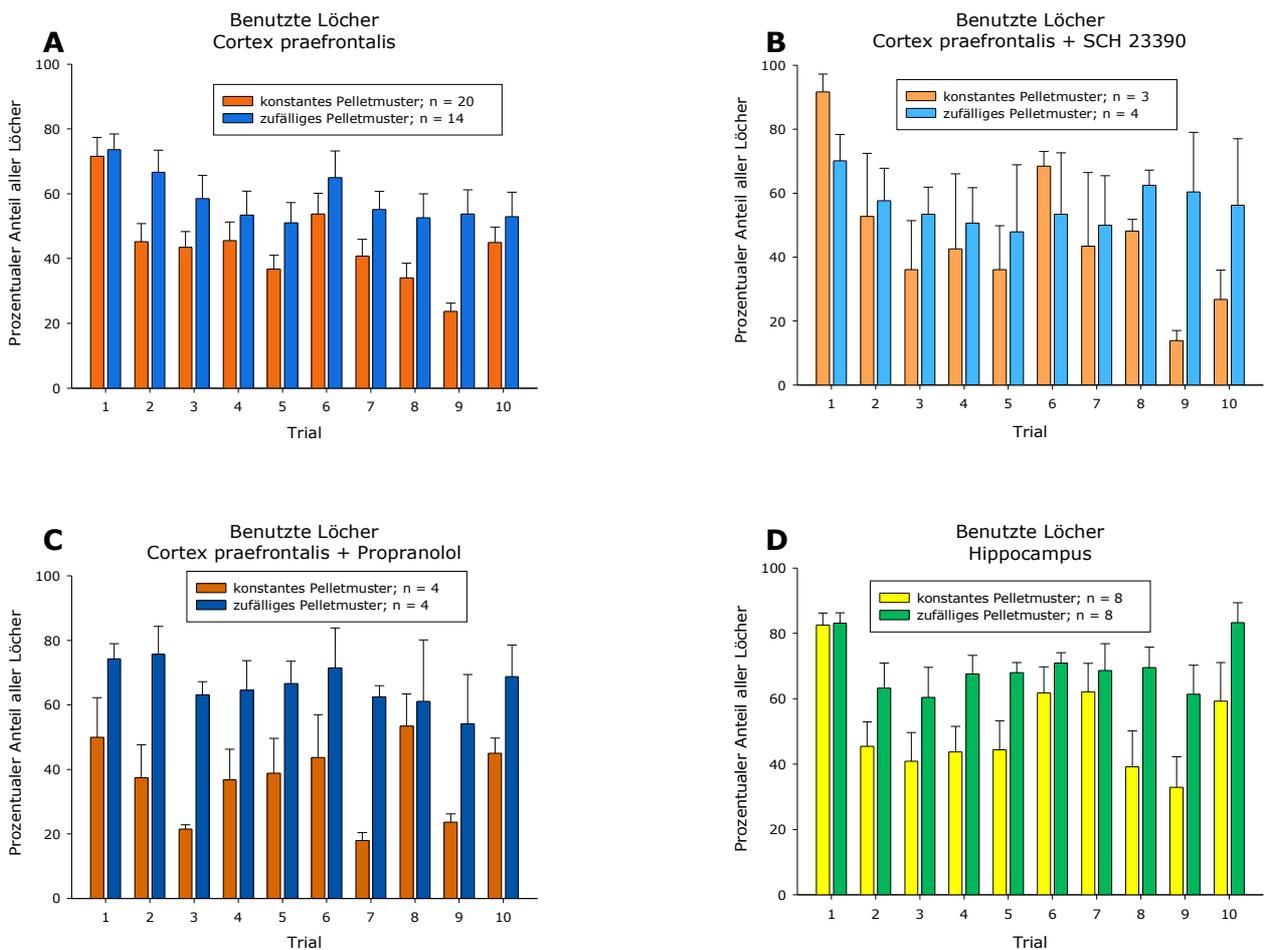


Abbildung 4.15. Prozentualer Anteil der besuchten Löcher während der Holeboardversuche. Jeweils links in den einzelnen Abbildungen die Darstellung für die Tiere, die ein konstantes Pelletmuster suchen mußten, rechts für ein zufälliges Verteilungsmuster.

Am 2. und 3. Versuchstag schwanken die Werte der pseudotrainierten Gruppe weiter um die 50 %. Eine geringere Anzahl an besuchten Löchern scheint die Suchstrategie nicht zu ermöglichen.

In der trainierte Gruppe erhöht sich die Anzahl der besuchten Löcher im 6. Trial auf etwa 50 %. Danach sinkt diese Zahl rasch und stetig bis sie im 9. und letzten Lauf des Tages einen Wert von etwa 20 % erreicht. Das entspricht bei 36 Löchern 7 inspizierten. Das ist sehr nahe am Optimum von 5. In dieser Zahl sind auch mehrfach besuchte Löcher enthalten, die jedoch nur einmal gezählt werden.

SCH 23390

Der Verlauf der Werte des 1. Versuchstages der mit SCH 23390 behandelten Gruppen ähnelt sehr denen der unbehandelten (Diagramm B der Abbildung 4.15 auf Seite 78). Ebenso die Werte der pseudotrainierten Gruppe im weiteren Versuchsverlauf. Jedoch gibt es am 2. und 3. Tag in der trainierten Gruppe

deutliche Unterschiede zur unbehandelten Gruppe. So sind die Anzahlen der besuchten Löcher in den Läufen 6 bis 8 wesentlich größer, während sie in den Läufen 9 und 10 dagegen deutlich geringer sind.

Propranolol

Die Werte aller Versuchstage der mit Propranolol behandelten Tiere (Diagramm C der Abbildung 4.15 auf Seite 78) ähneln stark denen der unbehandelten Tieren. Auch hier schwanken die prozentualen Anteile der besuchten Löcher für beide Gruppen um unterschiedliche Werte: 30-40 % für die konstante Gruppe und um die 50 % für die zufällige Gruppe.

Hippocampus

Im Diagramm D der Abbildung 4.15 auf Seite 78 sind die Ergebnisse für die Tiere mit einer Sonde im HC dargestellt. Auch hier starten beide Gruppen mit Werten um 80 %, um danach rasch auf 40 % (konstantes Muster) bzw. 60 % (zufälliges Muster) zu fallen. Ebenso wie in den anderen Telexperimenten fällt hier auf, dass die Werte zu Beginn jedes Versuchstages höher sind als am Ende des gleichen respektive des vorherigen Tages.

NaCl

Im Diagramm B der Abbildung 4.19 auf Seite 85 sind die Resultate der mit dem Vehikel NaCl behandelten Tiere dargestellt. Zu Beginn des Experimentes werden wieder 80 % aller Löcher kontrolliert. Danach sinkt der Anteil rasch auf Werte zwischen 30 % und 50 %. Am zweiten Versuchstag liegen die Werte im Mittel bei etwa 60 %, um am letzten Tag auf ca. 30 % abzusinken. Damit ähneln sie den Ergebnissen der anderen Telexperimente.

4.5.6 Referenzgedächtnis

Als Referenzgedächtnis wird in der vorliegenden Untersuchung die kognitive Leistung bezeichnet, die die Ratten erbringen, wenn sie ursprünglich unbeködete Löcher des Holeboards von beködeten diskriminieren können. Die Ratten müssen also ein in ihrem Gedächtnis gespeichertes Korrelat des Verteilungsmusters mit der Realität vergleichen. Dabei ist zu beachten, dass sich dieses Abbild im Laufe der einzelnen Trials erst herausbildet. Weichen sie von der (nahezu) idealen Suchstrategie ab, d.h., kontrollieren sie ein ursprünglich unbeködetes Loch, begehen sie einen Referenzgedächtnisfehler.

Die Größe des Referenzgedächtnisfehlers ist somit ein Maß für die Solidität des im Gedächtnis der Ratte gespeicherten Verteilungsmusters.

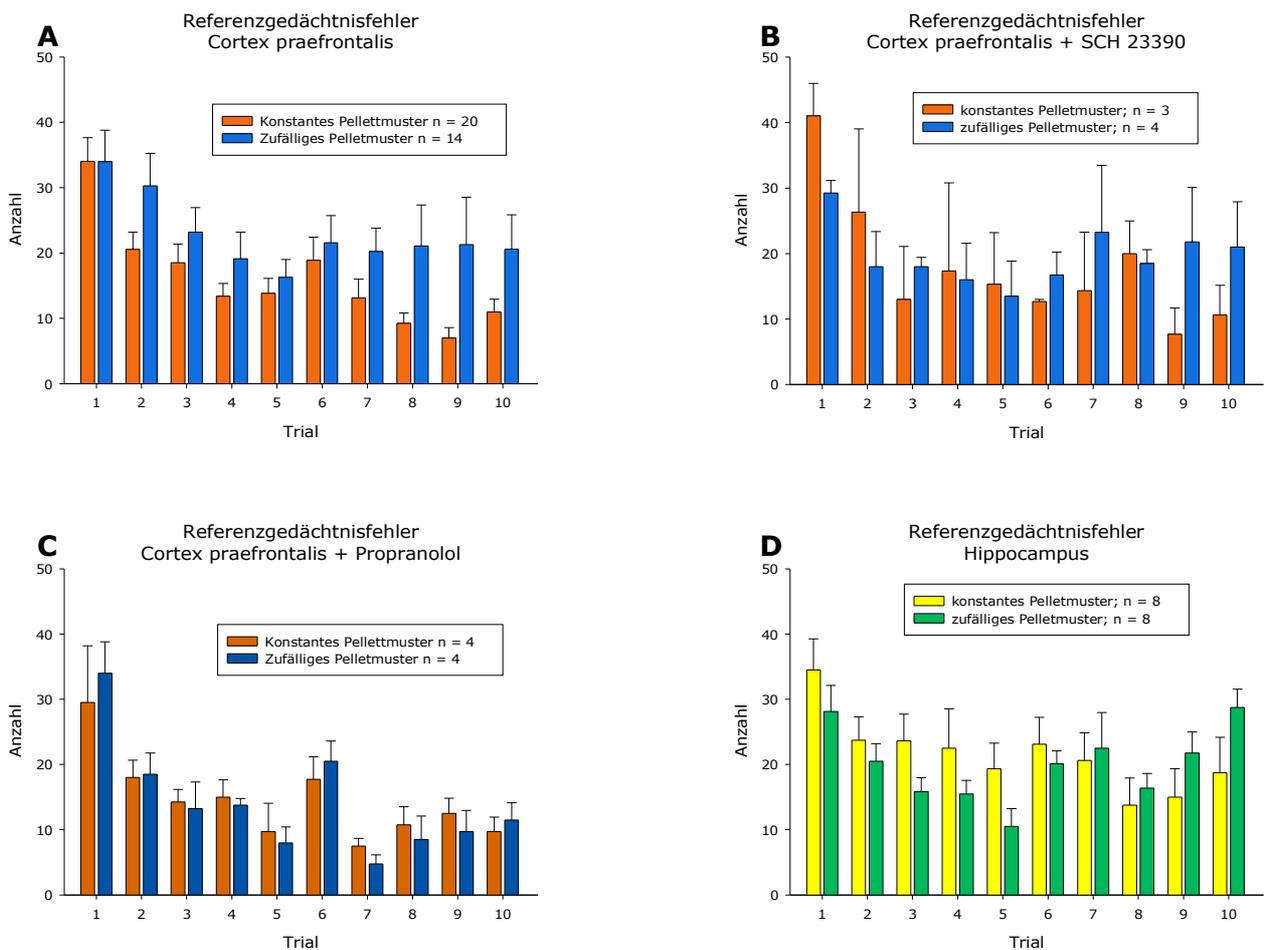


Abbildung 4.16. Darstellung der Anzahl der Referenzgedächtnisfehler während der Holeboardversuche. Jeweils links in den einzelnen Abbildungen die Darstellung für die Tiere, die ein konstantes Pelletmuster suchen mußten, rechts für ein zufälliges Verteilungsmuster.

Cortex praefrontalis

Im Diagramm A der Abbildung 4.16 auf Seite 80 werden die Referenzgedächtnisfehler in Abhängigkeit von der Verteilung der Futterpellets dargestellt. Auffallend ist die logische Identität der beiden Werte des ersten Trials. Da keine Ratte vor dem ersten Lauf aufgrund des Versuchsaufbaus wissen kann, welche Löcher Futter beinhalten und welche nicht, müssen die Werte sich sehr ähneln. Im zweiten Trial existiert bereits ein deutlicher Unterschied zwischen den Werten der beiden Gruppen. Während die Anzahl der Referenzgedächtnisfehler der auf ein konstantes Muster trainierten Gruppe um mehr als ein Drittel zurückgeht, verringert sich die Anzahl der pseudotrainierten Gruppe nur um etwa 10 %. Jedoch nähern sich die Werte erstaunlicherweise bis zum 5. Trial wieder einander an. Auch die Werte des 6. Trials ähneln sich. Im 7. bis 10. Trial ist dann aber eine klare Trennung zu erkennen. Die pseudotrainierten Tiere können durch die zufällig verteilten Pellets ihre Suchstrategie nicht im Sinne einer Reduktion der Besuche der ursprünglich unbe-

köderten Löcher optimieren. Wogegen sich bei den trainierten Tiere die Suchstrategie immer weiter dem Optimum annähert, nur die beköderten Löcher zu besuchen.

SCH 23390

Auch bei den mit SCH 23390 behandelten Tieren (Diagramm B der Abbildung 4.16 auf Seite 80) kommt es erst nach dem 6. Trial zu einem deutlichen Unterschied in der Anzahl der Referenzgedächtnisfehler. Allerdings ist hier die Differenz nicht ganz so klar. Das kann an der geringeren Anzahl an Versuchstieren liegen.

Bis hier ähneln die Werte zumindest in ihren Tendenzen jedoch den Referenzgedächtnisfehlern der unbehandelten PFC-Tiere. Wie bei diesen verringert sich die Anzahl mit andauernder Versuchsdauer.

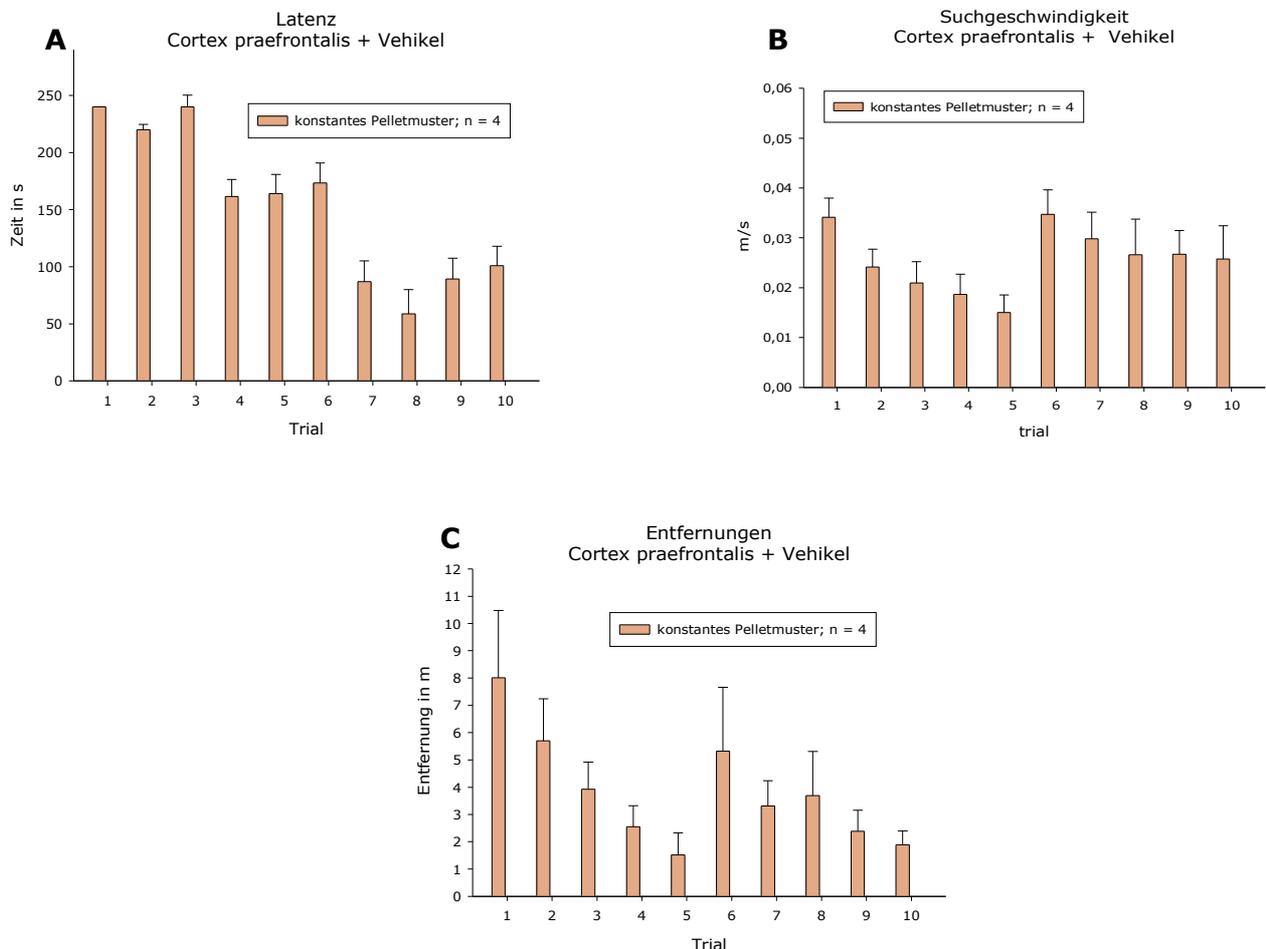


Abbildung 4.17. Darstellung der Verhaltensergebnisse der Tiere, die mit NaCl als Vehikel behandelt wurden. Dieses wurde vor dem 6. und vor dem 10. Trial appliziert. A. Latenzzeit. B. Suchgeschwindigkeit. C. Entfernungen.

Propranolol

Im Diagramm C der Abbildung 4.16 auf Seite 80 sind die Anzahl der Referenzgedächtnisfehler für die mit Propranolol behandelten Tiere dargestellt. Klar erkennbar sind die bereits ab dem 2. Trial gegenüber den unbehandelten Tieren in Diagramm A der gleichen Abbildung deutlich geringeren Fehleranzahlen in beiden untersuchten Gruppen. Nach dem erwarteten Anstieg im 6. Trial sinken die Fehlerzahlen in beiden Gruppen wieder auf ein erstaunlich niedriges Niveau. Besonders bemerkenswert ist jedoch, dass die Anzahl der Referenzgedächtnisfehler in der Gruppe der ein zufälliges Muster suchenden Tiere niedriger ist als in der Gruppe der ein konstantes Muster suchenden. Dies gilt bis auf den 6. Trial für alle Werte, die nach der Applikation des Propranolols aufgenommen wurden. Ganz klar wird das im direkten Vergleich mit dem darüber dargestellten Resultaten der unbehandelten Tiere in Diagramm A.

Hippocampus

Im Diagramm D der Abbildung 4.16 auf Seite 80 sind die Ergebnisse der Referenzgedächtnisfehler für die Tiere dargestellt, deren Mikrodialysesonde im HC implantiert wurde. Auf dem ersten Blick fällt auf, dass am ersten Versuchstag (1. bis 5. Trial) die Anzahl der Referenzgedächtnisfehler der ein zufälliges Muster suchenden Tiere stets niedriger lag als die der ein konstantes Muster suchenden, während sich dies im zweiten Teil der Versuche (6. bis 10. Trial) umkehrte. Der Zeitverlauf der Fehler der ein konstantes Muster suchenden Tiere ähnelt dem der unbehandelten PFC-Tiere. Gleiches gilt bis auf die ungleichmäßigeren 6. bis 10. Trials für die andere Gruppe.

NaCl

Das Diagramm C der Abbildung 4.19 auf Seite 85 zeigt die Anzahl der Referenzgedächtnisfehler für die Gruppe der mit NaCl als Vehikel behandelten Tiere. Am ersten Tag (bis zum 5. Trial) ist ein stetiges Absinken der Fehlerzahl zu verzeichnen. Dies setzt sich bereits am 2. Tag mit dem 6. Trial fort. Ein leichter Anstieg ist ab dem 8. Trial zu erkennen.

4.5.7 Arbeitsgedächtnis

Als Arbeitsgedächtnis wird in der vorliegenden Untersuchung die kognitive Leistung bezeichnet, die die Ratten erbringen, wenn sie ursprünglich beköderte Löcher von bereits geleerten diskriminieren können. In diesem Sinne ist das hier in Anlehnung an frühere Arbeiten (Uzakov et al., 2005; Korz und Frey, 2007; Makhracheva-Stepochkina et al., 2008) so bezeichnete Arbeitsgedächtnis ein Kurzzeitgedächtnis. In der schon als klassisch zu bezeichnenden Arbeit vom Miller (1956) wird die Kapazitätsbeschränkung des menschlichen Kurzzeitgedächtnisses beschrieben. Aus naheliegenden Gründen kann man von einer ähnlichen Einschränkung auch bei dem Säugetier Ratte ausgehen. Daher müs-

sen beim nicht zufälligen Erkennen eines konstanten Pelletmusters Informationen aus einem längerfristigen Gedächtnis beteiligt sein. Moderne Theorien aus der Psychologie gehen davon aus, dass das Kurzzeitgedächtnis eine komplexere Ansammlung interagierender Subsysteme ist, deren Gesamtheit als Arbeitsgedächtnis bezeichnet wird (Kane und Engle, 2002; Baddeley, 2003). Verschiedene, mehr oder weniger allgemeine Modelle des Arbeitsgedächtnisses (Baddeley, 1996; Cowan, 1999; Engle et al., 1999; Berti, 2002) versuchen, die Vorgänge bei der Gedächtnisbildung auf möglichst einfache und allgemeine Weise zu beschreiben. Doch ist dieser Vorgang wohl zu komplex und auf zu viele verschiedene Hirnstrukturen verteilt (siehe hierzu unter anderem Carpenter et al., 2000; Miller, 2000), als dass ein allgemeines Modell sinnvoll für die Anwendung realer Ereignisse erscheint.

Die erwähnten Arbeitsgedächtnistheorien stellen meist die Bedeutung des Arbeitsgedächtnisses für nachfolgende kognitive Prozesse, wie der Speicherung aber auch der Verarbeitung der Informationen heraus (Cowan, 1999; Berti, 2002). Die im Arbeitsgedächtnis verarbeiteten Informationen können direkt aus der Umwelt kommen, aber auch aus dem Langzeitgedächtnis abgerufen werden. Das unterstreicht die Relevanz dieser Form der Gedächtnisbildung in den hier durchgeführten Versuchen. Wenn es den Ratten der trainierten Gruppe gelingt, die konstante Verteilung der Futterpellets als ein beständiges Muster zu erkennen, müssen sie für diesen Lernvorgang die Informationen aus der Umwelt ('Wo befinde ich mich im Moment?') und aus dem Langzeitgedächtnis ('Wo befindet sich das nächste Pellet?') miteinander abgleichen.

Die Ratten müssen also ein in ihrem Gedächtnis gespeichertes Korrelat des Verteilungsmusters mit der Realität vergleichen. Dabei ist zu beachten, dass sich dieses Abbild im Laufe der einzelnen Trials erst herausbildet. Weichen sie von der idealen Suchstrategie ab, indem sie ein ursprünglich beködertes aber bereits geleertes Loch erneut kontrollieren, begehen sie einen Arbeitsgedächtnisfehler.

Die Größe des Arbeitsgedächtnisfehlers ist somit ein Maß für die Leistungsfähigkeit und Intaktheit des Kurzzeitgedächtnisses. Im Verlaufe der Versuche entwickelt sie sich aber auch zu einem Indikator für die Sicherheit in der Anwendung des gelernten Verteilungsmusters.

Cortex prefrontalis

Im Diagramm A der Abbildung 4.18 auf Seite 84 sind die Arbeitsgedächtnisfehler der unbehandelten Tiere mit im PFC implantierter Mikrodialysesonde dargestellt.

Die Anzahl der Arbeitsgedächtnisfehler in der Gruppe der auf ein konstantes Muster trainierten Tiere ist bei den meisten der Trials größer als in der Gruppe der auf ein zufälliges Muster trainierten Ratten. Das spricht für die Anwendung unterschiedlicher Strategien in beiden Gruppen. Die pseudotrainingierten Tiere kontrollieren nicht ein abgespeichertes Pelletmuster, sondern treffen zufälliger als die andere Gruppe auf bereits geleerte Löcher. Ratten der letzteren Gruppe laufen partiell mehrfach den Teil des konstanten Verteilungsmusters ab, den sie

bereits untersuchten, wenn sie bei der Position einer oder mehrerer beköderter Löcher fehl gingen. Auf diese Weise erhöht sich die Zahl der Arbeitsgedächtnisfehler dieser Gruppe beträchtlich. Die Fehleranzahl beider Gruppen geht am ersten Tag zurück und steigt am zweiten Tag erst im 7. Trial wieder an, um ab dem 9. Trial wieder abzusinken.

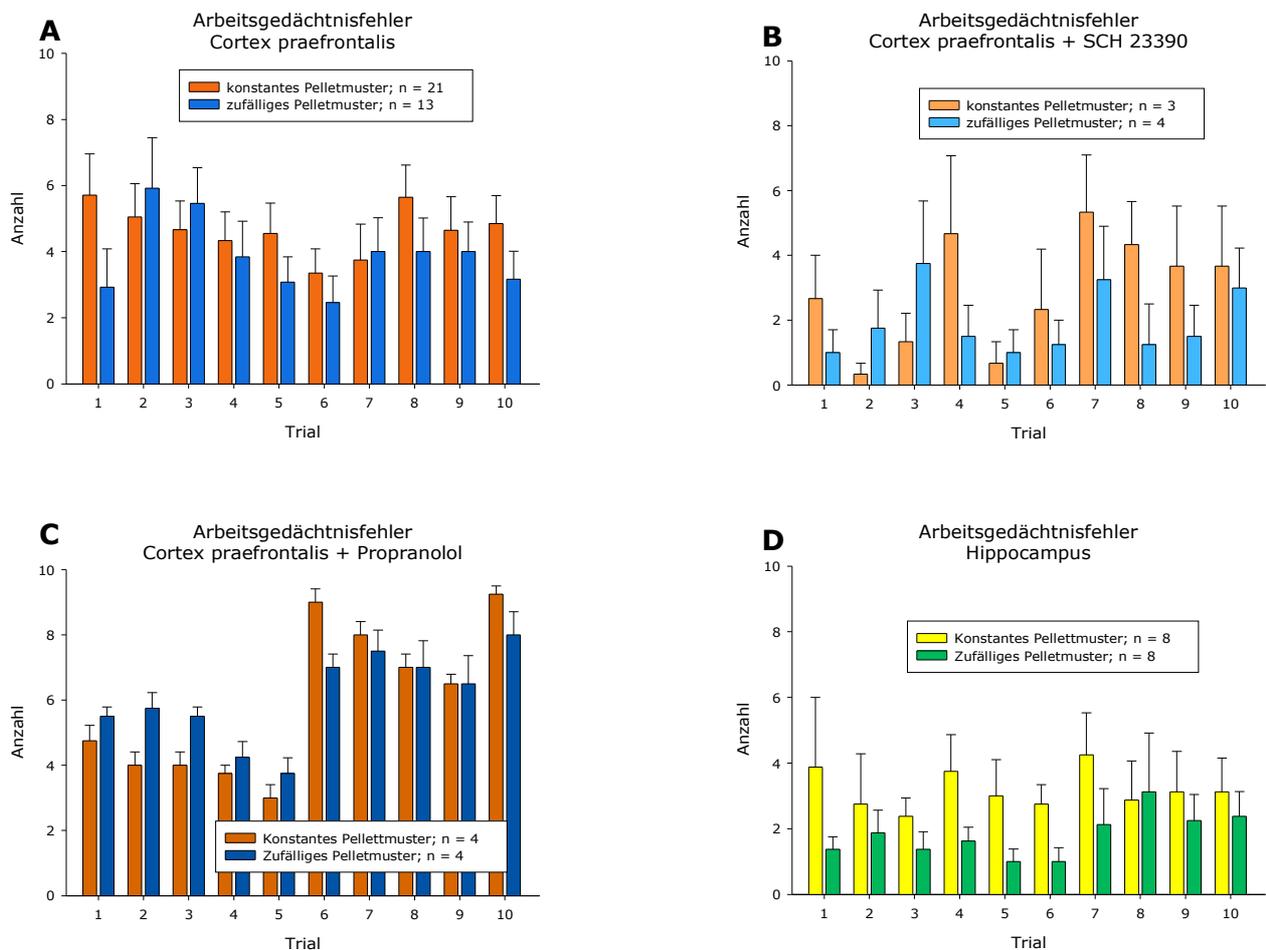


Abbildung 4.18. Darstellung der Anzahl der Arbeitsgedächtnisfehler während der Holeboardversuche. Jeweils links in den einzelnen Diagrammen die Darstellung für die Tiere, die ein konstantes Pelletmuster suchen mußten, rechts für ein zufälliges Verteilungsmuster.

SCH 23390

Die im Diagramm B der Abbildung 4.18 auf Seite 84 gezeigten Ergebnisse der Arbeitsgedächtnisfehler für mit SCH 23390 behandelte Tiere zeigt eine überraschend niedrige Anzahl für beide Gruppen. Die Anzahl der untersuchten Tiere ist jedoch zu gering, um eine begründete Aussage über die Ursachen treffen zu können. Dafür sprechen auch die relativ großen Standardabweichun-

gen. Rein spekulativ könnte man behaupten, dass das Ausschalten des dopaminergen Systems im PFC eine Verbesserung des Arbeitsgedächtnisses nach sich zieht.

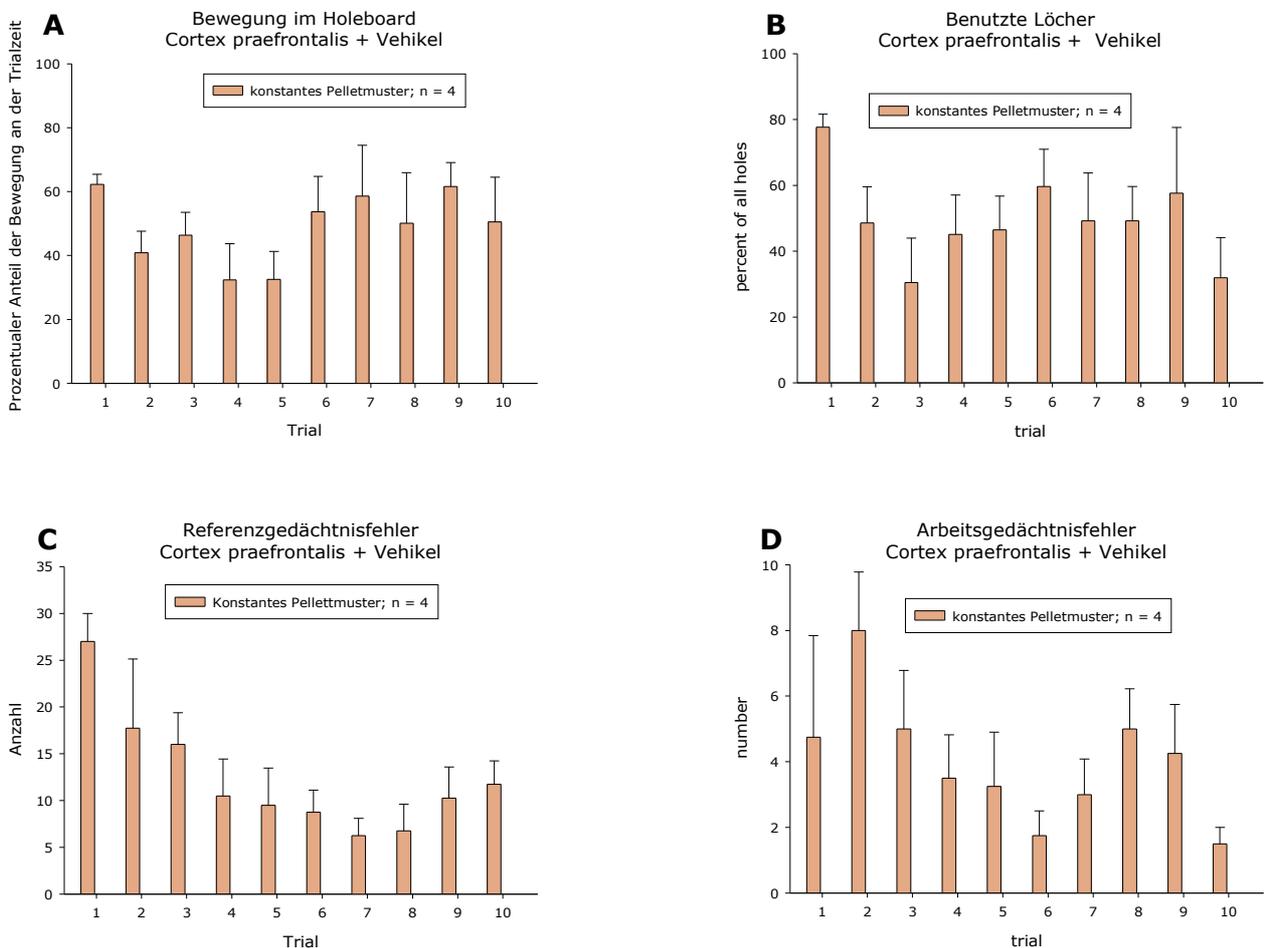


Abbildung 4.19. Darstellung der Verhaltensergebnisse der Tiere, die mit NaCl als Vehikel behandelt wurden. Dieses wurde vor dem 6. und vor dem 10. Trial appliziert. A. Prozentualer Anteil der Bewegung im Holeboard. B. Prozentualer Anteil der besuchten Löcher. C. Referenzgedächtnisfehler. D. Arbeitsgedächtnisfehler.

Propranolol

Im Diagramm C der Abbildung 4.18 auf Seite 84 sind die Arbeitsgedächtnisfehler für die Gruppen der mit Propranolol behandelten Tiere dargestellt. Auf dem ersten Blick fällt der deutliche Anstieg der Fehlerzahlen beider Gruppen ab dem 6. Trial auf. Unmittelbar vor diesem Trial wurden allen hier gezeigten Tieren Propranolol appliziert. Das lässt nur den Schluss zu, dass das noradrenerge System am Kurzzeitgedächtnis beteiligt ist, da eine größere Anzahl der Arbeitsgedächtnisfehler besagt, dass die Tiere ursprünglich beköderte Löcher erneut kontrollierten, die sie bereits kontrolliert und geleert hatten.

Die Anzahl der Fehler sinkt in beiden Gruppen im Laufe des Versuchstages von Trial zu Trial. Deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen sind nur am ersten Tag erkennbar.

Hippocampus

Im Diagramm D der Abbildung 4.18 auf Seite 84 sind die Arbeitsgedächtnisfehler der HC-Tiere dargestellt. Auffallend sind die geringeren Fehleranzahlen in diesen beiden Gruppen gegenüber den PFC-Tieren in den Diagrammen A bis C dieser Abbildung. Weiterhin fällt auf, dass die Anzahl der Arbeitsgedächtnisfehler in der zufälligen Gruppe fast immer geringer ist als in der konstanten Gruppe.

NaCl

Im Diagramm D der Abbildung 4.19 sind die Arbeitsgedächtnisfehler der Tiere dargestellt, die mit NaCl als Vehikel behandelt worden sind. Die Anzahl der Fehler sinken am ersten Tag ab dem 2. Trial stetig bis zum 5. Trial. Der zweite Tag gestaltet sich uneinheitlicher. Erstaunlicherweise haben die ersten Trials des jeweiligen Tages (6. und 10. Trial) die geringsten Fehleranzahlen.

4.6 Korrelationen

In den Abbildungen 4.20 und 4.21 werden die Relationen der Verhaltenscharakteristika und der Neurotransmitter in den einzelnen Hirnarealen über die gesamten Trials unter den diversen Versuchsbedingungen dargestellt. Die Abbildungen 4.22 und 4.23 geben mögliche Wechselbeziehungen während einzelner Trials zwischen den einzelnen Hirngebieten mittels der verschiedenen Neurotransmitter wieder. Die abschließenden Abbildungen 4.24 bis 4.26 geben Hinweise auf mögliche Beziehungen während einzelner Trials zwischen den einzelnen Neurotransmittersystemen in den untersuchten Hirnarealen. Diese Abbildungen versuchen, die sehr komplexen Vorgänge/Beziehungen zwischen den Konzentrationsänderungen der Neurotransmitter im HC und PFC sowie den Ausprägungen des auf eine räumliche Lern- und Gedächtnisleistung bezogene Verhaltens fassbarer zu machen. Diese komplexen Zusammenhänge können nur an einem frei beweglichen, nicht anästhesierten Tier sichtbar werden. Da wegen der stets vorhandenen individuellen Unterschiede zwischen den Tieren auch unter sehr standardisierten Versuchsbedingungen größere Standardabweichungen in den Ergebnissen zu erwarten sind (vergleiche beispielsweise Abbildung 2.2 mit Abbildung 2.3), kommt es bei diesen Korrelationen zu manchen unerwarteten Resultaten. Die für die Auswertung verwendete Spearman-Korrelation liefert kein statistisch eindeutiges Ergebnis im Sinne von kausalen Beziehungen. Trotzdem lassen sich damit statistisch signifikante lineare Relationen zwischen zwei oder mehr Variablen charakterisieren.

AGF	Anzahl der Arbeitsgedächtnisfehler	RGF	Anzahl der Referenzgedächtnisfehler
Geschwindigkeit	Suchgeschwindigkeit; Quotient aus Distanz und Latenz	Bewegung	prozentualer Anteil der Bewegung des Tieres an der Laufzeit
Löcher	Anzahl der besuchten Löcher	Distanz	beim Suchen zurückgelegte Entfernung
Latenz	Einzelversuchszeitraum	DA	Dopamin
NA	Noradrenalin	5-HT	Serotonin

Tabelle 2. Erläuterung der Achsenbeschriftungen der Abbildung 4.20 und Abbildung 4.21.

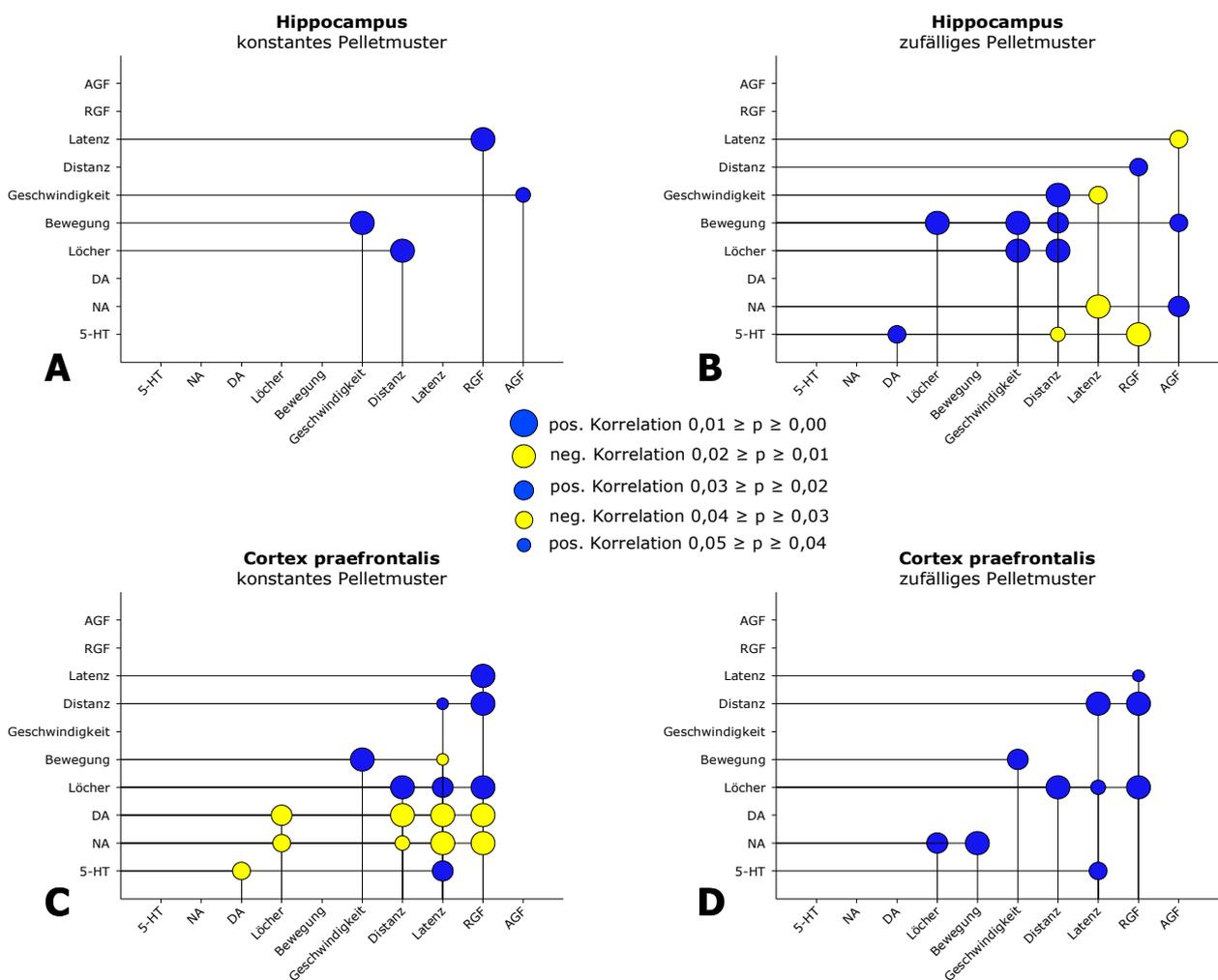


Abbildung 4.20. Darstellung der nachgewiesenen signifikanten Korrelationen zwischen den verhaltensbiologischen Charakteristika sowie der Konzentrationen von Dopamin, Noradrenalin und Serotonin im Hippocampus (A und B) wie auch im Cortex prefrontalis (C und D) bei konstantem (A und C) und zufälligem Pelletmuster (B und D). Die Achsenbeschriftung ist in Tabelle 2 näher erläutert.

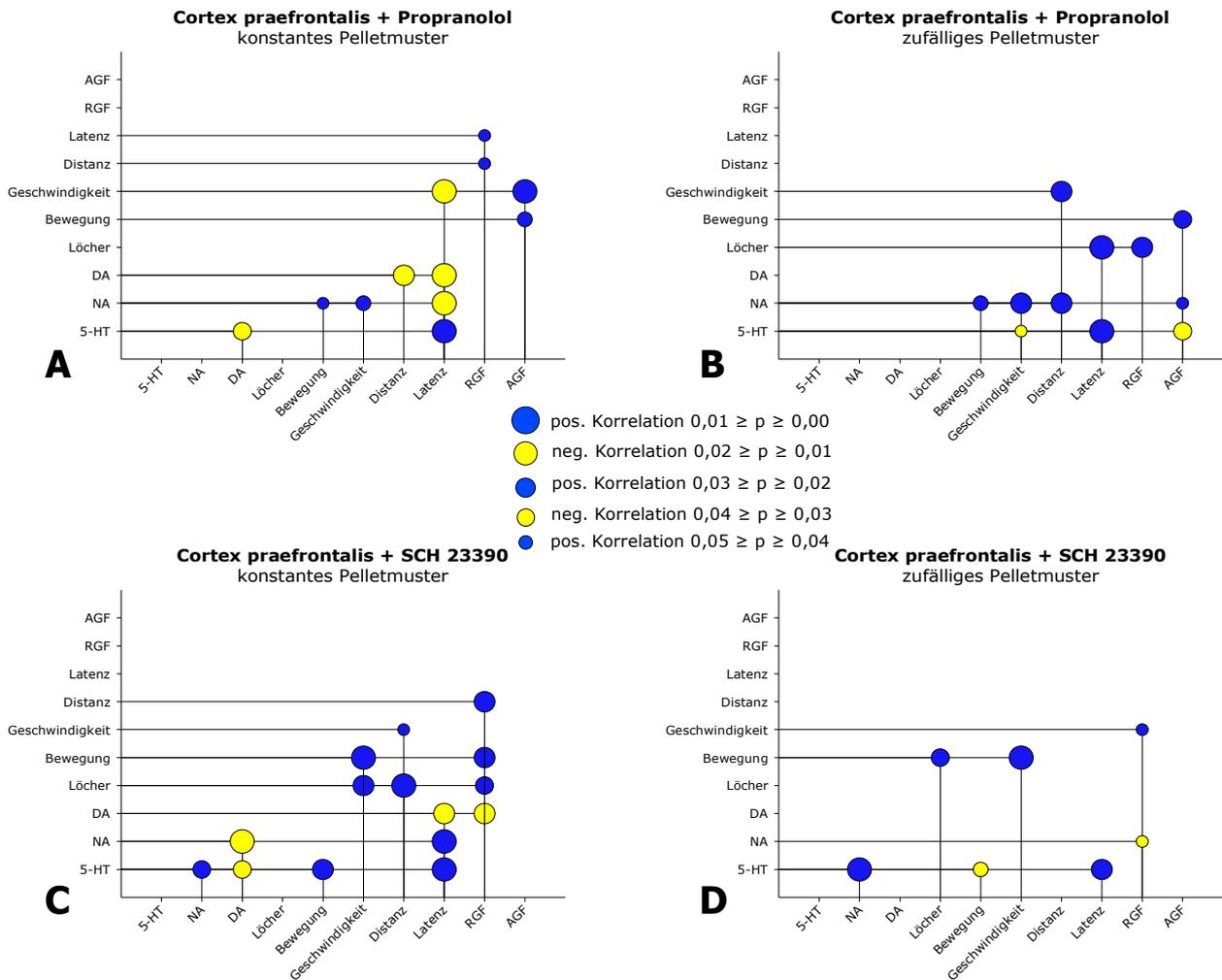


Abbildung 4.21. Darstellung der nachgewiesenen signifikanten Korrelationen zwischen den verhaltensbiologischen Charakteristika sowie der Konzentrationen von Dopamin, Noradrenalin und Serotonin im Cortex praefrontalis unter dem Einfluß von Propranolol (A und C) wie auch unter dem von SCH 23390 (B und D) bei konstantem (A und C) sowie bei zufälligem Pelletmuster (B und D). Die Achsenbeschriftung ist in Tabelle 2 näher erläutert.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Basis -2	Basis -1	Basis Tag 1	Trial 1	Trial 2	Trial 3	Trial 4	Trial 5	nach Trial 5
10	11	12	13	14	15	16	17	18
Basis Tag 2	Trial 6	Trial 7	Trial 8	Trial 9	nach Trial 9	Basis Tag 3	Trial 10	nach Trial 10

Tabelle 3. Dekodierung der Ordinaten- und Abszissenbeschriftung der Abbildungen 4.22 bis 4.26.

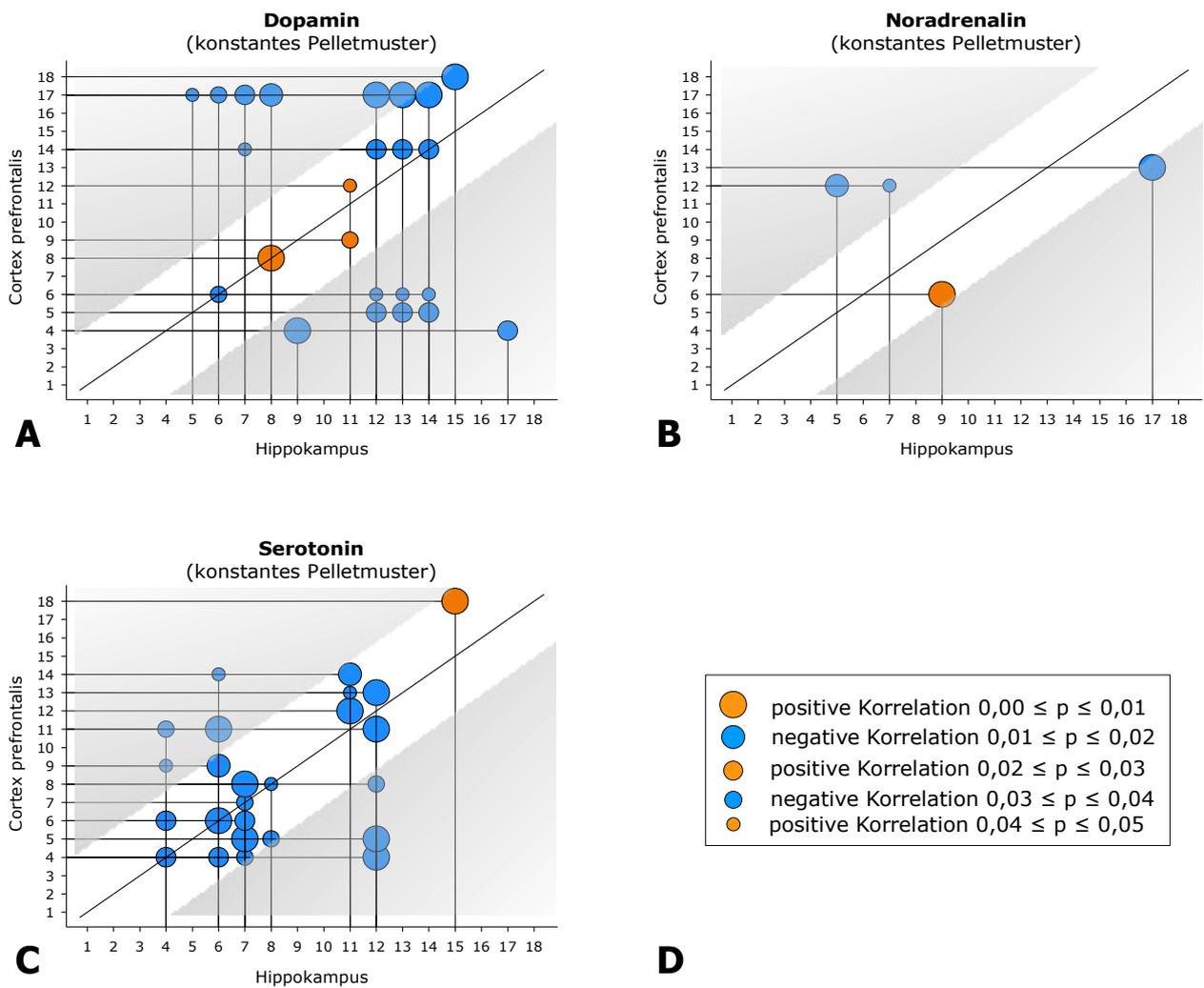


Abbildung 4.22. Darstellung der vorhandenen signifikanten Korrelationen zwischen den Konzentrationen der einzelnen Neurotransmitter im HC und im PFC bei konstantem Pelletmuster. Liegen die Korrelationsblasen auf der Diagonalen, so gilt, dass die Neurotransmitterkonzentration im gleichen Zeitraum des Experimentes signifikant miteinander korreliert sind. Liegt die Blase oberhalb der Diagonalen, so gilt, dass eine Konzentration im PFC früher im Experiment mit einer späteren im HC positiv oder negativ korreliert. Entsprechendes gilt für Korrelationsblasen, die sich unterhalb der Diagonalen befinden. Nur die Korrelationen innerhalb des schmalen Bereiches entlang der Diagonalen erscheinen momentan relevant, da diese – im Gegensatz zu den grau überlagerten Korrelationsblasen – Vergleiche zwischen Werten wiedergeben, die innerhalb einer Stunde liegen. D. Beispiel-Legende für A-C. Die Achsenkodierung ist in Tabelle 3 erläutert.

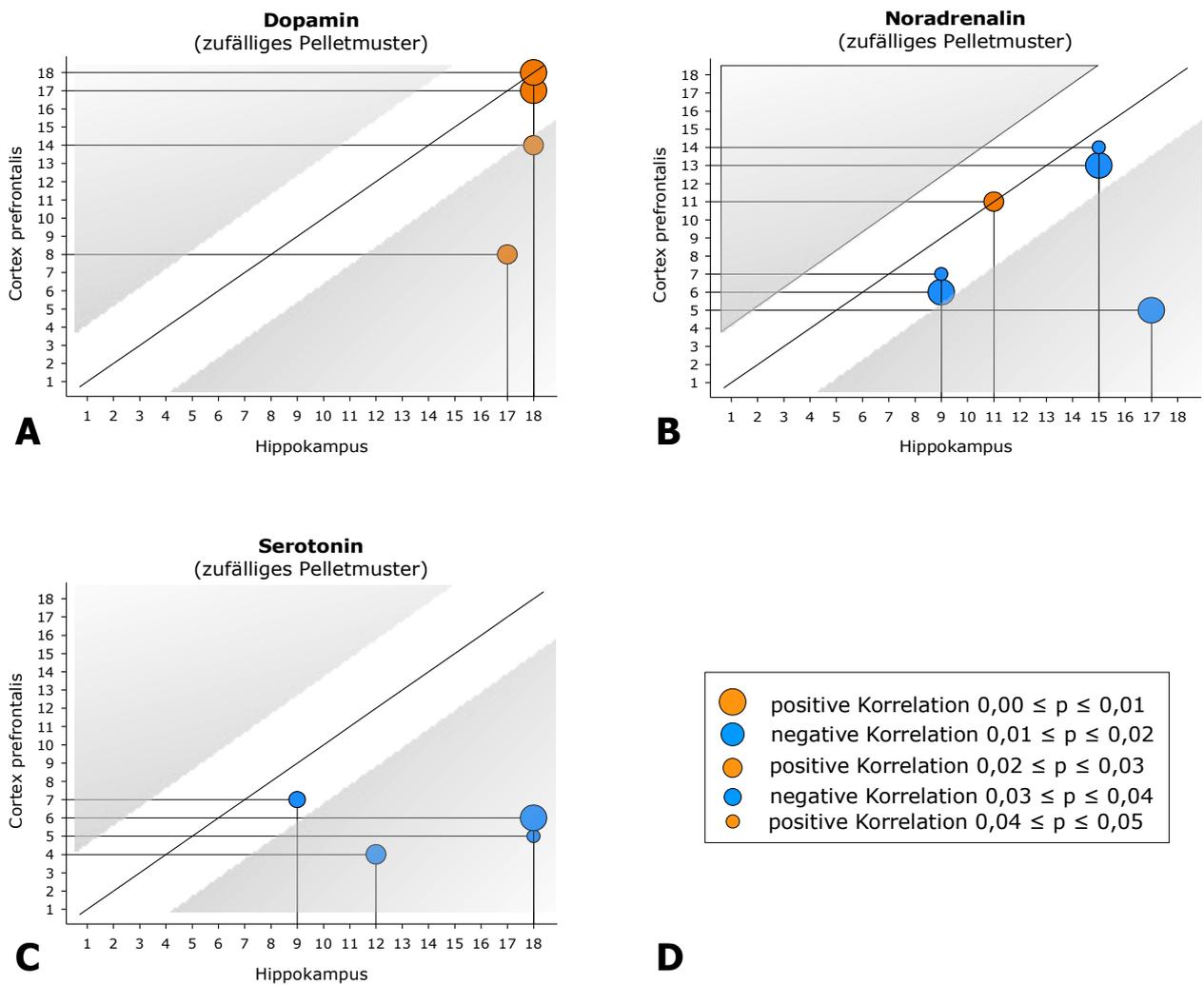


Abbildung 4.23. Darstellung der vorhandenen signifikanten Korrelationen zwischen den Konzentrationen der einzelnen Neurotransmitter im HC und im PFC bei zufälligem Pelletmuster. Nähere Erläuterungen zur grafischen Darstellung siehe Abbildung 4.22 auf Seite 89. A. DA. B. NA. C. 5-HT. D. Beispiel-Legende für A-C. Die Achsenkodierung ist in Tabelle 3 erläutert.

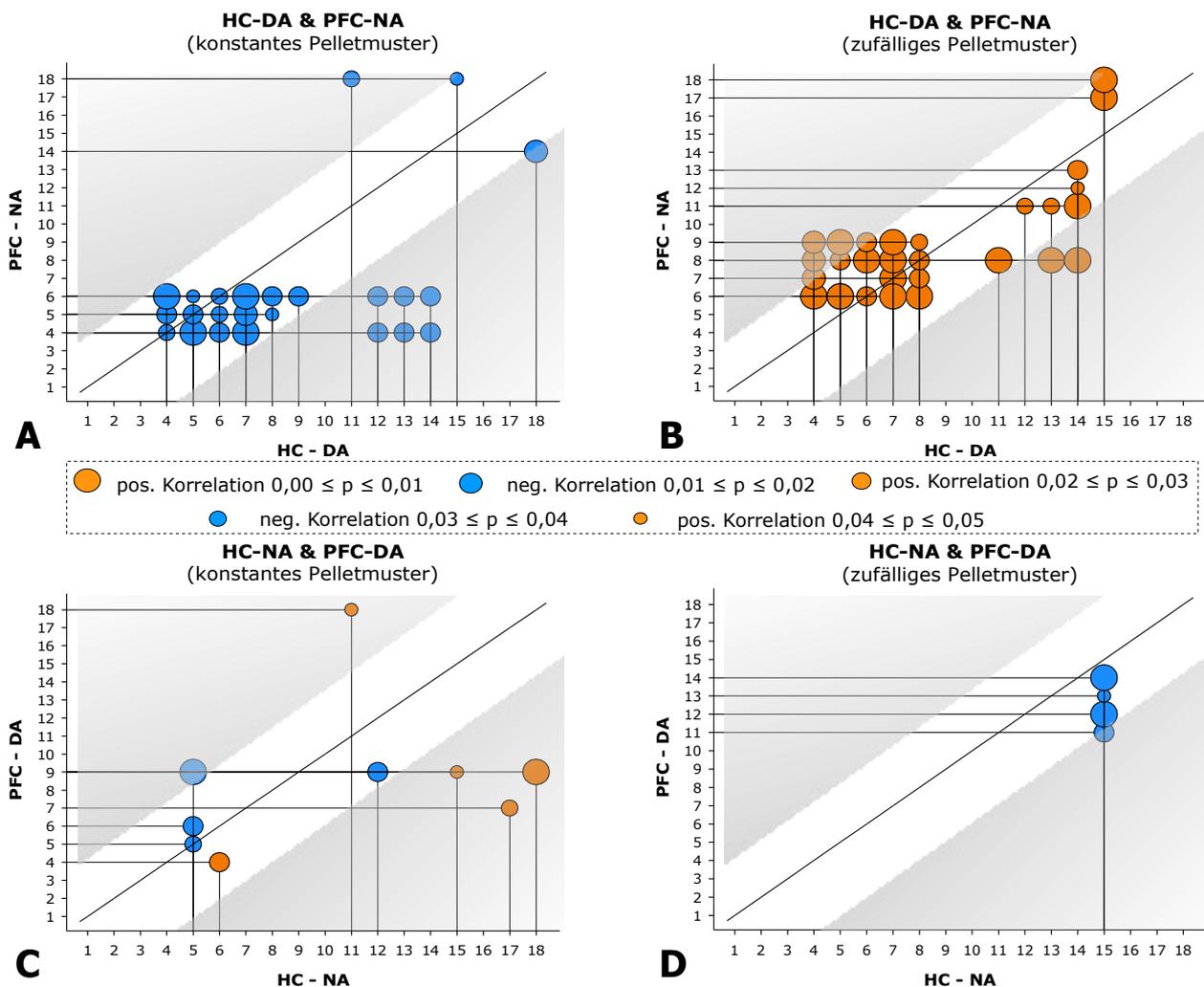


Abbildung 4.24. Darstellung der vorhandenen signifikanten Korrelationen zwischen den Konzentrationen von DA und NA im HC und im PFC bei konstantem und zufälligem Pelletmuster. Nähere Erläuterungen zur grafischen Darstellung siehe Abbildung 4.22 auf Seite 89. Vertikal sind jeweils die Vergleiche einer Experimentreihe mit alternierenden Neurotransmittern möglich. Horizontal können Vergleiche zwischen den Experimenten mit identischer Zuordnung der Neurotransmitter zu den Hirnarealen angestellt werden. Die Achsenkodierung ist in Tabelle 3 erläutert.

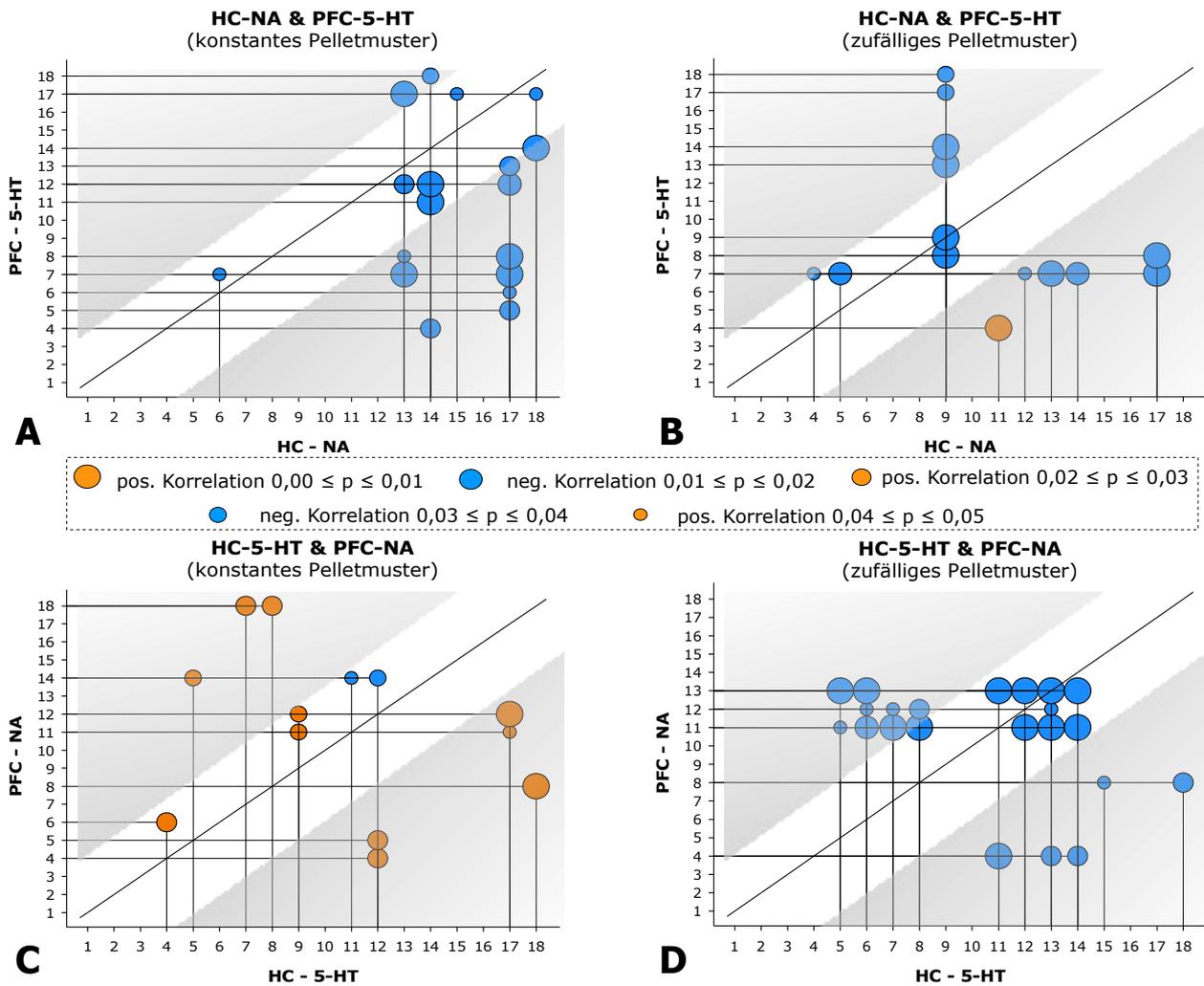


Abbildung 4.25. Darstellung der vorhandenen signifikanten Korrelationen zwischen den Konzentrationen von NA und 5-HT im HC und im PFC bei konstantem und zufälligem Pelletmuster. Nähere Erläuterungen zur grafischen Darstellung siehe Abbildung 4.22 auf Seite 89. Vertikal sind jeweils die Vergleiche einer Experimentreihe mit alternierenden Neurotransmittern möglich. Horizontal können Vergleiche zwischen den Experimenten mit identischer Zuordnung der Neurotransmitter zu den Hirnarealen angestellt werden. Die Achsenkodierung ist in Tabelle 3 erläutert.

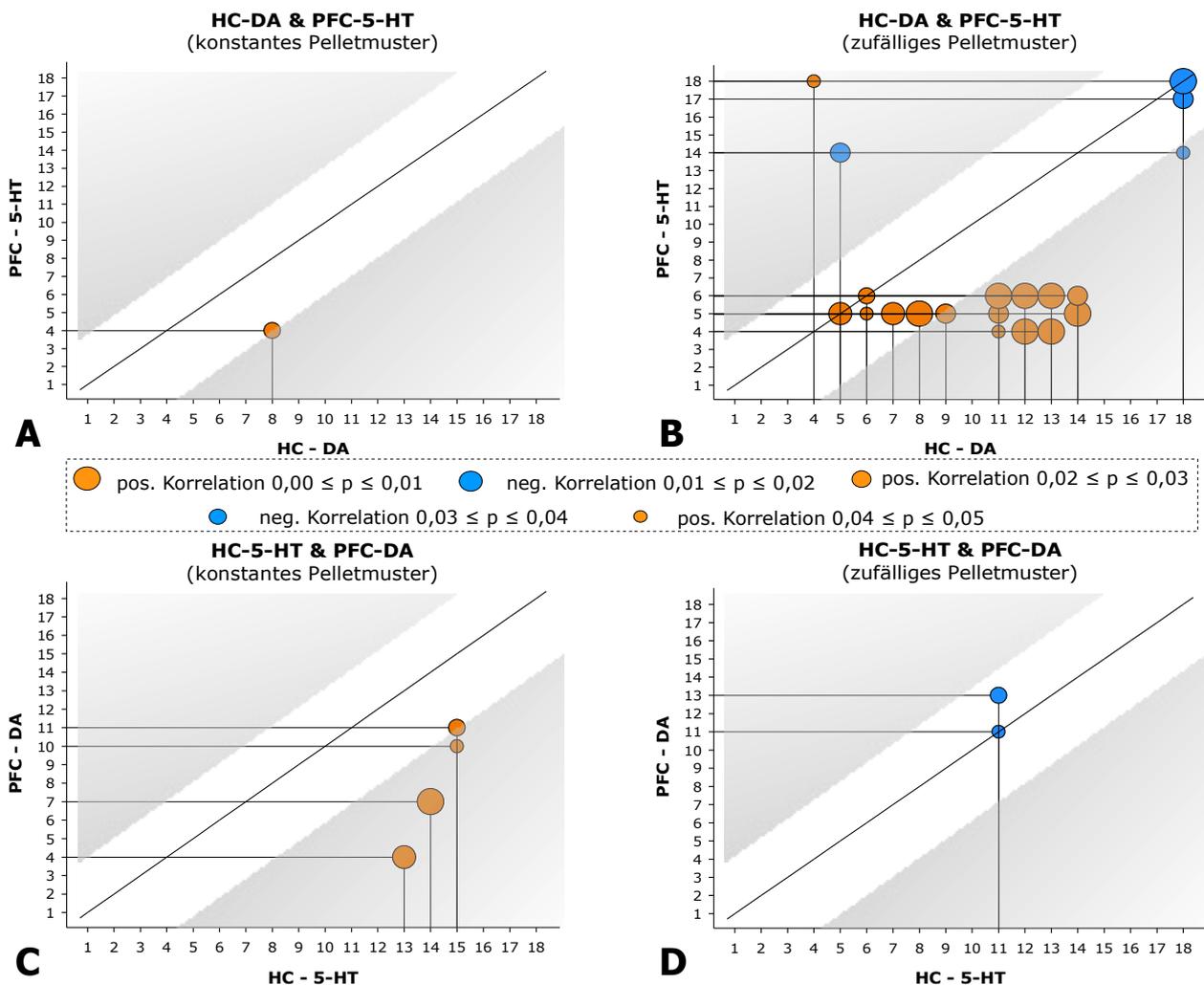


Abbildung 4.26. Darstellung der vorhandenen signifikanten Korrelationen zwischen den Konzentrationen von DA und 5-HT im HC und im PFC bei konstantem und zufälligem Pelletmuster. Nähere Erläuterungen zur grafischen Darstellung siehe Abbildung 4.22 auf Seite 89. Vertikal sind jeweils die Vergleiche einer Experimentreihe mit alternierenden Neurotransmittern möglich. Horizontal können Vergleiche zwischen den Experimenten mit identischer Zuordnung der Neurotransmitter zu den Hirnarealen angestellt werden. Die Achsenkodierung ist in Tabelle 3 erläutert.

5 Diskussion

5.1 Hippocampus & Cortex praefrontalis

Ausgangspunkt der vorliegenden Untersuchung war das Ziel, die Auswirkungen der artifiziellen Stimulation des HC über den Tractus perforans auf die verschiedenen Neurotransmittersysteme im HC zu untersuchen. Nach dem erfolgreichen Abschluss dieses Teils der Experimente wurde versucht, die angewandte Mikrodialysetechnik auch bei Lernversuchen im Holeboard zu benutzen, um u.a. die Ergebnisse dieser Methode mit vorangegangenen Lernexperimenten (Uzakov et al., 2005; Korz und Frey 2007; Makhracheva-Stepochkina et al., 2008) vergleichen zu können. Die Abstimmung und Feinjustierung aller beteiligten Systeme (z.B. Pumpe, Mikrodialysesonde sowie deren Führungskanüle, Schläuche, Probenbehälter, Holeboard, Videotracking sowie diverse Auswerteprogramme) für die Experimente mit einer im HC implantierten Mikrodialysesonde erwies sich als erstaunlich diffizil. Deswegen wurden die Experimentierreihen mit den Versuchen fortgesetzt, die eine im mPFC implantierte Sonde voraussetzten. Denn neben dem HC ist auch der mPFC für räumliche Lernleistungen von großer Bedeutung. Mit steigender Erfahrung des Experimentators war es dann auch möglich, die notwendigen Feinabstimmungen vorzunehmen, um die Experimente auch mit einer im HC implantierten Mikrodialysesonde durchzuführen. Leider verhinderten u.a. zeitliche Gründe und eine begrenzte Versuchstierzahl, weiterführende Experimente, beispielsweise mit Antagonisten im HC, durchzuführen.

In der theoretischen Vorüberlegung wird bereits deutlich, dass mit der benutzten Experimentieranordnung nicht entschieden werden kann, ob die verzeichneten Konzentrationsänderungen der Neurotransmitter Ursache, Zwischenstufe oder Wirkung der gezeigten Lern- und Gedächtnisleistungen im Holeboard sind. Die nachgewiesenen Konzentrationsänderungen beeinflussen das Verhalten nicht direkt, sondern werden auf Ebenen höhere Ordnung als Reizstärkeänderungen weiterverarbeitet.

Die während der Holeboardversuche im HC gemessenen Konzentrationen der Neurotransmitter unterscheiden sich bereits hinsichtlich ihrer vergrößerten Standardabweichungen von den durch elektrophysiologische Stimulation erzielten hippocampalen Konzentrationsänderungen. Das korreliert einerseits mit den beobachteten Aktivitätsunterschieden. Während die Ratten im Holeboard ein aktives Suchverhalten zeigten, lagen sie im Verlauf der elektrophysiologischen Stimulationen zumeist ruhend in einer Ecke des Käfigs. Allerdings können diese Unterschiede nicht nur ein Hinweis auf die Abhängigkeit der Neurotransmitterkonzentrationen vom Aktivitätsstatus der Tiere sein, sondern auch auf ihre Involvierung in die intellektuellen Leistungen während des Suchens im Holeboard hinweisen. Denn hierbei traten in Abhängigkeit vom zu suchenden Futtermuster und von der Applikation von Antagonisten der Neurotransmitter erhebliche Differenzen im HC und im PFC zwischen den einzelnen Gruppen auf.

Längere Zeit wurde diskutiert, ob der PFC der Ratten dem dorsolateralen präfrontalen Cortex der Primaten homolog ist. Mittlerweile gibt es zahlreiche Belege dafür, dass kognitive und exekutive Prozesse bei verschiedenen Familien der Säugetiere sehr ähnlich ablaufen (Brown und Bowman, 2002; Briand et al., 2007; Wise, 2008). Auch bei Vögeln existiert eine dem PFC in der Funktion ähnliche Hirnstruktur, das Nidopallium caudolaterale (Güntürkün, 2005a und 2005b; Kirsch et al., 2008). Der PFC ist notwendig für die korrekte Funktionsweise des Arbeitsgedächtnisses. Das gilt für räumliche wie auch für nichträumliche Aufgabenstellungen (Larsen und Divac, 1978; Brozoski et al., 1979; Seamans et al., 1995b; Kesner et al., 1996; Kesner, 2000; Floresco und Phillips, 2001; Stefani et al., 2003; Winstanley et al., 2004).

Anatomische und elektrophysiologische Untersuchungen zeigten, dass der HC und der PFC reziproke Wechselbeziehungen besitzen. Der HC sendet direkte exzitatorische Afferenzen in den PFC. Dort werden hauptsächlich die Pyramidenzellen und die Interneuronen der tieferen Schichten (V und VI) innerviert (Sesack et al., 1989; Jay und Witter, 1991). Der PFC sendet über den temporalen Cortex indirekte Afferenzen zum HC (Fuster, 1997). Kyd und Bilkey (2003) zeigten, dass Läsionen im PFC Änderungen der neuronalen Aktivität in den hippocampalen Place-Zellen im Zusammenhang mit räumlicher Lokalisierung verursachen. Das lässt die Vermutung zu, dass diese indirekten PFC-Informationen wichtig für die HC-Funktion bei der räumlichen Orientierung sind.

Läsionen, die die Verbindungen zwischen HC und PFC unterbrechen, beeinträchtigen die Lösung von Aufgaben, bei denen die Tiere ihr Verhalten dem erwarteten Ergebnis anpassen müssen (Floresco et al., 1997). Elektrophysiologische Aufzeichnungen bei Nagetieren und Primaten zeigten, dass das auf dem Niveau der Neuronen des PFC während der Nutzung des Arbeitsgedächtnisses stattfindende Feuern der Kodierung von Informationen dient, die für zukünftige Planungen eine Rolle spielen [werden] (Ingvar 1985; Rainer et al. 1999; Mulder et al. 2000; Mushiake et al. 2006). Jung et al. (1998) vermuteten, dass der HC die räumlichen Informationen zur Verfügung stellen kann, die es dann dem mPFC erlaubt, ein dem Kontext angemessenes Verhalten zu generieren. In den hippocampalen Place-Zellen zeigte sich bei einer zu erwartenden Futterbelohnung eine antizipatorische Erhöhung der Feuerrate (Hok et al., 2007). Das wurde auch bei Zellen des mPFC beschrieben. Die antizipatorische Aktivität des mPFC hängt von ähnlich gearteten Aktivitäten des HC ab. Beide Strukturen spielen eine Rolle bei der Belohnungserwartung (Burton et al., 2009).

Die Unterbrechung der DA-modulierten HC-Afferenzen zum PFC (durch unilaterale Inaktivierung des HC mit gleichzeitiger contralateraler Injektion von DA D1-Rezeptor-Antagonisten in den PFC) stört die Funktion des Arbeitsgedächtnisses (Seamans et al., 1998). Die Induktion synaptischer Plastizität (LTP) über hippocampale Afferenzen in den PFC wird auch von der Aktivierung von D1-Rezeptoren und ihren Interaktionen mit NMDA-Kanälen (s. Kapitel 2.5) kontrolliert (Gurden et al., 1999, 2000).

Die Auswahl der hippocampalen retrospektiven Informationen scheinen von D1- aber nicht von D2-Rezeptorstimulationen im PFC abzuhängen. Im Gegensatz dazu hängt die Fähigkeit zur Planung zukünftiger Strategien, basierend

auf den hippocampalen Informationen, sehr stark von der D2-Rezeptor-modulation der intrinsischen Kreise des PFC ab (Goto und Grace, 2008). Das stimmt auch mit den Ergebnissen anderer Arbeiten überein, die die D2-Rezeptor-Stimulation im PFC als Bedingung für ein flexibles Verhalten bezeichnen (Mehta et al., 2004; Seamans und Yang, 2004; Winterer und Weinberger, 2004; Floresco et al., 2006; Tost et al., 2006). Daher lassen die Resultate von Goto und Grace (2008) vermuten, dass die retrospektiven Gedächtnisleistungen vom HC abhängen, dessen retrospektiven Informationen jedoch im PFC integriert werden müssen, um die weitere Informationsverarbeitung für die Antizipierung zukünftiger Ereignisse zu ermöglichen. Die bidirektionalen Interaktionen zwischen dem PFC und dem HC scheinen also essentiell für die Fähigkeit zu sein, das verhaltensrelevanten Spikemuster und die retrospektiven und prospektiven Gedächtnisprozesse optimal aufeinander abzustimmen (Goto und Grace, 2008). Das ist ein wichtiges Zusammenspiel bei Arbeitsgedächtnisprozessen und ähnelt Vorgängen des episodischen Gedächtnisses.

Die Fähigkeit, zwischen Erkunden und defensiven Verhaltensweisen – wie im Holeboard – umschalten zu können, ist für das Überleben von Tieren von essentieller Bedeutung (Bilenkin, 1979). Es wurde vermutet, dass dieses Umschalten ähnlich wie bei Invertebraten (Jing und Gillette, 2000; Yapici et al., 2007) auch bei Säugetieren durch bestimmte neuronale Kreise gesteuert wird. Bei Mäusen wurde ein solcher Mechanismus durch Herry et al. (2008) gefunden. Zwei Populationen von Neuronen der BLA verändern durch die schnelle Änderung der Balance ihrer Aktivitäten den Status der Verhaltensausrprägung bei geringer und großer Angst. Diese beiden Populationen sind in bestimmte neuronale Kreise integriert, die unterschiedlich mit dem HC und dem mPFC verbunden sind. Es könnte ein allgemeines Prinzip der Architektur des Nervensystems sein, dass solche neuronalen Kreise auch anatomisch eng beieinander liegen, so dass auch lokale Wechselwirkungen möglich sind.

Schlussfolgerung 1: *HC und PFC kommunizieren bei der Lösung von räumlichen Arbeitsgedächtnisaufgaben intensiv miteinander. Die Konzentrationen von Neurotransmittern verändern sich in beiden Arealen.*

Folgeuntersuchungen 1: *Gleichzeitige Mikrodialyse im HC und PFC. Experimente zur Interaktion beider Hirnareale.*

5.2 LTP und Mikrodialyse

Die Hypothese von Hebb (1949) (s. Kapitel 2.1) sowie die elektrophysiologischen Experimente von Bliss und Lømo (1973) an anästhetisierten Kaninchen (s. Kapitel 2.5) lösten eine Vielzahl von Untersuchungen über die neuronalen Grundlagen des Lernens und des Gedächtnisses aus und führten zu einem besseren Verständnis dieser Vorgänge. Besonders das Phänomen der LTP (Bliss und Lømo, 1973) wurde eingehend erforscht. LTP wurde in sehr vielen Hirnregionen gefunden, einschließlich des visuellen Cortex und der Amygdala. Abe (2001) ist der Meinung, dass sich die LTP am leichtesten und am besten reproduzierbar im HC auslösen lässt. Vermutlich, weil die Neuronen hier sehr regelmäßig geschichtet sind und sich so die Feldpotentiale leicht zuordnen lassen.

Auch sind die Ableit- und Stimulationskoordinaten sowie die beide verbindende Leitungsbahnen, die auslösenden Reize sowie deren Stärke in jahrzehntelanger Forschung an vielen tausend Tieren eingehend erforscht und verifiziert worden. Die LTP wird wegen der lang andauernden Erhöhung der synaptischen Effektivität als ein zelluläres Korrelat bzw. Modell des Gedächtnisses betrachtet (Matthies, 1989; Bliss und Collingridge, 1993).

Es ist aber weiterhin strittig, ob während der Gedächtnisbildung tatsächlich LTP-ähnliche Phänomene auftreten (Abe, 2001). Eine Reihe von Untersuchungen unterstützen die These, dass die LTP ein dem Lernen und dem Gedächtnis ähnliches Phänomen ist: Bei Tieren, die einen Lerntest absolvieren mussten, wurde die Leistung in diesen Experimenten durch die Applikation von Substanzen beeinträchtigt, die auch die Ausbildung der hippocampalen LTP behindern (Morris et al., 1986; Laroche et al., 1989; Watanabe et al., 1992). Elektrische Stimulation, die eine hippocampale LTP auslöst, beeinflusst auch die Herausbildung des Gedächtnisses (Berger, 1984; Barnes et al., 1994; Moser et al., 1998). Es wurde eine Korrelation zwischen dem Lernvermögen und der LTP-Induktion nachgewiesen (Ramirez et al., 1988; Deupree et al., 1991; Silva et al., 1992). Es wurden jedoch auch einige Ergebnisse gefunden, die Abweichungen zwischen LTP und Gedächtnis bezüglich der Aktivierung von Genen oder ihrer Beeinflussbarkeit durch bestimmte Substanzen zeigten (Richter-Levin et al., 1988; Bannerman et al., 1997; Meiri et al., 1998). Allerdings wiesen Whitlock et al. (2006) nach, dass räumliches Lernen bei Ratten hippocampale LTP erzeugt. Und Pastalkova et al. (2006) zeigten, dass die Unterbrechung der Aufrechterhaltung der hippocampalen LTP die Löschung bereits vorhandener räumlicher Gedächtnisinhalte verursacht. In den Experimenten der vorliegenden Arbeit wurde die LTP durch die Applikation einer artifiziellen elektrischen Stimulation an bestimmten Synapsen ausgelöst.

Der hier verwendete Ansatz (Mikrodialyse mit kombinierter, elektrophysiologischer Stimulation) eröffnet einige Vorteile gegenüber der rein pharmakologischen Experimentieranordnung: Zum einen können die dynamischen Änderungen der Neurotransmitterkonzentrationen zu bestimmten prä- und vor allem posttetanischen Zeitpunkten über einen längeren Zeitraum dokumentiert werden. Zum anderen können verschiedene Neurotransmitter innerhalb eines Chromatogramm nachgewiesen werden. Das reduziert einerseits die Zahl der Versuchstiere und andererseits erlaubt es die gleichzeitige Analyse verschiedener Neurotransmittersysteme.

Durch die Mikrodialyse im HC konnte die Dynamik der Konzentrationen der extrazellulären Neurotransmitter nach der Stimulation des Tractus perforans dargestellt werden. Es wurden in der vorliegenden Arbeit transiente und verlängerte Änderungen bei DA, NA und 5-HT gezeigt. Jeder dieser Neurotransmitter zeigte nach den verschiedenen Stimulationen einen spezifischen Zeitverlauf der extrazellulären Konzentration (s. Abbildung 4.2 auf Seite 52). Bronzino et al. (1999, 2001) erzielten mit einer ähnlichen Methode vergleichbare Ergebnisse für NA. In den hier vorgestellten Experimenten wurde dieser experimentelle Ansatz deutlich erweitert. Zum einen ist der Messzeitraum wesentlich vergrößert worden. Zum anderen ist es möglich, die vorliegenden Ergebnisse mit

elektrophysiologischen und molekularen Antworten innerhalb des HC zu vergleichen. Weiterhin wurden auch DA und 5-HT in die Analyse aufgenommen. Von diesen beiden Neurotransmittern ist bekannt, dass sie eine wichtige und signifikante Rolle bei der Induktion und der Erhaltung der hippocampalen LTP spielen. Außerdem wurde eine Kontrollgruppe in den Versuch integriert, die die normalen tageszeit- und verhaltensabhängigen Konzentrationsschwankungen der Neurotransmitter belegen sollte.

Die Dauer der Erhöhung der DA-Konzentration war direkt anhängig von der Stärke der elektrophysiologische Stimulation. Wegen der Größe und der Position der Mikrodialysesonde erscheint es möglich, dass extrazelluläres DA von der CA1-Region in die Sonde diffundiert sein könnte. Das lässt die Schlussfolgerung zu, dass das extrazelluläre DA innerhalb der CA1-Region ebenso wie das DA des Gyrus dentatus Anteile an dem verzeichneten Anstieg des DA hatte. Mit der hier angewandten Methode kann die Größe und der Anteil einer solchen Diffusion nicht bestimmt werden. Die Anstiege beider Kurven, also der nach einem schwachen wie auch der nach einem starken Tetanus resultierenden, waren nahezu identisch. Im Vergleich der Zeitverläufe der DA-Konzentrationen zeigte sich eine direkte Abhängigkeit von den verschiedenen tetanischen Stimulationen des HC über den Tractus perforans.

Im Gegensatz zur CA1-Region des HC spielen die D1/D5-Rezeptoren im Gyrus dentatus keine kritische Rolle bei der Ausbildung der LTP und der Depotentiation. Jedoch verursacht die Agonisten-Aktivierung der D1/D5-Rezeptoren eine Inhibition der Gyrus-dentatus-Depotentiation. Dagegen haben pharmakologische Manipulationen der D1/D5-Rezeptoren keinen Einfluss auf die LTP (Kulla und Manahan-Vaughan, 2000). Diese Ergebnisse lassen eine differenzierte Rolle bei der Modulation verschiedener Formen synaptischer Plastizität in dieser hippocampalen Region vermuten. Da DA als Antwort auf Belohnungsstimuli freigesetzt wird (Schultz et al., 1993), kann man in diesem Zusammenhang spekulieren, dass die DA-Freisetzung der Beeinträchtigung der Depotentiation und damit der Verstärkung der LTP-Ausprägung dient (Kulla und Manahan-Vaughan, 2000). DA D2-Rezeptoren sind an Prozessen der frühen Gedächtnisbildung beteiligt (Packard und White, 1989,1991; White et al., 1993). Die Beeinträchtigung der LTP durch die Applikation von DA D2-Rezeptor-Antagonisten wird innerhalb weniger Minuten nachweisbar. Das spricht ebenfalls für eine wichtige Rolle dieser Rezeptoren in der frühen Phase der Gedächtnisbildung (Manahan-Vaughan und Kulla, 2003). DA D2-Rezeptoren spielen eine modulatorische Rolle bei der synaptischen Plastizität im Gyrus dentatus frei beweglicher Ratten. Der kritische Einfluss dieser Rezeptoren wird durch die selektive Inhibitorisierung der LTP durch applizierte D2-Rezeptor-Antagonisten deutlich (Manahan-Vaughan und Kulla, 2003). Die Regulation der LTP-Depotenzierung durch die D2-Rezeptor-Aktivierung könnte dem Erhalt der erleichterten Potentiationsfähigkeit kürzlich potenzierte Pfade dienen, und damit auch der Verstärkung der Informationsspeicherung. Das unterstützt auch die modulierende Rolle des DA bei der synaptischen Plastizität und die der D2-Rezeptoren bei Prozessen des Lernens und des Gedächtnisses (Manahan-Vaughan und Kulla, 2003).

Die hier vorgelegten Ergebnisse unterstützen die Erkenntnis, dass NA speziell in die Induktionsprozesse der late-LTP im Gyrus dentatus involviert ist (Frey et al., 2001; Straube et al., 2003; Straube und Frey, 2003; Korz und Frey, 2007). Zusätzlich enthüllen diese Daten einen Zeitraum der Transmitterantworten, der in früheren Studien weder in vitro noch in vivo gezeigt wurde (Reymann et al., 1985; Frey et al., 1993 und 2001; Huang und Kandel, 1994; Seidenbecher et al., 1995 und 1997; Frey und Morris, 1997 und 1998; Bergado et al., 2001). Passend zum pharmakologischen Ansatz der eben erwähnten Autoren, durch Applikation von Agonisten und Antagonisten zu einzelnen prä- oder post-tetanischen Zeitpunkten, den modulatorischen Einfluss der Neurotransmitter auf die LTP zu überprüfen, nehmen deren Vermutungen über diese Modulationen einen größeren Platz ein als Effekte des Reinforcement.

Überraschenderweise wurde in der vorliegenden Studie die Applikation eines schwachen Tetanus, der in seiner Stärke hinreichend ist, eine early-LTP auszulösen, von einer vorübergehenden Verringerung der extrazellulären NA-Konzentration begleitet (s. Abbildung 4.2-B auf Seite 52). Diese Abschwächung beeinträchtigt jedoch nicht die Induktion einer early-LTP, die proteinbiosyntheseunabhängig ist und somit keine heterosynaptische Aktivierung erfordert. Momentan lässt sich die Ursache dieses Resultats nicht eindeutig erklären. Es kann von verschiedenen Mechanismen abhängen:

- von der Erhöhung des Transmitter-Reuptakes und/oder des beschleunigten Transmitterabbaus (Linnér et al., 2004; Hajós et al., 2003; Kocsis et al., 2007),
- oder von den Wechselwirkungen mit anderen Transmittersystemen, z.B. des serotonergen Systems (Almaguer et al., 2005),
- und/oder den Interaktionen des HC mit anderen Strukturen des Gehirns.

Dies wiederum könnte dazu führen, dass die relativ kurzzeitig anhaltende early-LTP nicht in eine late-LTP überführt werden kann.

Die neuromodulatorischen Hirnstrukturen und die Mechanismen, die von der Stimulation des Tractus perforans zur Ausprägung der LTP führen, sind noch immer nicht vollständig erkannt. Bekannt ist jedoch bereits, dass die elektrophysiologische oder chemische (glutamaterge) Stimulation des Locus coeruleus (Dahl und Winson, 1985; Washburn und Moises, 1989; Harley und Sara, 1992; Berridge und Waterhouse, 2003), ein Korrelat auf zellulärer Ebene für den Verhaltensstatus der Aufmerksamkeit und Aktivierung (Sara et al., 1994), die Freisetzung von NA im HC erhöht. Dagegen verringert eine niedrigfrequente Stimulation der basolateralen Amygdala die Konzentration des NA im Gyrus dentatus (Almaguer et al., 2005). Vizi und Kiss (1998) fanden heraus, dass die Effekte des NA im HC das Resultat von rezeptorvermittelten Prozessen sind. Die beiden Autoren analysierten auch die synaptischen und nicht-synaptischen Wechselwirkungen, die in die präsynaptische Modulation der Freisetzung von Neurotransmitter verwickelt sind und fanden heraus, dass Neurotransmitter, die von Axonendigungen ohne synaptischen Kontakt freigesetzt wurden, eine sehr wichtige Rolle in der Feinabstimmung der Kommunikation zwischen Neuronen innerhalb eines neuronalen Netzwerkes spielen. Vizi (2000)

begutachtete neurochemische und morphologische Nachweise, die vermuten lassen, dass einige Neurotransmitter (unter ihnen DA, NA und 5-HT), die sowohl von synaptischen wie auch von nichtsynaptischen Stellen freigesetzt werden, eine größere Distanz zu Zielzellen mittels Diffusion überwinden, als das bisher bei normaler synaptischer Übertragung beobachtet wurde.

Endogenes 5-HT hat einen großen inhibitorischen Effekt auf die LTP-Induktion der CA1 des intakten HC (Stäubli und Xu, 1995). Es gibt verschiedene Subtypen von 5-HT-Rezeptoren mit unterschiedlichen Affinitäten zu 5-HT (Barnes und Sharp, 1999). Demzufolge führt der Anstieg der extrazellulären Konzentration des 5-HT zu einer Aktivierung einer großen Zahl von Rezeptoren. Viele dieser Rezeptoren sind an Prozessen beteiligt, die die Induktion der LTP regulieren (Marchetti et al., 2004; Kemp und Manahan-Vaughan, 2005). Andere Studien bringen den Beweis, dass 5-HT-Mechanismen an der Vermittlung und der Modulation der Blockade der hippocampalen LTP-Induktion durch akuten Stress beteiligt sind (Shakesby et al., 2002; Korz und Frey, 2003). Dies kann die Verringerung der 5-HT-Konzentration durch das moderate Handling vor dem Versuch erklären. Es konnte beobachtet werden, dass zu Beginn eines elektrophysiologischen Experimentes die Tiere agiler und aufmerksamer waren als an dessen Ende. Im Verlauf des Experimentes verbrachten die Ratten einen immer größeren Zeitanteil schlafend. Das kann mit einer verringerten Aktivität der Amygdala zusammenhängen. Dies könnte die langsame aber stetige Verringerung der 5-HT-Konzentration bei allen untersuchten Ratten über den Zeitverlauf erklären. Die Ursache hierfür könnte als alternative Erklärung aber auch eine allmähliche Gewöhnung an die Umgebung sein (Sicherheitsgefühl → Schlafen).

Eine solche Abnahme der Konzentration konnte bei den anderen Neurotransmittern nicht beobachtet werden. Deren Konzentrationen zeigten eher eine direkte Abhängigkeit von den verschiedenen tetanischen Stimulationen des HC. Die modulierende Rolle der serotonergen Projektionen der Nuclei raphes (Sarihi et al., 2003) auf die hippocampale 5-HT-Konzentration wurde bereits ebenso beschrieben wie die der basolateralen Amygdala (Almaguer-Melian et al., 2005). Letztere Autoren fanden nach einer niederfrequenten Stimulation ebenfalls eine Verringerung der extrazellulären 5-HT-Konzentration im Gyrus dentatus.

Ähnliche Prozesse können an den unterschiedlichen Zeitverläufen der drei untersuchten Neurotransmitter nach den verschiedenen Stimuli beteiligt sein. Ebenfalls können bei der intrahippocampalen Verarbeitung der Stimulations-signale verschiedene Zielzellen angesteuert und auch eine nachfolgende Aktivierung unterschiedlicher Hirnstrukturen durch den HC erfolgen. Diese aktivierten Hirnstrukturen senden dann wiederum Informationen über verschiedene monoaminerge Projektionen zurück zum HC. Zum Beispiel kann der verzögerte Anstieg des 5-HT nach einer starken Stimulation verglichen mit der sofortigen Änderung nach der schwachen Stimulation auf der Aktivierung verschiedener Hirnstrukturen durch den HC oder auf eine zeitlich abweichende, intrahippocampale Verarbeitung der einkommenden Signale beruhen.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass definierte, über den Tractus perforans applizierte Stimulationsmuster, im HC spezifische, zeitliche begrenzte Änderungen der extrazellulären Konzentrationen von DA, NA und 5-HT auslösen. Die im allgemeinen für lebende Systeme auffallend geringen Standardabweichungen der Neurotransmitterkonzentrationen bei den LTP-Experimenten lassen den Schluss zu, dass die Größe der applizierten elektrophysiologischen Stimulation über der natürlichen, individuellen Schwelle eines solchen Reizes lag. Damit würden die hier gezeigten Änderungen der Neurotransmitter in ihrer Größe die artifiziell eventuell überhöhten Wirkungen dieses über den Tractus perforans induzierten Reizes wiedergeben. Prinzipiell wird jedoch auf diese Weise zumindest ein Teil der Folgen eines solchen Reizes deutlich. Individuell und der Reizstärke entsprechend abgestuft, verändern sich die Konzentrationen der untersuchten Neurotransmitter.

Die Identifikation der in die Verarbeitung der verschiedenen Stimulationsprotokolle einbezogenen neuralen Netzwerke ist eine Aufgabe für zukünftige Untersuchungen und kann durch pharmakologische Blockade von afferenten und efferenten Projektionen erfolgen. Die Basis für spezifische und zielorientierte pharmakologische Eingriffe im Zusammenhang mit der elektrophysiologischen Stimulation des HC und gleichzeitiger Mikrodialyse wird durch die vorliegende Untersuchung gelegt.

Schlussfolgerung 2: *Die extrazellulären Konzentrationen der Neurotransmitter DA, NA und 5-HT im HC änderten sich nach elektrophysiologischer Stimulation des HC über den Tractus perforans in Abhängigkeit der Stärke und der Qualität der elektrischen Stimulation. Die Änderungen der DA-Konzentrationen lehnten sich eng an die Stärke der Stimulation an. 5-HT ähnelte DA, nur bei der starken Stimulation kam es zu einer deutlichen Verzögerung des Anstiegs der 5-HT-Konzentration. Die Verarbeitung der Reizstärken bei NA war komplexer. Die schwache Stimulation verursachte eine Verringerung, die starke einen Anstieg der NA-Konzentration. Die heterosynaptischen Aktivierungen nach der elektrophysiologischen Stimulation des HC sind offensichtlich komplizierter als bisher angenommen.*

Folgeuntersuchungen 2: *Stimulation des HC während des Lern- und Gedächtnistestes im Holeboard und parallele Untersuchung der Neurotransmitterkonzentrationen (s.a. Whitlock et al., 2006; Pastalkova et al., 2006). Desgleichen mit Auslösung einer HC-PFC-LTP (s.a. Huang et al., 2007 und Lim et al., 2010) auch während der Ruhephasen.*

5.3 Noradrenalin und Lernen

Die unterschiedliche Ausprägung der Neurotransmitterkonzentrationen bei Ratten, die ein konstantes und bei Tieren, die ein zufälliges Futtermuster suchen mussten, lag weder an einer abweichenden Versuchsanordnung noch an Unterschieden im Motivationsstatus, da beide Gruppen dieselbe Menge

desselben Futters in derselben Zeit zu sich nahmen und zuvor auch gleichen Bedingungen der Futterrestriktion unterlagen. Auch eine neue Umgebung (Dalley und Stanford, 1995; Feenstra, 2000; Feenstra et al., 2000) spielte keine Rolle, da beide Gruppen gleich habituiert wurden.

Die signifikanten Änderungen der hippocampalen NA-Konzentration bei den Holeboardversuchen müssen daher in der abweichenden Verteilung der Futterpellets ihre grundlegende Ursache haben. Es lassen sich verschiedene Faktoren vermuten. Zum einen fällt auf, dass sich nur die Kurve des NA-Verlaufes der ein konstantes Muster suchenden Tiere signifikant vom Verlauf der Kontrollkurve unterscheidet (Abbildung 4.3 auf Seite 55). Der Unterschied in den ersten Trials zwischen dem konstanten und dem zufälligen Pelletmuster könnte zum Teil bereits im Versuchsaufbau begründet sein. Um die Vergleichbarkeit mit den bereits in der Arbeitsgruppe Neurophysiologie des Leibniz-Institutes für Neurobiologie durchgeführten Untersuchungen im Holeboard zu erleichtern (Uzakov et al., 2005; Korz und Frey 2007; Makhracheva-Stepochkina et al., 2008), wurde auf das in diesen Experimenten verwendete konstante Verteilungsmuster zurückgegriffen. Dieses Muster ist aus meiner Sicht nicht optimal auf die Verhaltensweisen der Ratten angepasst. Zum einen befinden sich die Mehrzahl der beköderten Löcher nicht am Rand. Das kommt dem natürlichen Verhalten der Tiere, Schutz zu suchen und offene Flächen eher zu meiden, nicht entgegen. Gerade ängstlichere Tiere bedürfen auch deshalb einer längeren Habituation an die Versuchsaapparatur. Der für die frühen Unterschiede zwischen den beiden trainierten Gruppen wichtigere Grund ist jedoch, dass eines der beköderten Löcher des konstanten Musters unmittelbar in der Nähe des Zugangs der Tiere zum Holeboard liegt. Die Tiere kommen aus der Schleuse, ignorieren meist die erste Lochreihe am Eingang, zögern dann vor der offenen Fläche und versuchen sich oft im nächsten Loch zu verstecken. Dabei stößt ein Teil der Tiere schon auf das erste Pellet des konstanten Musters. Das könnte auch die Erklärung für die bereits nach den ersten beiden Trials offensichtlichen Unterschiede zwischen den Latenzen beider Gruppen sein. Zu diesem frühen Zeitpunkt sollte ein Lerneffekt noch nicht so deutlich auftreten.

Die signifikanten Unterschiede zwischen den extrazellulären hippocampalen NA-Konzentrationen bei einem konstanten und zufälligen Pelletmuster lassen sich zum heutigen Zeitpunkt nur deuten, wenn man eine Korrelation mit der Induktion verschieden starker, sensorischer Stimulation über den Tractus perforans annimmt (s. hierzu auch Kapitel 5.2). Wie bei der elektrophysiologischen Stimulation des HC gezeigt werden konnte, verursachen unterschiedlich starke Stimuli verschiedene Konzentrationsänderungen des hippocampalen NA (Neugebauer et al., 2009). Ein starker Tetanus bewirkt eine deutliche Erhöhung der Konzentration. Die durch die starke Tetanisierung verursachte Änderung ähnelt der, wie sie bei der Gruppe eines konstanten Pelletmusters gefunden wurde. Hingegen verringerte ein schwacher Tetanus die hippocampale NA-Konzentration vorübergehend. Nimmt man nun an, dass auch bei den Tieren der anderen Gruppe während der Erkundung des Holeboards Einflüsse auf die hippocampale NA-Konzentration erfolgen, so könnte die resul-

tierende Kurve ein Status zwischen den entsprechenden Korrelaten der schwachen und starken tetanischen Stimulation, also der Verringerung und der Erhöhung der NA-Konzentration, widerspiegeln. Dass der Zeitverlauf sehr stark dem der Kontrollgruppe ähnelt, muss demzufolge in diesem Fall nicht auf gleiche Ursachen, sondern kann auf ähnlichen Folgen beruhen.

Verschiedene Untersuchungen zeigten eine Vielzahl von Faktoren auf, die eine Erhöhung der extrazellulären NA-Konzentration verursachen. Die Präsentation wie auch die Restriktion bevorzugten Futters (Cenci et al., 1992; Taber und Fibiger, 1997; Feenstra, 2000, Feenstra et al., 2000) kann ebenso zur Erhöhung der NA-Konzentration führen wie Stimuli, die nur eine solche Belohnung erwarten lassen (Mingote et al., 2004). Zumindest zeigten diese Autoren das für den PFC. Jedoch können auch Locus-coeruleus-Neuronen durch Reize aktiviert werden, die Anforderungen an die Aufmerksamkeit stellen, nicht jedoch mit Belohnung assoziiert sind (Grant et al., 1988; Aston-Jones et al., 2000). Auch Berridge und Waterhouse (2003) zeigten, dass die Aktivierung des Locus coeruleus weitreichende elektrophysiologische Einflüsse auf die hippocampale Konzentration von NA wie auch auf das Verhalten des Tieres hat. Löst man im Locus coeruleus eine hippocampale Potenzierung aus, so unterstützt diese mehr die Ausprägung eines Langzeitgedächtnisses als eines Kurzzeitgedächtnisses (Walling und Harley, 2004). Demzufolge unterliegen diese beiden Prozesse unterschiedlichen biologischen Mechanismen. Das passt wiederum gut zu der oben angeführten Hypothese. Da die β -adrenerge Rezeptoraktivierung in der CA1-Region und des Gyrus dentatus des HC wichtig für die Speicherung oder die Abfrage des Langzeitgedächtnisses ist (Gelinas und Nguyen, 2005), könnten die hier präsentierten Unterschiede zwischen den NA-Konzentrationen u.a. darauf beruhen, dass beim konstanten Verteilungsmuster der Pellets eine derartige Aktivierung erfolgt. Auch wurde gezeigt, dass die Aktivierung des LC-noradrenergen Systems mit der verbesserten Antwort auf aufgabenrelevante Stimuli assoziiert ist (Aston-Jones et al., 2000; Berridge und Waterhouse, 2003). Diese Aussage könnte auch für eine Erhöhung der NA-Konzentration im Zusammenhang mit dem Erkennen der hinter der Verteilung der Futterpellets liegenden Regel sprechen.

Bei Konditionierungsversuchen wurde Ratten ein Ton präsentiert, dem eine Belohnung folgte. Dabei waren sowohl die NA-Konzentration als auch die DA-Konzentration im mPFC erhöht. Erfolgte nach dem Signal keine Belohnung, erhöhte sich nur die NA-Konzentration (Mingote et al., 2004). Das noradrenerge System ist also in die Belohnungserwartung involviert. Bei einem aversiven Konditionierungsversuch wurde Ratten ein Tonsignal präsentiert und ein Fußschock gegeben. Erfolgten diese beiden Stimuli zusammen, so erhöhte sich die Freisetzung von DA und NA im PFC (Feenstra et al., 2001).

Der mPFC ist bezüglich der Freisetzung von NA infolge verschiedener Stimuli deutlich besser untersucht als der HC. Die PFC-NA-Innervation wird durch verschiedene Stimuli aktiviert, ohne Rücksicht auf ihre belohnende oder abschreckende Qualität (Dalley und Stanford, 1995; Rebec et al., 1997; McQuade et al., 1999; Feenstra, 2000; Feenstra et al., 2000). Allerdings ist die Größe der Freisetzung von DA und NA im PFC als Reaktion auf eine neue

Umgebung oder dem Handling der Ratten auch davon abhängig, ob der Versuch während der dunklen oder hellen Phase des Tages geschieht (Feenstra et al., 2000).

Einen offensichtlichen Einfluss des Handlings (Dalley und Stanford, 1995; Kawahara et al., 1999; Feenstra et al., 2000) auf die NA-Konzentration konnten Rossetti und Carboni (2005) nicht feststellen. Aus den Experimentiererfahrungen der vorliegenden Untersuchung kann dieses Ergebnis unter den folgenden Bedingungen bestätigt werden. Je vertrauter die Versuchstiere mit dem Experimentator und der Versuchsanordnung sind, um so weniger ängstliches Verhalten zeigen die Tiere. Die Tiere sind ruhiger, unaufgeregter und agieren auch beim Suchen im Holeboard sicherer. Daher liegt die Schlussfolgerung nahe, dass das Handling dann keinen messbaren Einfluss auf die Konzentrationen der Neurotransmitter hat, wenn die Tiere mit der Experimentierumgebung und mit dem Experimentator vertraut sind. Somit sind die Art und Weise des Umgangs mit den Tieren und der Grad der Vertrautheit der Tiere mit der Person des Experimentators wichtige Faktoren für die Validität der Resultate. Diese These wird auch durch die Resultate von Beck und Luine (2002) unterstützt. Diese Autoren fanden heraus, dass sich die hippocampale NA-Konzentration unter Stressbedingungen deutlich erhöht. Die Verkleinerung von Stressfaktoren ist somit bedeutsam für die NA-Konzentration im HC.

Die NA-Ausschüttung im PFC ist dagegen erhöht (d.h., das noradrenerge System des Locus coeruleus ist phasenweise aktiviert), wenn die Tiere das Versuchslabyrinth auf Futter hin untersuchen. Deshalb kann die Ausschüttung von NA während der Versuche ein neurochemisches Korrelat eines kortikalen Reizes repräsentieren, der für die Verarbeitung räumlicher Informationen bei der Lokalisierung der Futterbelohnung notwendig ist (Rossetti und Carboni, 2005). Das wirft auch wiederum ein wenig Licht auf die Rolle des Locus coeruleus bei Aufmerksamkeitsprozessen (Aston-Jones et al., 2000). Die NA-Konzentrationsänderung lässt sich somit nicht auf genau eine Ursache festlegen.

Noradrenerge Neuronen können das Signal-Rausch-Verhältnis im präfrontalen und parietalen Cortex verbessern, sowie die Antworten auf wichtige Stimuli verstärken und die Antworten auf irrelevante schwächen (Aston-Jones et al., 1994).

β -adrenerge Antagonisten (darunter Propranolol) blockieren systemische Effekte der Glucocorticoide in der BLA (Quirarte et al., 1997). Nach Applikation von 3 mg/kg Propranolol in die BLA und der daraus resultierenden NA-Blockade wurde jedoch keine Beeinträchtigung der Gedächtnisleistung festgestellt (Roozendaal et al., 2006).

Pyramidenzellen des Affengehirns projizieren zu den noradrenergen Locus-coeruleus-Neuronen (Arnsten und Goldman-Rakic, 1984). Auch im Rattengehirn wurden solche starken exzitatorischen Verbindungen nachgewiesen (Jodo und Aston-Jones, 1997, Jodo et al., 1998). PFC-Neuronen feuern als Antwort auf Reize, die gespeicherte Informationen abrufen und eine Verhaltensantwort auslösen (Fuster, 1973; Kubota et al., 1974; Niki, 1974). Das Feuern dieser Neuronen ist positiv mit der Exaktheit des gedächtnisbasierten

Verhaltens korreliert (Goldman-Rakic, 1995). Diese Aktivität der PFC-Pyramidenzellen kann durch noradrenerge Antagonisten verringert werden (Li und Mei, 1994; Sawaguchi, 1998; Li et al., 1999). DA moduliert die Aktivität der glutamatergen Pyramidenzellen im PFC über synaptische und extrasynaptische Mechanismen sowie durch indirekte, durch GABA-Neuronen vermittelte Effekte. Andererseits innervieren Glutamatneuronen dopaminerge Zellen innerhalb des ventralen tegmental Areal. Dieser selektive Glutamatinput stammt u.a. aus dem PFC (Sesack et al., 2003). Auf diese Weise können sich das dopaminerge und das glutamaterge System gegenseitig beeinflussen. Doch auch das noradrenerge Neurotransmittersystem bleibt bei diesen Wechselbeziehungen nicht ausgeschlossen. Denn die Inhibition von GABA bewirkt eine verstärkte Ausschüttung von NA, das führt wiederum zu einer verbesserten Gedächtnisleistung (Hill und McEwen, 2009). Eine PFC-aktivitätsverwandte Repräsentation des Aufmerksamkeitszieles kann daher die phasische Aktivierung des Locus coeruleus auslösen, um das Ziel der Umgebung mit dem höchsten Motivationsinhalt - das nächste Loch mit einem vermuteten Futterpellet - im Fokus zu behalten.

Deshalb weist der Unterschied in der Stärke der NA-Freisetzung auf eine Beziehung zwischen den durch die Testbedingungen erforderlichen Anforderungen an die Aufmerksamkeit und die phasische Aktivierung des Locus coeruleus hin. Das lässt eine spezifische Rolle des NA im PFC bei der Funktion des Arbeitsgedächtnisses vermuten. Für die auf ein konstantes Muster trainierten Tiere kann es notwendiger sein, das NA-Level zu erhöhen, um das notwendige Aufmerksamkeitsniveau für die erwartete Belohnung zu erreichen, da für die auf ein zufälliges Muster trainierten Tieren diese ungewisser ist.

In diesem Zusammenhang schlugen Rossetti und Carboni (2005) vor, die Erhöhung des NA-Levels als ein Korrelat für die selektive Aufmerksamkeit anzusehen, das erforderlich ist, um die Regeln zum Erreichen eines Zieles aktiv zu erhalten (Robbins, 1984; Rainer et al., 1998; Aston-Jones et al., 2000; Everling et al., 2002; Berridge und Waterhouse, 2003).

Diese Hypothese bestätigen auch die durchgeführten Versuche, bei denen Propranolol in den PFC appliziert wurde. Hierbei erhöhte sich gegenüber den unbehandelten Tieren nach der Applikation die Zahl der Arbeitsgedächtnisfehler signifikant. Das Arbeitsgedächtnis, d.h. in diesem Fall, das kortikale Korrelat für die Erkennung der dem Verteilungsmuster zugrunde liegenden Regel, sei sie zufällig oder konstant, sowie das Kurzzeitgedächtnis (welche Löcher wurden schon besucht) wurde durch den NA-Antagonisten nachweislich wesentlich beeinträchtigt. Dass NA eine entscheidende Rolle bei Prozessen des Arbeitsgedächtnisses spielt, zeigten schon Untersuchungen, die durch alpha2-NA-Rezeptor-Agonisten eine Verbesserung der reduzierten Arbeitsgedächtnisleistungen bei älteren Affen (Murphy et al., 1996a und 1996b) und Ratten (Tanila et al., 1996) nachwiesen. So betrachtet, hat das noradrenerge Locus-coeruleus-System einen modulatorischen Einfluss auf den PFC und dessen Arbeitsgedächtnisfunktionen (Arnsten, 2001). Die Aktivierung des LC-noradrenergen oder des DA-corticolimbischen Systems ist dagegen allein nicht ausreichend für die Funktionsweise des Arbeitsgedächtnisses, weil die selektive

Beeinträchtigung der NA- oder DA-Übertragung im PFC das Arbeitsgedächtnis stört (Brozoski et al., 1979; Bubser und Schmidt, 1990; Roberts et al., 1994; Arnsten, 1997). NA ist im PFC während eines räumlichen Arbeitsgedächtnistests selektiv erhöht, während die DA-Erhöhung dort unabhängig davon ist, ob die Tiere bereits testrelevante Informationen erhalten haben. Dies unterstützt die Hypothese der gedächtnisgeführten Suche nach Futterbelohnung. DA ist primär mit der Vermutung über die Belohnung verbunden, während NA an der selektiven Aufmerksamkeit beteiligt ist, die notwendig für die aktive Bewahrung der Regeln zum Erreichen des Zieles ist (Rossetti und Carboni, 2005). Die Infusion von SKF81297 (eines selektiven D1/D5-Rezeptor-Agonisten) in den PFC bewirkt eine dosisabhängige durch die Infusion von SCH 23390 umkehrbare Beeinträchtigung bei der Durchführung von räumlichen Gedächtnisaufgaben. Das zeigt, dass die damit ausgelöste supranormale Stimulation der DA D1-Rezeptoren ausreichend ist, um kognitive Fehlfunktionen auszulösen (Zahrt et al., 1997).

Interessanterweise erhöhten die mit Propranolol behandelten Tiere signifikant ihre Suchgeschwindigkeit. D.h., sie legten in der gleichen Zeit eine deutlich größere Wegstrecke zurück. Auf diese Weise erreichten sie trotz der vergrößerten Arbeitsgedächtnisfehleranzahl (Definition hierfür Seite 82) Latenzzeiten, die denen der unbehandelten Gruppe sehr ähnelten. Bemerkenswert ist, dass diese beschleunigte Suche besonders schnell bei den Tieren war, die auf ein konstantes Muster trainiert wurden. Dabei entstand der Eindruck, dass die Ratten die Löcher rascher kontrollierten. Da diese Tiere die ursprünglich beköderten Löcher mehrfach besuchten, ließ sich das mit der verwendeten Auswertesoftware nicht beweisen. Dass die Tiere die Distanzen zwischen den Löchern schneller überwandten, konnte mit den Messwerten der zurückgelegten Entfernung und der Latenzzeit nachgewiesen werden.

Aufschlussreich ist bei den mit Propranolol behandelten Tieren auch die geringe Zahl an Referenzgedächtnisfehlern (Definition hierfür Seite 79). Beide Gruppen suchten weniger in ursprünglich unbeköderten Löchern als die nicht mit Propranolol behandelten Tiere.

Im Zusammenhang mit der in beiden Gruppen signifikant verringerten Anzahl der Referenzgedächtnisfehler und besonders im Vergleich mit den unbehandelten Tieren bedeutet die Erhöhung der Arbeitsgedächtnisfehler, dass die einfacheren Strategien und Motivationen, beispielsweise die Löcher noch einmal abzusuchen, in denen bereits ein Pellet gefunden wurde, durch eine Verringerung des extrazellulären NA in den Vordergrund treten. Die gespeicherten Regeln werden noch abgerufen (die Tiere halten sich in der Nähe der mit dem konstanten Muster beköderten Löcher auf), die Information, welche Löcher jedoch bereits geleert wurden, ist offensichtlich nicht abrufbar. Ob diese Information durch die Applikation des Propranolols überhaupt nicht registriert wurde, ob sie nicht gespeichert wurde, ob sie gespeichert wurde, aber (momentan) nicht abrufbar ist oder ob sie gelöscht wurde, lässt sich mit der gegebenen Versuchsanordnung nicht entscheiden. Möglich ist jedoch beim Vergleich mit anderen Arbeiten (Robbins, 1984; Rainer et al., 1998; Aston-Jones et al., 2000; Everling et al., 2002; Berridge und Waterhouse, 2003;

Rossetti und Carboni, 2005), dass die verringerte, extrazelluläre NA-Konzentration im PFC zwar die Abrufbarkeit der Regeln zum Erreichen des Ziels (relativ) unverändert lässt, die Kontrolle der Abarbeitung des Weges dorthin jedoch stark einschränkt.

Oder mit anderen Worten: Bei einer verringerten extrazellulären NA-Konzentration im PFC neigen die Versuchstiere zu einfacheren Strategien, deshalb könnte das präfrontale NA eine wichtige Rolle bei größeren intellektuellen Leistungen unter Beteiligung des PFC spielen.

Nach dem Training von Ratten auf einen Gedächtnistest konnte kurz nach dem Training und in einem Zeitfenster um 2 Stunden nach dem Training ein jeweils signifikanter Anstieg der extrazellulären NA-Konzentration im PFC festgestellt werden (Tronel et al., 2004). Dieses Ergebnis korreliert mit anderen Studien, die ebenfalls eine verzögerte/länger anhaltende Rolle des NA bei der Gedächtniskonsolidierung beobachteten. Eine mögliche Ursache für die verzögerte NA-Reaktion könnte das cAMP-PKA-Signalsystem sein, das an der späten, proteinsyntheseabhängigen Phase des Langzeitgedächtnisses und der LTP beteiligt ist. Die Involvierung des im cAMP-Systems agierenden CREB-Proteins ist beim Langzeitgedächtnis und bei der LTP ebenfalls gut dokumentiert (z.B. Yin und Tully, 1996). Einige Untersuchungen berichten von einer verzögerten (+2-3 h) Phosphorylierung des CREB-Proteins nach einer LTP-Induktion (Schulz et al., 1999) oder nach Lernen (Stanciu et al., 2001). Dies wie auch die Beteiligung anderer Neurotransmittersysteme, könnte die auch in der vorliegenden Untersuchung verzögerte Konzentrationsänderung des NA erklären.

Schlussfolgerung 3: *Die extrazellulären NA-Konzentrationen im PFC und im HC verändern sich infolge eines räumlichen Lern- und Gedächtnistestes. Signifikante Erhöhungen traten vor allem bei Tieren auf, die auf ein konstantes Muster trainiert wurden. NA ist an der selektiven Aufmerksamkeit beteiligt und kann im PFC die Abarbeitung des Weges zum Ziel kontrollieren. Eine erhöhte NA-Konzentration im PFC erscheint wichtig für die Ausprägung eines Kurzzeitgedächtnisses (Arbeitsgedächtnis).*

Folgeuntersuchungen 3: *Ausbau der kombinierten Experimente mit Mikrodialyse zur Untersuchung von NA, aber auch DA und 5-HT (auch parallel in mehrere Hirnarealen), Applikation von Antagonisten und Lernexperimenten.*

5.4 Dopamin und Lernen

DA kodiert nach verschiedenen Theorien hinsichtlich seiner auf das Verhalten bezogenen Funktion universell den Wert und die Wahrscheinlichkeit einer (erwarteten) Belohnung (Montague und Berns, 2002; Schultz, 2002; Tobler et al., 2005). Aber auch beim zielgerichteten Verhalten, dem Arbeitsgedächtnis (Williams und Goldman-Rakic, 1995), und der Konsolidierung des Gedächtnisses (Wise, 2004) spielt DA eine Rolle. Detaillierter betrachtet, ist das dopaminerge System sowohl am Kurzzeit- (Goldman-Rakic, 1995; Bach et al.,

1999; Wilkerson und Levin, 1999) wie auch am Langzeitgedächtnis beteiligt (Schultz et al., 1993; Izquierdo et al., 1998). Weiterhin wurde die dopaminerge Modulation vieler Formen des hippocampusabhängigen Lernens wie auch der räumlichen Orientierung gezeigt (Gasbarri et al., 1996). Auch ist die primäre Rolle von präfrontalem DA bei der Modulation von Arbeitsgedächtnisfunktionen gut dokumentiert (Sawaguchi et al., 1988, 1990; Sawaguchi und Goldman-Rakic, 1991; Williams und Goldman-Rakic, 1995; Wang et al., 2004). Die Rolle des DA als ein Schlüsseltransmitter, der durch verschiedene Computermodelle der DA-Modulation der Arbeitsgedächtnisfunktionen vorgeschlagen wurde (Cohen et al., 1996; Durstewitz et al., 2000; Deco und Rolls, 2003), ist auch vereinbar mit der top-down-PFC-Kontrolle der DA-neuronalen Aktivität bei zielgerichtetem Verhalten (Miller und Cohen, 2001). Die Neuronen des PFC können eine Schlüsselrolle beim zielgerichteten Verhalten einnehmen, da sie räumliche wie auch belohnungsbezogene Informationen im Arbeitsgedächtnis verarbeiten (Watanabe, 1996). DA kontrolliert diese Funktion des PFC während der Adaptation des zielgerichteten Verhaltens (van der Meulen et al., 2003). Die Aktivität von DA in der Form des Erhöehens neuraler Feuerraten oder verstärkter Freisetzung als Neurotransmitter ist mit zahlreichen weiteren Prozessen verbunden. Dazu gehören u.a. Bewegung, hedonistische Reaktionen auf Belohnungen, Bereitstellung eines Signals zur Fehlerfindung beim Erlernen neuer Informationen, Antwort auf neue Stimuli, Bereitstellung eines verstärkenden Signals bei der Aneignung neuer Aktivitätsmuster und Motivationsanreize (Phillips et al., 2008).

Die neuromodulatorische Wirkung von DA im PFC ist nicht zu unterschätzen. Seamans und Yang (2004) schlugen eine Theorie vor, derzufolge DA in den Netzwerken des PFC das Ausmaß der Informationsspeicherung im Arbeitsgedächtnis beeinflusst. Eine erhöhte DA-Freisetzung im PFC begleitet die Ausführung einer Arbeitsgedächtnisaufgabe mit einer geringen Verzögerung (5 s) bei Primaten (Watanabe et al., 1997). Auch bei Ratten begleitet die Erhöhung der DA-Freisetzung die Exaktheit der Ausführung einer solchen Aufgabe, jedoch mit einer langen Verzögerung von 30 bis 60 min (Phillips et al., 2004). Die Posttraining-Verabreichung von DA-Rezeptor-Agonisten verbessert das Lernen in einer aufgaben- und regionsselektiven Weise (Packard und White, 1991; White et al., 1993). Weiterhin berichten Phillips et al. (2004) von einer signifikant negativen Korrelation zwischen der DA-Konzentration im PFC und der Anzahl der Arbeitsgedächtnisfehler.

Die Auswirkungen von DA im PFC sind häufig subtil und nicht leicht als solche zu erkennen (Seamans und Yang, 2004). Im Striatum können DA-Transporter an der Wiederaufnahme von NA beteiligt sein, da diese u.a. in sehr viel größerer Dichte (>30fach) als die NA-Transporter vorkommen (Gobert et al., 2004). Ein Teil des im mPFC freigesetzten DA wird tatsächlich von noradrenergen Terminals wiederaufgenommen (Carboni et al., 1990). Dies ist eine mögliche Erklärung für die beobachtete Wechselbeziehung. Eine direkte Wechselwirkung der noradrenergen und dopaminergen Neuronen hätte

bedeutende pharmakologische Auswirkungen, da dann psychotrope Substanzen, die die kortikale Freisetzung von NA beeinflussen, auch die des DA modulieren würden.

Im PFC sind sowohl DA D1- als auch D2-Rezeptoren nachgewiesen worden (Vincent et al., 1993). Doch sind bisher hauptsächlich D1-abhängige Wechselbeziehungen zwischen PFC und HC beschrieben worden (Seamans et al., 1998). Wie die LTP-Induktion ist auch die synaptische Plastizität bei hippocampalen Afferenzen in den PFC selektiv abhängig von der Aktivierung der präfrontalen D1-Rezeptoren (Gurden et al., 2000). Die Funktion der D2-Rezeptoren ist noch relativ unklar. Jedoch wiesen Matsuda et al. (2006) nach, dass eine Stimulation der superfiszialen Schichten, in denen kortikale Afferenzen lokalisiert sind, die innerhalb des PFC eine lang anhaltende Veränderung der synaptischen Plastizität auslösen, die Aktivierung von D1- und D2-Rezeptoren erfordern. Wirkner et al. (2004) konnten hingegen zeigen, dass DA D1-Rezeptoren die exzitatorischen Einflüsse des Glutamat in der Schicht V der Pyramidenzellen des PFC auf die NMDA-Rezeptoren erhöhen und damit die Zeit der geöffneten NMDA-Kanäle verlängern und so die Stärke des Kalziumsignals vergrößern können. Dagegen konnten sie die Beteiligung von DA D2- sowie von NA-Rezeptoren ausschließen.

Diese Ergebnisse lassen die Vermutung zu, dass in Abhängigkeit von der Art der induzierten oder veränderten synaptischen Plastizität unterschiedliche zelluläre Mechanismen einbezogen werden. Die beiden DA-Rezeptortypen D1 und D2 sind dabei möglicherweise unabhängig voneinander aber auch in gemeinsamer Kooperation an verschiedenen Vorgängen beteiligt. Dieses Modell der funktionellen Trennung unterstützt auch die Arbeit von Wang et al. (2004). Die Autoren berichten in ihrem Artikel davon, dass D1- und D2-Rezeptor-Antagonisten unterschiedliche Aspekte der neuronalen Aktivität des PFC während ablaufender Arbeitsgedächtnisprozesse beeinflussen. In Übereinstimmung mit diesen Resultaten befinden sich auch die Ergebnisse von Goto und Grace (2008). Diese Autoren fanden heraus, dass die Aktivierung von DA D1-Rezeptoren die kurzzeitige Potentiation hippocampaler Efferenzen moduliert. Dabei ist keine Aktivierung von D2-Rezeptoren notwendig. Hingegen notwendig sind aktivierte D2-Rezeptoren für die Modulation der kurzzeitigen Potentiation innerhalb des präfrontalen Netzwerkes.

DA erzielt somit seine Erfolge im PFC in mindestens zwei Schritten. Erstens selektieren die D1-Rezeptoren die Informationen des HC, die in das PFC-Netzwerk integriert werden sollen. Zweitens werden diese Informationen innerhalb des PFC von den D2-Rezeptoren weiterverarbeitet (Goto und Grace, 2008). Basierend auf diesen Ergebnissen, kann eine erhöhte DA-Freisetzung, die D1- und D2-Rezeptoren stimulieren kann, erforderlich sein, um zukünftige Strategien zu planen. Die Aktivierung der D1-Rezeptoren kann den Gebrauch des episodischen Gedächtnisses durch eine verbesserte Rückkopplung des PFC zum HC erleichtern. Hingegen kann eine D2-Rezeptor-Aktivierung das Umschalten von der Nutzung des HC-basierenden, episodischen Gedächtnisses auf die PFC-basierenden Planung zukünftiger Strategien durch Unterdrückung der Aktivität des HC ermöglichen (Goto und Grace, 2008). Geht man weiterhin

von der beschriebenen Kopplung der DA- und NA-Freisetzung im mPFC aus, so ergibt sich bei einer Blockade der NA-Rezeptoren durch Propranolol (wie in einem Teil der in der vorliegenden Untersuchung beschriebenen Versuche) ein erhöhter relativer Anteil von aktivierten DA-Rezeptoren im PFC.

Zusätzlich wird die Betrachtung der Rolle von DA im PFC durch die Abhängigkeit von einer Vielzahl von Faktoren erschwert. Einige der Schlüsselfaktoren der kritischen Rolle des DA im PFC sind die klar glockenförmigen dosisabhängigen Profile postsynaptischer DA-Effekte, das verlängerte Andauern verschiedener Effekte aber auch die bidirektionalen Resultate, die das Ergebnis der Aktivierung von DA D1- und D2-Rezeptoren sind (Seamans und Yang, 2004).

Defizite im flexiblen Gebrauch des episodischen Gedächtnisses (Kurzzeitgedächtnis) und der Planung zukünftiger Strategien können somit eine direkte Konsequenz der Beeinträchtigung der limbischen und PFC-Interaktionen und deren Modulierung durch DA sein (Goto und Grace, 2008).

Außerdem spielen DA D1-Rezeptoren eine wichtige Rolle in wenigstens 2 weiteren Aspekten der Funktionsweise des Arbeitsgedächtnisses im PFC:

1. Zum einen die Möglichkeit, Informationen aus einem räumlichen Gedächtnis-Puffer über einen hippocampalen-PFC-Schaltkreis abzurufen und die Integration des räumlichen Gedächtnisses in eine zukünftige Antwortstrategie.

Das Abrufen der Informationen aus dem räumlichen Gedächtnis-Puffer in der HC-Formation kann top-down-Rückkopplungen vom PFC zum temporalen Cortex beinhalten (Semans et al., 1998). Für das Gedächtnis des visuellen Erkennens wurde eine solche Regulierung ebenfalls vorgeschlagen und untersucht (Desimone et al., 1994; Miller et al., 1996). Jedoch sollte der Vorgang für das räumliche Gedächtnis größere Zeitintervalle umfassen. So ergibt sich ein neurales Modell, dass das ausführende System des räumlichen Gedächtnis, den PFC, von dem des Gedächtnis-Puffers (Lobus temporalis) räumlich trennt und diese über die Modulation der Informationen durch DA mittels der D1-Rezeptoren miteinander kommunizieren lässt (Semans et al., 1998).

2. Zum anderen die Möglichkeit, Informationen für einen kurzen Zeitraum in einem aktiven, abrufbereiten Zustand zu erhalten. Dies konnte bereits für optische Informationen gezeigt werden (Sawaguchi und Goldman-Rakic, 1994; Williams und Goldman-Rakic, 1995).

Da die Applikation von Propranolol in den PFC interessanterweise gerade diese Möglichkeit, Informationen kurzzeitig in einem aktiven, abrufbereiten Zustand zu erhalten, massiv zu stören scheint, kann man an dieser Stelle über eine engere Verflechtung des noradrenergen mit dem dopaminergen Neurotransmittersystem spekulieren. Wird durch das applizierte Propranolol die NA-Konzentration künstlich reduziert, so kommt es wie unter Kapitel 5.3 näher beschrieben zu einer deutlichen Störung des Arbeitsgedächtnisses bzw. des Abrufens desselben. Die Applikation von Propranolol lässt im Vergleich mit den unbehandelten Tieren (Abbildung 4.4-A auf Seite 59) auch die DA-Konzentration nicht unbeeinflusst (Abbildung 4.8-A auf Seite 65). In ähnlicher Weise wirkt

sich die Gabe von SCH 23390 auf die präfrontalen NA-Konzentration aus (Abbildung 4.6-B auf Seite 62). Das sind weitere Hinweise auf eine Interaktion zwischen dem noradrenergen und dem dopaminergen Neurotransmittersystem. Bei einem räumlichen Arbeitsgedächtnistest von Fiorillo et al. (2003) erlernen die Tiere zuerst die Lokalisierungsregeln der Belohnung. Danach wird beim eigentlichen Versuch die richtige Auswahl getestet. Dabei ergeben sich für die Tiere aufgrund ihrer Vorerfahrung eine Erwartung an den Ausgang des Versuches. Die DA-Neuronenfeurrate erhöht sich im Verhältnis des vermuteten Zeitpunktes der Belohnung zur Ungewissheit des Ausganges (Fiorillo et al., 2003). Daher scheinen die Bedingungen der maximalen Aktivierung der DA-Neuronen als Antwort auf die Belohnungserwartung ununterscheidbar von den Bedingungen der Gedächtnisaufgabe zu sein.

Dagegen fanden Fallon et al. (2007) bei Untersuchungen bezüglich der Veränderungen der Konzentrationen von Neurotransmittern durch Futterbelohnungen, dass sich die extrazellulären Konzentrationen von DA im HC und im PFC verringerten. Weder das Futter an sich noch die erfüllte Belohnungserwartung erhöhen demzufolge die DA-Konzentrationen im HC und im PFC.

Die Blockierung der DA D1-Rezeptoren im PFC mit SCH 23390 beeinträchtigt das räumliche Arbeitsgedächtnis (Seamans et al., 1995a), dagegen beeinträchtigt die exzessive Stimulation der DA D1-Rezeptoren die Arbeitsgedächtnisleistung im PFC (Zahrt et al., 1997).

Bei Rossetti und Carboni (2005) unterscheidet sich bei Untersuchungen im PFC im Gegensatz zum NA die Erhöhung der DA-Ausschüttung nicht bei auf eine Gedächtnisleistung trainierten und nicht trainierten Tieren. Die DA-Konzentration erhöht sich im Gegensatz zum NA in der antizipatorischen Phase des Tests. Die DA-Konzentration während des Versuches unterschied sich in beiden Gruppen im Gegensatz zum NA während des Versuches nicht signifikant von der antizipatorischen Phase (Rossetti und Carboni, 2005). Diese Ergebnisse stimmen mit Untersuchungen überein, die zeigten, dass ein DA-Anstieg im PFC beim Fressen oder bei Stimuli erfolgt, die eine Belohnung vermuten lassen (Bassareo und Di Chiara, 1997; Ahn und Phillips, 1999; Phillips et al., 2004). Dies korreliert auch mit elektrophysiologischen Untersuchungen, die an Affen zeigten, dass DA-Neuronen in Erwartung einer Belohnung feuern (Schultz, 1998; Schultz und Dickinson, 2000). Die Konzentration des präfrontalen DA ist also u.a. nicht nur davon abhängig, ob das Tier eine Belohnung erwartet – also die Regel der Futterverteilung erkannt hat – sondern auch davon, wieviel Futterpellets bereits gefunden respektive gefressen worden sind. Da unter solchen Voraussetzungen das Arbeitsgedächtnis und damit die vermutete Kooperation des dopaminergen mit dem noradrenergen Systems – wenn überhaupt – nur eine untergeordnete Rolle spielt, kann die DA-Konzentration in diesem Fall direkt von den Vorerfahrungen und aufgrund dessen von den antizipatorischen Fähigkeiten des Tieres abhängen bzw. kann die DA-Konzentration diese bedingen. Die Unterscheidung zwischen antizipatorischer Phase und erfolgter Belohnung konnte mit dem verwendeten Versuchsaufbau nicht getroffen werden.

PFC-Neuronen feuern in einer Rate, die durch den vermuteten Wert der Belohnung am Ende des Versuches bestimmt wird (Watanabe, 1996; Leon und Shadlen, 1999; Watanabe et al., 2002; Roesch und Olson, 2003). Diese vermutete Belohnungsgröße impliziert die Verarbeitung gespeicherter Informationen des Langzeitgedächtnisses. Dieser Prozess beteiligt den HC (Seamans et al., 1998) aber auch andere PFC-Verbindungen. Die Ausschüttung von DA in Erwartung einer Belohnung kann eine mit dem Versuch in Zusammenhang stehende neuronale Aktivität des PFC durch eine Modulierung seiner afferenten Verbindungen auslösen. Diese Interpretation impliziert eine indirekte Rolle des DA bei Arbeitsgedächtnisprozessen und kann erklären, warum die erhöhte Ausschüttung von PFC DA nach Arbeitsgedächtnisaufgaben mit einer längeren Verzögerung (bis zu 60 min) anhält (Phillips et al., 2004). Sie kann aber auch als Erklärung dafür dienen, warum die Konzentration des extrazellulären DA schwankt. Da bei einer langsamer gelösten Aufgabe die Belohnungserwartung andauert, sollte auch die Konzentration des DA länger erhöht sein als bei einer rasch und auch für das Tier vollständig gelösten Aufgabe, da keine Belohnung mehr zu erwarten ist und auch nicht erwartet wird.

Stefani und Moghaddam (2006) führten Versuchen durch, bei denen die Belohnung zum einen völlig zufällig erfolgte (Test 1), zum anderen nach unterbrochenen Regeln (Test 2) und zum dritten nach Regeln, die die Tiere erkennen, lernen und sich daran anpassen konnten (Test 3). Waren die Regeln für die erkennbar, erhöhte sich die Konzentration des DA im PFC in Korrelation mit der Schnelligkeit des Regellernens und der Anpassung. Ungewisse und unkontrollierbare Belohnung war assoziiert mit der inversen Beziehung zwischen der DA-Konzentration und der Wahrscheinlichkeit der Belohnung. Da der Anstieg der DA-Konzentration in den Tests 2 und 3 sehr ähnlich war, lässt dieses Resultat und auch die Ergebnisse anderer Arbeiten (Ragozzino et al., 1999; Birrell and Brown, 2000; Ragozzino, 2002; Floresco et al., 2006) vermuten, dass zum einen die DA-Rezeptoren im einzelnen zum anderen der mediale PFC als Ganzes ausreichend für die Aneignung der den Tests zugrunde liegenden Regeln sind. Für die Änderung und Verifizierung der Regeln kann der Einfluss des PFC auch auf andere, nachgeschaltete Hirnregionen unabdingbar sein.

Unter Nicht-Stress-Bedingungen ist das Abrufen einer erlernten Testlösung in erster Linie vom HC abhängig. Kommt durch die Gabe eines Fußschocks eine Stresssituation hinzu, erfordert das Abrufen der Lösung eines zweiten Tests einen unversehrten PFC sowie eine erhöhte Konzentration des extrazellulären Corticosterons im PFC. Allerdings beeinträchtigt eine künstliche Erhöhung des Corticosteronlevels im HC das hippocampusabhängige Abrufen der Lösung des ersten Tests (Chauveau et al., 2009). Eine erhöhte Konzentration von Corticosteron im PFC beeinträchtigt das Arbeitsgedächtnis (Coburn-Litvak et al., 2003; Mizoguchi et al., 2004; Cerqueira et al., 2005; Roozendaal et al., 2004).

Verstärkte und verringerte Stressantworten können völlig die Kognition und das Verhalten beeinflussen. Unkontrollierbarer Stress behindert das hippocampale Gedächtnis und die LTP. Da der HC wichtig für die Stabilität des Langzeitgedächtnisses ist und die LTP Qualitäten besitzt, die für einen Mechanismus zur Speicherung von Informationen wünschenswert wären, wurde die Hypothe-

se aufgestellt, dass stressinduzierte Änderungen der LTP an Beeinträchtigungen des Gedächtnisses beteiligt sind (Kim und Haller, 2007). Aber auch die Qualität des räumlichen Lernens wird von Stress deutlich beeinflusst (Kim et al., 2006). Auch aus diesem Grund wurde bei der Habituation darauf geachtet, dass alle Ratten den gleichen Vertrautheitsgrad mit der Versuchsanordnung und dem Experimentator erreichten. So wurden die möglicherweise stressinduzierten Veränderungen der Neurotransmitterkonzentrationen auf ein Minimum und bei allen Tieren auf ein (angenommenes) ähnliches Niveau reduziert. Dass die D1-Rezeptorstimulation alleine schon ausreichend ist, um eine Fehlfunktion des PFC auszulösen, schließt eine Beteiligung der D2-Rezeptoren nicht aus. Durch Stress (Murphy et al., 1997) oder Ketamin (Verma und Moghaddam, 1996) ausgelöste kognitive Defizite können durch selektive D2-Rezeptor-Antagonisten blockiert werden. Beide Rezeptorgruppen, D1 und D2, sind an den Aktionen des DA im PFC beteiligt und arbeiten zusammen, um den PFC während Stresssituationen vorübergehend zu beeinträchtigen. Das bedeutet, dass in Gefahrensituationen die aufwändigere Verarbeitung assoziativer Informationen zugunsten basalerer, dem unmittelbaren Überleben zuträglicherer neuronaler Kreise, wie dem Auslösen von Fluchtstrategien, beeinträchtigt wird.

Im Gegensatz zu den DA-Rezeptor-Antagonisten hat der β -adrenerge Rezeptor-Antagonist Propranolol (Murphy et al., 1996b), der 5-HT-Reuptake-Blocker Fluoxetin (Murphy et al., 1996a) keinen effektiven Einfluss auf die Umkehrung der Symptome des pharmakologischen Stress. Daher beeinflusst zumindest pharmakologischer Stress direkt eventuell nur das dopaminerge Neurotransmittersystem, während es das noradrenerge und serotonerge möglicherweise nur indirekt über die Interaktionen mit dem dopaminergen beeinflussen kann.

Eine gegenseitige Beeinflussung des dopaminergen und des serotonergen Systems zeigten bereits Benes et al. (2000). Dass es Interaktionen zwischen dem dopaminergen und dem noradrenergen System gibt, zeigt die vorliegende Untersuchung zumindest für den Fall eines arttypischen Suchverhaltens unter kontrollierten, vergleichbar einheitlichen Bedingungen.

Schlussfolgerungen 4: *Die extrazellulären DA-Konzentrationen im PFC und im HC verändern sich infolge eines räumlichen Lern- und Gedächtnistestes. Signifikante Erhöhungen traten vor allem bei Tieren auf, die auf ein konstantes Muster trainiert wurden. DA ist primär mit der Vermutung über die Belohnung verbunden.*

Folgeuntersuchungen 4: *Genauere Bestimmung der Rolle von DA bei der Antizipation der Belohnung. Untersuchung der stressbedingten DA-Konzentrationen und deren Interaktionen mit den anderen Neurotransmittersystemen.*

5.5 Serotonin und Lernen

Serotonerge Aktivität im HC hängt mit kognitiver Leistung zusammen (Stemmelin et al., 2000). Bei älteren Tieren mit Gedächtnisdefiziten wurde eine beeinträchtigte 5-HT-Übertragung beobachtet (Almaguer-Melian et al., 2005).

Bei der Untersuchung des Einflusses eines selektiven 5-HT-Wiederaufnahme-Inhibitors (Fluvoxamin) auf die synaptische Effizienz und die synaptische Plastizität des hippocampalen-mPFC-Pfades wurde die modulierende Wirkung des 5-HT auf die synaptische Plastizität der hippocampalen-mPFC-Synapsen nachgewiesen (Ohashi et al., 2002).

Bei weiteren Experimenten an Ratten mit Läsionen in 5-HT-Neuronen wurde der Einfluss des serotonergen Systems auf die synaptischen Eigenschaften des hippocampalen-mPFC-Kreises untersucht. Die läsionierten Ratten wiesen keine Änderungen in den basalen synaptischen Transmissionen des hippocampalen-mPFC-Pfades auf. Jedoch war die Größe der LTP in den läsionierten Tieren signifikant erhöht. Diese war ebenfalls signifikant mit der Konzentration des kortikalen 5-HT korreliert (Ohashi et al., 2003).

Die Ergebnisse der Untersuchung von Almaguer-Melian et al. (2005) über die modulierenden Rollen von NA und 5-HT auf die LTP lassen eine indirekte Beeinflussung über andere Hirnstrukturen als wahrscheinlich erscheinen. Auch der in jener Arbeit durchgeführte Verhaltenstest (Wasserdeprivation) und dessen Resultat (keine Änderung der NA- und 5-HT-Konzentrationen bei abschließender Wassergabe) lässt sich nicht mit den Verhaltenstests der vorliegenden Untersuchung vergleichen. In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Futterrestriktion bzw. -deprivation über einen längeren Zeitraum. Abschließend mussten die Tiere eine kognitive Aufgabe lösen, um an die Futterrationen zu gelangen.

Ratten, deren 5-HT-Terminale im PFC zerstört wurden, zeigten ein Verhalten, das nicht durch den affektiven Wert der Belohnung bestimmt war. Demzufolge ist das 5-HT im mPFC notwendig für einen affektiven Prozess im zielgerichteten Verhalten (van der Plasse et al., 2007).

Das serotonerge und das dopaminerge System beeinflussen sich gegenseitig im mPFC der Ratten. Dabei zeigen beide einen hohen Grad an Konvergenz und Plastizität (Benes et al., 2000). DA und 5-HT spielen eine Schlüsselrolle bei der Neuromodulation von synaptischen Übertragungen. Lernen und Gedächtnis werden sehr stark von der Aktivität der Neurotransmitter DA und 5-HT beeinflusst. In zahlreichen Fällen interagieren DA und 5-HT miteinander, um die psychobiologische Organisation kognitiver Prozessen zu unterstützen (Iyer und Bradberry, 1996; González-Burgos und Feria-Velasco, 2008; di Matteo et al., 2008). Obwohl die Änderungen der 5-HT-Konzentrationen in pharmakologisch unbehandelten Tieren der vorliegenden Untersuchung in erster Linie aktivitätsabhängig erschienen, zeigten sich doch diskrete Hinweise auf eine Beeinflussung des serotonergen Systems durch das dopaminerge (Abbildung 4.6-C auf Seite 62) sowie durch das noradrenerge (Abbildung 4.8-C auf Seite 65). Eindeutige Hinweise auf eine kognitive Abhängigkeit der 5-HT-Konzentrationen im PFC (Lernen und Gedächtnis) wurden jedoch nicht gefunden. Allerdings konnte

gezeigt werden, dass die Applikation von gemischten Monoamin-Wiederaufnahme-Inhibitoren (wie Venlafaxine für 5-HT und NA) die Erhöhung der extrazellulären Konzentrationen von NA und 5-HT sondern auch von DA im PFC wie auch im HC auslösen kann (Weikop et al., 2004 und 2007). Es ist bemerkenswert, dass durch die Applikation eines spezifischen oder unspezifischen Inhibitors Einfluss auf die Konzentrationen mehrerer Neurotransmitter genommen werden kann. Das sind weitere Hinweise auf das Zusammenspiel der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Neurotransmittersysteme.

Schlussfolgerungen 5: *Die extrazellulären 5-HT-Konzentrationen im PFC und im HC verändern sich infolge eines räumlichen Lern- und Gedächtnistestes. Signifikante Änderungen traten bei beiden Gruppen auf. 5-HT interagiert als Neurotransmitter mit DA und NA.*

Folgeuntersuchungen 5: *Untersuchungen der Wechselwirkungen der verschiedenen Neurotransmittersysteme in den einzelnen Hirnarealen bei Lern- und Gedächtnistests.*

5.6 Verhaltenscharakteristika

Betrachtet man die einzelnen Ausprägungen des Verhaltens der Versuchstiere im Holeboard, so bemerkt man deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen der auf ein konstantes Verteilungsmuster der Pellets trainierten Tiere und der pseudotrainierten, ein zufälliges Verteilungsmuster suchenden Tiere. Die das konstante Muster suchenden Ratten verfolgten bereits nach wenigen Versuchsdurchgängen eine offensichtlich andere Strategie als die das zufällige Verteilungsmuster suchenden Tiere. Die Ausprägungen der einzelnen Verhaltensmerkmale ähneln und bestätigen die in vorangegangenen Arbeiten ermittelten Daten (Uzakov et al., 2005; Korz und Frey 2007; Makhracheva-Stepochkina et al., 2008). Es traten aber auch Unterschiede zwischen den Ratten mit einer Mikrodialysesonde im HC und denen mit einer Sonde im PFC auf. Die Applikation von Propranolol bzw. SCH 23390 in den PFC verursachte klare Änderungen im Verhalten der Versuchstiere.

5.6.1 Latenz und Suchgeschwindigkeit

Bereits in der Darstellung der *Latenzen* in Abbildung 4.11 auf Seite 69 werden die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen deutlich. Ratten, denen eine Mikrodialysesonde in den PFC implantiert wurde, verbesserten ihre Latenzzeiten im Laufe eines Versuchstages stetig. Bei der Gruppe dieser Ratten, die ein zufälliges Muster suchten, stagnierten jedoch die Latenzzeiten ab etwa dem 6. Trial. Diesen Ratten gelang es nicht, ihre Suchstrategie im Sinne einer weiteren Verringerung der Suchzeit zu verbessern. Sie hatten die für die gegebenen Bedingungen optimale Suchstrategie und die bestmögliche Latenzzeit erreicht. Dagegen hatte die andere Gruppe bei ihrer Suche nach den konstant verteilten Pellets, das Optimum gegen Ende der Versuchsreihe wohl

noch nicht erreicht, da ein Vergleich zwischen den Werten des 6. und 10. Trials für einen theoretischen, nach dem 10. Trial liegenden Lauf eine weitere Verringerung der Latenzzeit als wahrscheinlich erscheinen lässt. Wenn man voraussetzt, dass die hungrigen Tiere so schnell wie möglich an die verborgene Nahrung gelangen wollen, wovon man ausgehen kann.

Die Applikation von SCH 23390 in den PFC erhöhte die Latenzzeiten beider Gruppen. Propranolol hatte keinen direkten Einfluss auf die Latenzzeit.

Bei einer im HC implantierten Mikrodialysesonde war der Verlauf der Latenzzeiten beider Gruppen sehr ähnlich denen der unbehandelten Tiere mit Sonde im PFC. Jedoch fällt auf, dass die Werte der HC-Tiere immer etwas größer sind als die der PFC-Tiere. Das könnte ein Hinweis darauf sein, dass die Implantation der Mikrodialysesonde im HC doch größere Schäden anrichtet als im PFC. Da sich jedoch die Latenzen gleichförmig verändern, ist wahrscheinlich eher die Effektivität als die Art und Weise der Informationsverarbeitung durch die Implantation beeinträchtigt.

Der Anteil der während der einzelnen Trials *inspizierten Löcher* an der Zahl aller Löcher ist in Abbildung 4.15 auf Seite 78 für die verschiedenen Gruppen dargestellt. Die Anzahl der kontrollierten Löcher nahm bei den unbehandelten PFC-Tieren einen ähnlichen Verlauf wie deren Latenz. Sie verringerte sich stetig und stieg nur zu Beginn des folgenden Versuchstages noch einmal leicht an. Auch die Unterschiede zwischen der trainierten und der pseudotrainierten Gruppe glichen denen der Latenz. Während die trainierten Tiere auch nach dem 9. Trial noch nicht ihre optimale Anzahl erreichten, dies aber aufgrund der Tendenz des Zeitverlaufs möglich erschien, stagnierte die Anzahl bei den pseudotrainierten Tieren bereits ab dem 7. Trial. Hier sind die theoretischen Hintergründe offensichtlich. Zum einen können die trainierten Tiere bei einer fortgeführten Versuchsreihe irgendwann die 5 Pellets in direkter Linie suchen und finden. Andererseits wird dies den pseudotrainierten Tieren nur zufällig und daher nicht in der gleichen Regelmäßigkeit möglich sein. Eventuell ist der Anteil von etwa 45 % (oder 16 verschiedene Löcher) auch für die Ratten unter diesen Versuchsbedingungen schon das Optimum, um 5 auf 36 Löcher zufällig verteilte Pellets innerhalb von 4 min zu finden.

Die in Abbildung 4.12 auf Seite 71 dargestellten *Suchgeschwindigkeiten* der Ratten im Holeboard weisen ebenfalls interessante Differenzen in den einzelnen Gruppen auf. Bei allen Gruppen wurde ab dem 2. Versuchstag eine größere Suchgeschwindigkeit verzeichnet. Die Gruppe der unbehandelten PFC-Tiere unterschied sich nur unwesentlich von der mit SCH 23390 behandelten. Die Suchgeschwindigkeit der HC-Tiere war auffallend größer. Noch deutlicher ist die Erhöhung der Suchgeschwindigkeit bei den mit Propranolol behandelten PFC-Tieren. Die Propranolol-Gruppen wiesen gegenüber den unbehandelten Tieren keine Differenzen in den Latenzzeiten auf. Daher muss sich die während der einzelnen Trials zurückgelegte Wegstrecke vergrößert haben.

Eine Erklärung hierfür könnte folgende Überlegungen bieten. Die Tiere beider Gruppen (mit und ohne Propranolol) versuchten, die angelernte Suchstrategie abzuarbeiten. Dabei machten die unbehandelten Tiere offensichtlich weniger Fehler als die Tiere, denen Propranolol injiziert wurde, da die Latenz annähernd

gleich blieb. Die mit Propranolol behandelten Tiere liefen also schneller zwischen den Löchern umher, ohne dabei jedoch dementsprechend schneller alle Pellets zu entdecken. Den beiden mit Propranolol behandelten Gruppen gelang es nicht, ihre angelernte Suchstrategie erfolgreich abzuarbeiten, da sie häufiger bereits geleerte Löcher erneut kontrollierten (s.a. Kapitel 5.6.3). Da sie jedoch aufgrund der fehlenden Belohnung bemerken (mussten), dass sie einen oder mehrere Fehler machten, versuchten sie diese Fehlleistung möglicherweise durch eine Erhöhung der Suchgeschwindigkeit auszugleichen.

Unterstützend für diese Theorie waren auch die differierenden Erhöhungen der Geschwindigkeit für die beiden mit Propranolol behandelten Einzelgruppen. Die ein konstantes Muster suchenden Tieren zeigten eine höhere Suchgeschwindigkeit als die ein zufälliges Muster suchenden Ratten. Möglicherweise ist die Ursache hierfür, dass die auf ein konstantes Muster trainierten Tiere nicht nur eher den/die gemachten Fehler bemerken, sondern vor allem die Beschränktheit der Belohnung auf eben diese wiederholt kontrollierten Löcher wegen des erlernten Musters (er)kennen. Die hochgradige Erregung, die die Tiere dem Anschein nach im Zuge dieser Fehler befällt, lässt die Geschwindigkeit des Suchens in einem Maße ansteigen, dass trotz der Fehler und der Mehrzahl an kontrollierten Löchern die Latenzzeit sich nicht von den der unbehandelten Tiere unterscheidet.

Da die pseudotrainingierte Gruppe eine ungewissere Verteilung der Futterpellets vor sich hat, ist deren Erwartung an ein Futterpellet in einem bestimmten Loch möglicherweise nicht so groß wie bei der ein konstantes Muster suchenden Gruppe. Die Wahrscheinlichkeit in einem weiteren, noch nicht kontrollierten Loch eine Belohnung zu finden, ist für diese Gruppe deutlich größer als für die auf ein konstantes Muster trainierten Ratten. Und doch ist ihre Suchgeschwindigkeit erhöht. Das lässt die Schlussfolgerung zu, dass diese pseudotrainingierten Ratten ebenfalls bemerken, dass sie ein Loch zum wiederholten Mal kontrollieren. Wenn auch zu spät, um die Inspektion noch abzubrechen.

Schlussfolgerung 6: *Durch die größeren Zerstörungen der Mikrodialysesonde im HC wird dort mehr die Effektivität der Ausführung gedächtnisrelevanter Aufgaben als ihre Durchführung beeinträchtigt. Die erhöhte Suchgeschwindigkeit ist wegen der unterschiedlich großen Änderung in den beiden Gruppen eine indirekte Folge der Propranolol-Applikation in den PFC. Dieser Erhöhung muss eine kognitive Leistung vorangegangen sein, die die Informationen über das eventuell vorhandene Verteilungsmuster, die angewandte Suchstrategie, die bereits gefundenen Pellets, die Anzahl der noch vermuteten Belohnungen und möglicherweise auch der noch zur Verfügung stehenden Versuchszeit berücksichtigt.*

Folgeuntersuchungen 6: *Wie bei allen vorgestellten Versuchen könnte die Entwicklung und Verwendung einer Mikrodialysesonde mit kleinerer aber durchlässigerer (im Sinne von Molekülen pro Zeiteinheit), semipermeabler Membran neue Erkenntnisse bringen. Auch die Anwendung der Voltammetrie als Kontrollmethode oder die Entwicklung einer neuen Methode, die in ihrer zeitlichen wie räumlichen Auflösung zwischen der Mikrodialyse und der Voltammetrie liegt, wäre als weiterführende Untersuchung zu bedenken.*

5.6.2 Referenzgedächtnis

Die Anzahl der Referenzgedächtnisfehler, also die Zahl der durch die Tiere inspizierten, ursprünglich unbeköderten Löcher (s.a. Seite 79), ist in Abbildung 4.16 auf Seite 80 dargestellt. Auch bei dieser Verhaltensausrprägung zeigte sich bei den unbehandelten PFC-Tieren eine klare, systematische Tendenz. Die Fehlerzahl der pseudotrainierten Gruppe lag nahezu immer über der ein konstantes Muster suchenden Gruppe. Bei der pseudotrainierten Gruppe war offensichtlich die minimale Fehlerzahl ab dem 6. Trial bereits erreicht. Eine weitere Verringerung der Referenzgedächtnisfehler und damit eine weitere Optimierung der Suchstrategie ist nicht möglich, da dies bedeuten würde, die Zufallsverteilung der Futterpellets zufällig immer rascher und richtiger zu erkennen. Dagegen können die ein konstantes Muster suchenden Tiere ihre Strategie noch immer weiter verbessern. Hier ist nach einer unbestimmten Reihe von Versuchen ein theoretischer Wert von Null durchaus möglich, da das bedeutet, dass alle Versuchstiere in einem bestimmten Trial das Muster so gut erlernt haben, dass sie es fehlerlos abarbeiten.

Im Gegensatz zur Applikation von SCH 23390 in den PFC hatte die Gabe von Propranolol einen offensichtlichen Effekt auf die Zahl der Referenzgedächtnisfehler. Besonders bemerkenswert ist, dass die Zahl der Fehler der pseudotrainierten Gruppe nur selten größer als die der auf ein konstantes Muster trainierten Gruppe war. Oft lagen deren Anzahlen sogar unter den entsprechenden Werten der trainierten Gruppe. Da es sich hierbei um die Zahl der kontrollierten, jedoch ursprünglich unbeköderten Löcher handelte und die pseudotrainierte Gruppe in jedem Trial ein neues Muster suchen musste, der Anteil der durch diese Gruppe besuchten Löcher trotzdem recht hoch war und im Zusammenhang mit der hohen Zahl an Arbeitsgedächtnisfehlern, bedeutet dies, dass diese Tiere deutlich mehr Löcher wiederholt aufsuchten, in denen sie ein Futterpellet fanden als unbeköderte Löcher. Das könnte ein Hinweis darauf sein, dass die Applikation von Propranolol in den PFC auch die Belohnungserwartung verändern könnte. Trotz des bis dahin Gelernten, dass es pro Loch nur ein Futterpellet gibt, scheinen die Tiere eine wiederholte Belohnung im gleichen Loch zu vermuten. Oder der Einfluss des Propranolols ist so stark, dass die Ratten nahezu unmittelbar wieder vergessen, welches Loch sie eben inspizierten.

Die Tiere, deren Mikrodialysesonde im HC implantiert wurde, zeigten wie die unbehandelten PFC-Tiere Tendenzen zu einer allmählichen, aber stetigen Verringerung der Referenzgedächtnisfehleranzahl. Jedoch ist hier die Anzahl der Fehler bei der ein zufälliges Muster suchenden Gruppe in den ersten 6 Trials immer geringer als in der trainierten Gruppe. Im Sinne der in diesen beiden Gruppen offensichtlichen, abweichenden Verarbeitung der zur Verfügung stehenden Informationen – wie u.a. Verteilung der Pellets, Suchstrategie, bereits gefundene Pellets, noch zu erwartende Pellets – kann als Ursache hierfür der qualitative und quantitative Grad der Zerstörung bedeutender Strukturen durch die Implantation der Sonde angeführt werden. Die Beschädigungen dieser relevanten Strukturen im HC führen dazu, dass Ratten, die auf ein konstantes Muster trainiert sind, häufiger ein ursprünglich unbeködertes Loch aufsuchen

als Ratten der pseudotrainingierten Gruppe. Die umgekehrte Lösung, dass Zerstörungen durch die Mikrodialyse-sonde im PFC eine Erhöhung der Fehlerzahl in der pseudotrainingierten Gruppe verursachen, ist bereits aufgrund der durch das Lernen des konstanten Musters durch die andere Gruppe geringeren Wahrscheinlichkeit, mit der die pseudotrainingierte Gruppe auf ein beködertes Loch stößt, wenig überzeugend.

Schlussfolgerungen 7: *Vermutlich führt die Implantation der Mikrodialyse-sonde im HC zu Zerstörungen relevanter Strukturen, die eine Verschlechterung des Referenzgedächtnisses zur Folge haben. Im PFC könnte das Referenzgedächtnis mit der Belohnungserwartung in engerem Zusammenhang stehen.*

Folgeuntersuchungen 7: *Applikation von Antagonisten in den HC zur Bestimmung der Relevanz der Zerstörungen durch die Mikrodialyse-sonde. Welche Bedeutung hat das Referenzgedächtnis für die Ratte? Kann die Belohnungserwartung genauer untersucht werden? Welchen Einfluss haben verschiedene Konzentrationen von Neurotransmittern darauf? Kann die hungrige, an den Versuch adaptierte Ratte durch Applikation bestimmter Substanzen von der Futtersuche abgehalten werden?*

5.6.3 Arbeitsgedächtnis

Die Anzahl der Arbeitsgedächtnisfehler, also die Anzahl der durch die Tiere kontrollierten, ursprünglich beköderten, aber bereits geleerten Löcher (s.a. Seite 82), ist in Abbildung 4.18 auf Seite 84 dargestellt. Die in Diagramm B dieser Abbildung wiedergegebenen Ergebnisse für die Zahl der Arbeitsgedächtnisfehler nach der Applikation von SCH 23390 in den PFC weist große Schwankungen und damit keine klaren Trends auf. Dies dürfte der geringeren Versuchstierzahl geschuldet sein. Lediglich die Tendenz ist bemerkenswert, dass in 7 von 10 Trials die Arbeitsgedächtnisfehlerzahl bei der pseudotrainingierten Gruppe geringer als bei den auf ein konstantes Muster trainierten Ratten ist. Zudem sind in den 3 anderen Fällen die Fehlerzahlen der trainierten Gruppe außergewöhnlich gering. Diese Tendenz findet sich auch in den anderen Diagrammen wieder. Das Phänomen der höheren Arbeitsgedächtnisfehlerzahl bei den auf ein konstantes Muster trainierten Ratten könnte darin begründet liegen, dass diese Tiere die bereits geleerten Löcher aufsuchen, weil sie dort mit weiteren Futterpellets rechnen („Kommt hier noch was?“). Mit einer größeren Wahrscheinlichkeit kann vermutet werden, dass diese Tiere die Löcher auch zur Bestätigung und zur besseren Einprägung ihrer räumlichen Lage erneut aufsuchen („Genau hier gab es was!“). Damit könnten die Arbeitsgedächtnisfehler auch einen Indikator für das Wiederholungslernen darstellen. Die pseudotrainingierten Tiere müssen, um ähnlich erfolgreich zu sein wie die trainierten Tiere und alle 5 versteckten Pellets zu finden, eine andere Strategie wählen. Sie sollten nach einem, individuell sicher vorhandenem Suchmuster (differierende Weglängen, Sucherfolge und Latenzen) möglichst viele Löcher in der gegebenen Zeit nach den Belohnungen absuchen. Daher lohnt es sich für die pseudotrainingierten Tiere weniger, sich die Lage der einzelnen beköderten Löcher bis in den nächsten Trial hinein zu merken. Viel wichtiger ist für diese Gruppe, sich zu erinnern,

welche Löcher sie in diesem Trial schon kontrollierten, um Zeit und Energie zu sparen. Ein Hinweis auf die Richtigkeit dieser These können die Fehlerzahlen in den Diagrammen A (unbehandelte PFC-Tiere) und D (HC-Tiere) der Abbildung 4.18 geben. Dass die Unterschiede zwischen den Größen konstanter und zufälliger Verteilung nicht noch größer sind, könnte daran liegen, dass die pseudo-trainierten Tiere trotz der zufälligen Verteilung der Pellets versuchen, eine dahinter stehende Regel zu erkennen.

Bei den unbehandelten PFC-Tieren zeigte sich in den ersten 6 Trials, also über den 1. Versuchstag hinaus, eine allmähliche Abnahme der Fehlerzahlen in beiden Gruppen. Ab dem 2. Trial des 2. Tages, dem 7., kam es in beiden Gruppen zu einem Anstieg der Fehlerzahlen, die dann bis zum Ende der Versuche ungefähr auf diesem Niveau verblieben. Eine mögliche Erklärung für den, bis auf die durchweg geringeren absoluten Werte, sehr ähnlichen Verlauf bei den HC-Tieren könnte die allmähliche Manifestierung der jeweiligen Suchstrategie sein. Ausgehend von der Annahme, dass die mit den Experimentierbedingungen und eventuell vorhandenen -mechanismen unvertrauten Tiere beider Gruppen zu Beginn der Versuchsreihe nicht voraussetzen können, dass nicht doch in einem bereits geleerten Loch während des gleichen Trials ein weiteres Futterpellet auftaucht, lässt sich so die anfangs relativ hohe Fehlerzahl mit dem wiederholten Kontrollieren erklären. Allmählich erkennen die Tiere, dass pro beködertem Loch nur ein Pellet als Belohnung für dessen Entdeckung gegeben wird. Die Anzahl der wiederholt kontrollierten Löcher und damit die Zahl der Arbeitsgedächtnisfehler sinkt. Der Anstieg wie auch das Verbleiben auf den höheren Werten der Arbeitsgedächtnisfehlerzahl ab dem 7. Trial in allen Gruppen der HC- und der unbehandelten PFC-Tiere lässt sich momentan nur auf folgende Weise erklären. Wie bereits angedeutet, könnten sich die ein konstantes Muster suchenden Tiere durch das wiederholte Aufsuchen der bereits geleerten Löcher, deren Lage in den räumlichen Verhältnissen zu anderen Fundorten besser einprägen. Diese Strategie verfolgen diese Tiere auch weiterhin. Möglicherweise ist dieses Wiederholen immer noch wichtig für das Lernen, wenn die Ratten bereits den Eindruck hinterlassen, das Verteilungsmuster der Belohnungspellets und damit die effektive Suchstrategie erkannt und schon gelernt zu haben. Eine längere Versuchsreihe könnte hierfür nähere Erkenntnisse bringen. Bei den ein zufälliges Muster suchenden Tieren könnte die Lösung deutlich komplizierter sein. Nicht zuletzt die bei dieser Gruppe besonders gegen Ende der Versuchsreihe relativ gleichbleibende Latenz, aber auch die anderen hier vorgestellten Verhaltensausrägungen sprechen dafür, dass diese Ratten noch immer nach einem, der Verteilung der Pellets zugrunde liegenden Muster suchen (könnten). Denn die Tiere suchen überraschenderweise nicht mehr oder weniger systematisch alle Löcher ab. Sie vergewissern sich stattdessen der Lage der ursprünglich beköderten und nun geleerten Löcher fast ebenso intensiv wie die auf ein konstantes Pelletmuster trainierten Ratten. Hinweise auf die Richtigkeit dieser These geben beispielsweise auch die gegenüber den ersten Trials erhöhten Anzahlen der Arbeitsgedächtnisfehler bei den ein zufälliges Muster suchenden Tiere.

Da die Versuchsbedingungen identisch sind, kann der Unterschied in den absoluten Werten zwischen den unbehandelten PFC-Tieren und den HC-Tieren nur auf der Position der implantierten Sonde beruhen. Die Implantation der Führungskanüle im HC bzw. PFC zerstört verschiedene Hirnstrukturen, die für die einzelnen, hier näher untersuchten Verhaltensausrägungen eine unterschiedlich groÙe Rolle spielen können. Die HC-Tiere zeigten im direkten Vergleich mit den PFC-Tieren bei sehr ähnlicher Latenz, eine höhere Suchgeschwindigkeit, eine größere zurückgelegte Distanz, einen größeren prozentualen Anteil der Bewegung sowie eine etwas höhere Anzahl an Referenzgedächtnisfehlern. Interessanterweise ist die Anzahl der Arbeitsgedächtnisfehler der HC-Tiere im Vergleich mit den unbehandelten PFC-Tieren bei trainierten und pseudo-trainierten Ratten deutlich kleiner.

Eine Erklärung kann nur in der Lokalisation der Sonde liegen. Aufgrund der relativ geringen Datenmenge lässt sich theoretisch der unwahrscheinliche Fall nicht ausschließen, dass die gezeigte Verbesserung des Arbeitsgedächtnisses bei den HC-Tieren durch die in Folge der Implantation der Sonde auftretenden Zerstörungen im HC und das daraufhin erfolgte Nutzen anderer Verbindungen und Übertragungswege verursacht wird. Doch ist es nur schwer verständlich, warum im Gehirn im Laufe seiner, unter dem Einfluss der Evolution erfolgten, phylogenetischen und ontogenetischen Entwicklung diese Veränderungen nicht bereits vollzogen wurden.

Bei den PFC-Tieren muss also bei der Präparation im PFC eine für das effektive Arbeiten des Arbeitsgedächtnis notwendige Struktur bzw. Verbindung teilweise oder ganz zerstört worden sein. Dass diese Ausfallerscheinungen nicht total sind, lässt sich mit der Flexibilität des Gehirns erklären. Über die beeinträchtigte(n) Struktur(en) respektive Verbindung(en) lässt sich momentan nur spekulieren. Zum einen können es die zentralen Bereiche des PFC selbst sein, die für diesen Teilausfall verantwortlich sind. D.h., die effektive Verarbeitung der einkommenden Informationen kann beeinträchtigt sein. Der erhöhte Anzahl an Arbeitsgedächtnisfehlern könnte aber auch ein Hinweis darauf sein, dass der PFC als Struktur höherer kognitiver Vorgänge (Savage et al., 2001; Bor et al., 2003) die notwendigen Informationen nur verzögert, verfälscht oder gar nicht erhält. Als dritte Möglichkeit kann die Weitergabe der Ergebnisse der kognitiven Prozesse im PFC an weitere Hirnregionen gestört sein.

Besonders interessant sind auch die in Abbildung 4.18-C dargestellten Resultate der Applikation von Propranolol in den PFC. Der signifikante Anstieg der Zahl der Arbeitsgedächtnisfehler unter Einwirkung von Propranolol gewährt tiefe Einblicke in die Rolle des präfrontalen NA bei der Leistungsfähigkeit des Arbeitsgedächtnisses bzw. des Kurzzeitgedächtnisses. Denn der hier gezeigte Anstieg der Fehlerzahlen bedeutet in erster Linie ein Versagen des Kurzzeitgedächtnisses. Die Ratten können sich nicht mehr daran erinnern, das respektive die ursprünglich beköderten Löcher bereits gefunden und geleert zu haben. Dagegen ist der Teil des Gedächtnisses – wie Vergleiche mit anderen untersuchten Verhaltensmerkmalen zeigen – unbeeinträchtigt, der das Verteilungsmuster der Futterpellets kodiert. Auch sonst lieÙen sich keinerlei Ausfallerscheinungen, seien sie kognitiver oder physiologischer Art, feststellen. Die

Blockade des NA an dessen β_1 - und β_2 -Rezeptoren führt somit zu einem in seinem Ausmaß bemerkenswerten Ausfall des Kurzzeitgedächtnisses. Ob diese Afferenzen des PFC nun aus dem mesencephalitischen Locus coeruleus oder doch aus dem für das Gedächtnis unmittelbar relevanterem HC kommen, lässt sich hier und jetzt nicht beweisen. Doch möglicherweise hilft das Beispiel des Patienten H.M. (s. S. 9) für dieses Phänomen einer Erklärung zu finden. H.M. wurden beide Hippocampi zu großen Teilen entfernt. Danach konnte er sich keinerlei neue Erlebnisse mehr dauerhaft merken (Scoville und Milner, 1957). Wenn also der HC für das Lernen und Einprägen von Fakten und Fertigkeiten von entscheidender Bedeutung ist, könnten die durch die Applikation des Propranolols in den PFC ausgelösten Ergebnisse ein Hinweis darauf sein, dass dadurch zumindest die Kommunikation vom HC zum PFC massiv beeinträchtigt wird. NA würde somit einen bedeutenden Beitrag hierfür leisten.

Die hier gezeigten Anstiege der Fehleranzahlen beider Gruppen haben nichts mit der weiter oben erwähnten, möglichen Strategie zu tun, durch das wiederholte Aufsuchen der ursprünglich beköderten Löcher sich deren Position besser einprägen zu können. Auch dass beide Gruppen, die trainierten wie die pseudotrainierten Tiere, gleichermaßen vom Ausfall des Arbeitsgedächtnisses betroffen sind, gibt deutliche Hinweise darauf, dass kein Strategiewechsel hinter dem Anstieg der Fehleranzahlen liegen kann. Warum sollte die eine Gruppe (konstantes Muster) plötzlich ein gut funktionierendes System aufgeben, während die andere (zufälliges Muster) durch die gleichgeartete Änderung auch zu keiner besseren Strategie gelangt?

Der essentielle Beitrag des extrazellulären, präfrontalen NA bei der Funktion des intakten Arbeitsgedächtnisses wird durch das Ergebnis dieses Versuches deutlich.

Schlussfolgerungen 8: *Eine Art Wiederholungslernen erhöht zwar die Zahl der Arbeitsgedächtnisfehler und sichert aber den Lernerfolg ab. Dieses Lernen tritt bei allen Tieren unabhängig vom Lernziel auf.*

NA leistet wahrscheinlich einen bedeutenden Beitrag der hippocampalen-präfrontalen Kommunikation bezüglich des funktionsfähigen Arbeits- respektive Kurzzeitgedächtnisses.

Folgeuntersuchungen 8: *Welche neuronalen Bahnen wurden durch die Implantation der Mikrodialysesonde im PFC zerstört? Verläuft die NA-basierte Kommunikation direkt zwischen HC und PFC oder über Zwischenstationen? Wie kommunizieren die anderen Neurotransmittersysteme zwischen den einzelnen Hirnarealen?*

5.6.4 Korrelationen

Um die komplizierten Zusammenhänge der einander bedingenden Verhaltensausprägungen wenigstens ansatzweise und statistisch nachweisbar darstellen zu können, erfolgte die Auswertung (Abbildungen 4.20 bis 4.26) dieser Parameter mit Hilfe der Methode der Spearman-Korrelation. Diese kann lineare

Beziehungen zwischen zwei oder mehr Größen charakterisieren. Eine nachgewiesene Korrelation, und sei sie auch statistisch signifikant, kann keine Aussage darüber erbringen, ob eine Variable die andere kausal beeinflusst, ob beide von anderen Variablen kausal abhängen oder ob überhaupt ein kausaler Zusammenhang besteht.

Doch kann man Hinweise auf Beziehungen ablesen. Beispielhaft sollen einige Relationen erläutert werden.

1. Bei den ein konstantes Muster suchenden HC-Tieren (Abbildung 4.20) war eine erhöhte Suchgeschwindigkeit mit einem Anstieg der Zahl der Arbeitsgedächtnisfehler aber auch mit einem vergrößerten Anteil der Bewegung korreliert. Das könnte darauf hinweisen, dass die Tiere beginnen, das Holeboard hektischer abzusuchen, wenn sie die richtigen Löcher des erlernten Musters nicht rasch genug finden. Dabei kontrollierten sie auch bereits geleerte Löcher (Arbeitsgedächtnisfehler).
2. Bei einer Verbesserung der Latenzzeit und einer Verringerung der Zahl der Referenzgedächtnisfehler erhöhten sich die Konzentrationen von DA und NA im PFC (Abbildung 4.20-C). Das könnte ein Hinweis darauf sein, dass beide Neurotransmitter bei der kognitiven Leistung des Erkennens, Lernens und Abrufens des konstanten, räumlichen Verteilungsmusters der Futterpellets eine Rolle spielen. Unterstützt wird diese These dadurch, dass weitere Verhaltensmerkmale (Anzahl der besuchten Löcher, zurückgelegte Distanz) ebenfalls signifikante, negative Korrelationen zu DA und NA aufwiesen.
3. Während bei der ein konstantes Muster suchenden Gruppe (Abbildung 4.22) die signifikanten Korrelationen bei DA und 5-HT zahlreich auftraten, kamen sie bei den pseudotrainierten Tiere (Abbildung 4.23) nur spärlich vor. Das kann bedeuten, dass diese Korrelationen durch das Erlernen und Abrufen des konstanten Musters verursacht wurden.
4. In Abbildung 4.24 weisen die Kombinationen aus hippocampalen DA (HC-DA) und präfrontalen NA (PFC-NA) deutlich mehr signifikante Korrelationen auf als die umgekehrten Vergleiche. Das könnte darauf hinweisen, dass das PFC-DA die Konzentration des HC-DA beeinflusst.

Diese Beispiele sind Versuche, Aspekte und Möglichkeiten dieser Korrelationen anzudeuten. Lassen sich aus den Abbildungen 4.20 bis 4.26 auch keine Kausalitäten ableiten, so ergeben sich doch auf jeden Fall Hinweise auf mögliche Zusammenhänge, die zu weiteren Forschungsansätzen führen.

Schlussfolgerungen 9: *Die Korrelationen bleiben zum Teil spekulativ. Das kann am gewählten Signifikanzniveau liegen, aber auch an fehlenden kausalen Relationen. Signifikante wie auch fehlende Korrelationen bieten die Möglichkeit neuer Assoziationen, die zu neuen Forschungsansätzen führen können.*

Folgeuntersuchungen 9: *Kann man andere Verhaltensmerkmale als Charakteristika für eine kognitive Leistung beim räumlichen Lernen erkennen und verwenden? Wie können Zusammenhänge zwischen Verhaltensaussprägungen und Konzentrationsänderungen der Neurotransmitter direkter untersucht werden?*

6 Literaturverzeichnis

- Abe K. Modulation of hippocampal long-term potentiation by the amygdala: a synaptic mechanism linking emotion and memory. *Jpn J Pharmacol.* 2001;8:18-22.
- Abraham WC und Williams JM. Properties and mechanisms of LTP maintenance. *Neuroscientist.* 2003;9:463-74.
- Ahmed T, Frey JU und Korz V. Long-term effects of brief acute stress on cellular signaling and hippocampal LTP. *J Neurosci.* 2006;26:3951-8.
- Ahn S und Phillips AG. Dopaminergic correlates of sensory-specific satiety in the medial prefrontal cortex and the nucleus accumbens of the rat. *J Neurosci.* 1999;22:10958-65.
- Alle H, Jonas P und Geiger JR. PTP and LTP at a hippocampal mossy fiber-interneuron synapse. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:14708-13.
- Almaguer W, Capdevila V, Ramírez M, Vallejo A, Rosillo JC und Bergado JA. Post-training stimulation of the basolateral amygdala improves spatial learning in rats with lesion of the fimbria-fornix. *Restor Neurol Neurosci.* 2005;23:43-50.
- Almaguer-Melian W, Rojas-Reyes Y, Alvare A, Rosillo JC, Frey JU und Bergado JA. Long-term potentiation in the dentate gyrus in freely moving rats is reinforced by intraventricular application of norepinephrine, but not oxotremorine. *Neurobiol Learn Mem.* 2005;83:72-8.
- de Almeida RM, Ferrari PF, Parmigiani S und Miczek KA. Escalated aggressive behavior: dopamine, serotonin and GABA. *Eur J Pharmacol.* 2005;526:51-64.
- Amaral DG und Witter MP. Hippocampal formation. In G. Paxinos (Hrsg.): *The Rat. Nervous System.* San Diego, Acad. Press Inc., pp. 443-493.1995.
- Anderson JR. *Kognitive Psychologie.* Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg. 2007.
- Arnsten AF. Catecholamine regulation of the prefrontal cortex. *J Psychopharmacol.* 1997;11:151-162.
- Arnsten AF. Modulation of prefrontal cortical-striatal circuits: relevance to therapeutic treatments for Tourette syndrome and attention-deficit hyperactivity disorder. *Adv Neurol.* 2001;85:333-341.
- Arnsten AF und Goldman-Rakic P. Selective prefrontal cortical projections to the region of the locus coeruleus and raphe nucleus in the rhesus monkey. *Brain Res.* 1984;306:9-18.
- Arnsten AF und Goldman-Rakic PS. Noise stress impairs prefrontal cortical cognitive function in monkeys: evidence for a hyperdopaminergic mechanism. *Arch Gen Psychiatry.* 1998;55:362-8.
- Aston-Jones G, Rajkowski J und Cohen J. Locus coeruleus and regulation of behavioral flexibility and attention. *Prog Brain Res.* 2000;126:165-82.
- Aston-Jones G, Rajkowski J, Kubiak P und Alexinsky T. Locus coeruleus neurons in monkey are selectively activated by attended cues in a vigilance task. *J Neurophysiol.* 1994;14:4467-80.
- Bach ME, Barad M, Son H, Zhuo M, Lu YF, Shih R, Mansuy I, Hawkins RD und Kandel ER. Age-related defects in spatial memory are correlated with defects in the late phase of hippocampal long-term potentiation in vitro and are attenuated by drugs that enhance the cAMP signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96:5280-5.
- Baddeley A. Exploring the central executive. *Quart J Exp Psych.* 1996;49A:5-28.
- Baddeley A. Working memory: looking back and looking forward. *Nat Rev Neurosci.* 2003;4:829-39.

- Bailey CH, Giustetto M, Huang YY, Hawkins RD und Kandel ER. Is heterosynaptic modulation essential for stabilizing Hebbian plasticity and memory? *Nat Rev Neurosci.* 2000;1:11-20.
- Bannerman DM, Butcher SP, Good MA und Morris RG. Intracerebroventricular infusion of the NMDA receptor-associated glycine site antagonist 7-chlorokynurenate impairs water maze performance but fails to block hippocampal long-term potentiation in vivo. *Neurobiol Learn Mem.* 1997;68:252-70.
- Barbas H. Anatomic basis of cognitive-emotional interactions in the primate prefrontal cortex. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1995;19:499-510.
- Barnes CA, Jung MW, McNaughton BL, Korol DL, Andreasson K und Worley PF. LTP saturation and spatial learning disruption: effects of task variables and saturation levels. *J Neurosci.* 1994;14:5793-806.
- Barnes NM und Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology.* 1999;38:1083-152.
- Bassareo V und Di Chiara G. Differential influence of associative and nonassociative learning mechanisms on the responsiveness of prefrontal and accumbal dopamine transmission to food stimuli in rats fed ad libitum. *J Neurosci.* 1997;17:851-61.
- Bear MF, Connors BW und Paradiso MA. *Neurowissenschaften – Ein grundlegendes Lehrbuch für Biologie, Medizin und Psychologie.* Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg. 2008.
- Beck KD und Luine VN. Sex differences in behavioral and neurochemical profiles after chronic stress: role of housing conditions. *Physiol Behav.* 2002;75:661-73.
- Benes FM, Taylor JB und Cunningham MC. Convergence and plasticity of monoaminergic systems in the medial prefrontal cortex during the postnatal period: implications for the development of psychopathology. *Cereb Cortex.* 2000;10:1014-27.
- Bergado JA, Almaguer W, Ravelo J, Rosillo JC und Frey JU. Behavioral reinforcement of long-term potentiation is impaired in aged rats with cognitive deficiencies. *Neuroscience.* 2001;108:1-5.
- Berger TW. Long-term potentiation of hippocampal synaptic transmission affects rate of behavioral learning. *Science.* 1984;224:627-9.
- Berridge CW und Waterhouse BD. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Brain Res Rev.* 2003;42:33-84.
- Berti S. *Störbarkeit von Arbeitsgedächtnisprozessen als Funktion sensorischer Vorverarbeitung und zentraler Steuerprozesse.* Leipziger Univ.-Verl., Leipzig, 2002.
- Bilenkin D. *Lebenskraft.* in: *Der Intelligenztest.* Volk und Wissen, Berlin. 1979.
- Birrell JM und Brown VJ. Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat. *J Neurosci.* 2000;20:4320-4.
- Bland BH, Declerck S, Jackson J, Glasgow S, Oddie S. Septohippocampal properties of N-methyl-D-aspartate-induced theta-band oscillation and synchrony. *Synapse.* 2007;61:185-97.
- Bliss TV und Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature.* 1993;361:31-9.
- Bliss TV und Gardner-Medwin AR. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol.* 1973;232:357-74.
- Bliss TV und Lømo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol.* 1973;232:331-56.
- Bloodgood BL und Sabatini BL. Regulation of synaptic signalling by postsynaptic, non-glutamate receptor ion channels. *J Physiol.* 2008;586:1475-80.

- Bor D, Duncan J, Wiseman RJ und Owen AM. Encoding strategies dissociate prefrontal activity from working memory demand. *Neuron*. 2003;37:361-7.
- Braunewell KH und Manahan-Vaughan D. Long-term depression: a cellular basis for learning? *Rev Neurosci*. 2001;12:121-40.
- Briand LA, Gritton H, Howe WM, Young DA und Sarter M. Modulators in concert for cognition: modulator interactions in the prefrontal cortex. *Prog Neurobiol*. 2007;83:69-91.
- Bronzino JD, Kehoe P, Hendriks R, Vita L, Golas B, Vivona C, Morgane PJ. Hippocampal neurochemical and electrophysiological measures from freely moving rats. *Exp Neurol*. 1999;155:150-5.
- Bronzino JD, Kehoe P, Mallinson K, Fortin DA. Increased extracellular release of hippocampal NE is associated with tetanization of the medial perforant pathway in the freely moving adult male rat. *Hippocampus*. 2001;11:423-9.
- Brown RE. The life and work of Donald Olding Hebb. *Acta Neurol Taiwan*. 2006;15:127-42.
- Brown VJ und Bowman EM. Rodent models of prefrontal cortical function. *Trends Neurosci*. 2002;25:340-3.
- Brozoski TJ, Brown RM, Rosvold HE und Goldman PS. Cognitive deficit caused by regional depletion of dopamine in prefrontal cortex of rhesus monkey. *Science*. 1979;205:929-932.
- Bubser M und Schmidt WJ. 6-Hydroxydopamine lesion of the rat prefrontal cortex increases locomotor activity, impairs acquisition of delayed alternation tasks, but does not affect uninterrupted tasks in the radial maze. *Behav Brain Res*. 1990;37:157-168.
- Buckner RL. Memory and executive function in aging and AD: multiple factors that cause decline and reserve factors that compensate. *Neuron*. 2004;44:195-208.
- Burgess N. Spatial cognition and the brain. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1124:77-97.
- Burton BG, Hok V, Save E und Poucet B. Lesion of the ventral and intermediate hippocampus abolishes anticipatory activity in the medial prefrontal cortex of the rat. *Behav Brain Res*. 2009;199:222-34.
- Calamandrei G und Alleva E. Neuronal growth factors, neurotrophins and memory deficiency. *Behav Brain Res*. 1995;66:129-32.
- Carboni E, Tanda GL, Frau R und Di Chiara G. Blockade of the noradrenaline carrier increases extracellular dopamine concentrations in the prefrontal cortex: evidence that dopamine is taken up in vivo by noradrenergic terminals. *J Neurochem*. 1990;55:1067-70.
- Carpenter P, Just M, Reichle E. Working memory and executive function: evidence from neuroimaging. *Curr Op Neurobiol*. 2000;10:195-199.
- Carr DB und Sesack SR. Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. *J Neurosci*. 2000;20:3864-73.
- Carter DA und Fibiger HC. Ascending projections of presumed dopamine-containing neurons in the ventral tegmentum of the rat as demonstrated by horseradish peroxidase. *Neuroscience*. 1977;2:569-76.
- Cenci MA, Kalen P, Duan W-A und Björklund A. Regional differences in the regulation of dopamine and noradrenaline release in medial prefrontal cortex, nucleus accumbens and caudate-putamen: a microdialysis study in the rat. *Brain Res*. 1992;581:217-28.
- Cerqueira JJ, Pego JM, Taipa R, Bessa JM, Almeida OF und Sousa N. Morphological correlates of corticosteroid-induced changes in prefrontal cortex-dependent behaviors. *J Neurosci*. 2005;25:7792-800.
- Chardonnet S, Le Marechal P, Cheval H, Le Caer JP, Decottignies P, Laprevote O, Laroche S und Davis S. Large-scale study of phosphoproteins involved in long-term potentiation in the rat dentate gyrus in vivo. *Eur J Neurosci*. 2008;27:2985-98.

- Chastain JE Jr, Samson F, Nelson SR und Pazdernik TL. Kainic acid-induced seizures: changes in brain extracellular ions as assessed by intracranial microdialysis. *Life Sci.* 1989;45:811-7.
- Chauveau F, Piérard C, Tronche C, Coutan M, Drouet I, Liscia P und Béracochéa D. The hippocampus and prefrontal cortex are differentially involved in serial memory retrieval in non-stress and stress conditions. *Neurobiol Learn Mem.* 2009;91:447-55.
- Chen JP, Ruan D, Paredes W und Gardner EL. Effects of acute and chronic clozapine on dopaminergic function in medial prefrontal cortex of awake, freely moving rats. *Brain Res.* 1992;571:235-41.
- Ciaramelli E, Grady CL, Moscovitch M. Top-down and bottom-up attention to memory: a hypothesis (AtoM) on the role of the posterior parietal cortex in memory retrieval. *Neuropsychologia.* 2008;46:1828-51.
- Coburn-Litvak PS, Pothakos K, Tata DA, McCloskey DP und Anderson BJ. Chronic administration of corticosterone impairs spatial reference memory before spatial working memory in rats. *Neurobiol Learn Mem.* 2003;80:11-23.
- Cohen JD, Braver TS und O'Reilly RC. A computational approach to prefrontal cortex, cognitive control and schizophrenia: recent developments and current challenges. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1996;351:1515-27.
- Cowan N. An embedded-processes model of working memory. In: Miyake A und Shah P (Hrsg.) *Models of Working Memory: Mechanisms of Active Maintenance and Executive Control.* Cambridge University Press, Cambridge, UK. 1999;62-101.
- Colom LV, Castaneda MT, Reyna T, Hernandez S, Garrido-Sanabria E. Characterization of medial septal glutamatergic neurons and their projection to the hippocampus. *Synapse.* 2005;58:151-64.
- Crutcher KA und Davis JN. Hippocampal alpha- and beta-adrenergic receptors: comparison of [3H]dihydroalprenolol and [3H]WB 4101 binding with noradrenergic innervation in the rat. *Brain Res.* 1980;182:107-17.
- Dahl D und Winson J. Action of norepinephrine in the dentate gyrus. I. Stimulation of locus coeruleus. *Exp Brain Res.* 1985;59:491-6.
- Dalley JW und Stanford SC. Incremental changes in extracellular noradrenaline availability in the frontal cortex induced by naturalistic environmental stimuli: a microdialysis study in the freely moving rat. *J Neurochem.* 1995;65:2644-51.
- Dawkins R. *Der Gotteswahn.* Ullstein, Berlin. 2007.
- Deco G und Rolls ET. Attention and working memory: a dynamical model of neuronal activity in the prefrontal cortex. *Eur J Neurosci.* 2003;18:2374-90.
- Delini-Stula A, Mogilnicka E, Hunn C, Dooley DJ. Novelty-oriented behavior in the rat after selective damage of locus coeruleus projections by DSP-4, a new noradrenergic neurotoxin. *Pharmacol Biochem Behav.* 1984;20:613-8.
- Desimone R, Miller EK und Chelazzi L. The interaction of neural systems for attention and memory. In: *Large-scale theories of the brain.* Koch C und Davis JL (Hrsg.) 75-91. Cambridge, MA:MIT. 1994.
- Deupree DL, Turner DA und Watters CL. Spatial performance correlates with in vitro potentiation in young and aged Fischer 344 rats. *Brain Res.* 1991;554:1-9.
- Devauges V und Sara SJ. Memory retrieval enhancement by locus coeruleus stimulation: evidence for mediation by beta-receptors. *Behav Brain Res.* 1991;43:93-7.
- Dreher J-C, Meyer-Lindenberg A, Kohn P und Berman KF. Age-related changes in midbrain dopaminergic regulation of the human reward system. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105:15106-11.

- Drevets WC, Price JL, Furey ML. Brain structural and functional abnormalities in mood disorders: implications for neurocircuitry models of depression. *Brain Struct Funct.* 2008;213:93-118.
- Dudel J, Menzel R und Schmidt RF. *Neurowissenschaft: Vom Molekül zur Kognition.* Springer Verlag, Berlin. 2005.
- Dunah AW, Sirianni AC, Fienberg AA, Bastia E, Schwarzschild MA und Standaert DG. Dopamine D1-dependent trafficking of striatal N-methyl-D-aspartate glutamate receptors requires Fyn protein tyrosine kinase but not DARPP-32. *Mol Pharmacol.* 2004;65:121-9.
- Durstewitz D, Seamans JK und Sejnowski TJ. Dopamine-mediated stabilization of delay-period activity in a network model of prefrontal cortex. *J Neurophysiol.* 2000;83:1733-50.
- Ebbinghaus H. *Über das Gedächtnis: Untersuchungen zur experimentellen Psychologie.* 1885. Neue, unveränd. und ungek. Ausgabe nach der 1. Auflage 1885. Darmstadt, Wissenschaftliche Buchgesellschaft, 1992.
- Engle R, Kane M, Tuholski S. Individual differences in working memory capacity and what they tell us about controlled attention, general fluid intelligence, and function of the prefrontal cortex. In: Miyake A und Shah P (Hrsg.) *Models of Working Memory: Mechanisms of Active Maintenance and Executive Control.* Cambridge University Press, Cambridge, UK.1999;102-134.
- Ermisch, A. *Auf den Nerv geföhlt.* Urania-Verlag, Leipzig, 1978
- Everling S, Tinsley CJ, Gaffan D und Duncan J. Filtering of neural signals by focused attention in the monkey prefrontal cortex. *Nat Neurosci.* 2002;5:671-6.
- Fallon S, Shearman E, Sershen H und Lajtha A. Food reward-induced neurotransmitter changes in cognitive brain regions. *Neurochem Res.* 2007;32:1772-82.
- Feenstra MGP. Dopamine and noradrenaline release in the prefrontal cortex in relation to unconditioned and conditioned stress and reward. *Prog Brain Res.* 2000;126:133-63.
- Feenstra MGP, Botterblom MHA und Mastenbroek S. Dopamine and noradrenaline efflux in the prefrontal cortex in the light and dark period: Effects of novelty and handling and comparison to the Nucleus accumbens. *Neuroscience.* 2000;100:741-8.
- Feenstra MGP, Vogel M, Botterblom MHA, Joosten RNJMA und de Bruin JPC. Dopamine and noradrenaline efflux in the rat prefrontal cortex after classical aversive conditioning to an auditory cue. *Eur J Neurosci.* 2001;13:1051-4.
- Fiorillo CD, Tobler PN und Schultz W. Discrete coding of reward probability and uncertainty by dopamine neurons. *Science.* 2003;299:1898-902.
- Floresco SB und Phillips AG. Delay-dependent modulation of memory retrieval by infusions of a dopamine D1 agonist into the rat medial prefrontal cortex. *Behav Neurosci.* 2001;115:934-9.
- Floresco SB, Seamans JK und Phillips AG. Selective roles for hippocampal, prefrontal cortical and ventral striatal circuits in radial arm maze tasks with or without a delay. *J Neurosci* 1997;17:1880-90.
- Floresco SB, Magyar O, Ghods-Sharifi S, Vexelman C und Tse MTL. Multiple dopamine receptor subtypes in the medial prefrontal cortex of the rat regulate set-shifting. *Neuropsychopharmacology* 2006;31:297-309.
- Franck D. *Verhaltensbiologie.* Thieme Verlag, Stuttgart. 1997.
- Frederick AL und Stanwood GD. Drugs, biogenic amine targets and the developing brain. *Dev Neurosci.* 2009;31:7-22.
- Freund TF. GABAergic septal and serotonergic median raphe afferents preferentially innervate inhibitory interneurons in the hippocampus and dentate gyrus. *Epilepsy Res Suppl.* 1992;7:79-91.

- Freund TF, Gulyás AI, Acsády L, Görcs T, Tóth K. Serotonergic control of the hippocampus via local inhibitory interneurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990;87:8501-5.
- Frey S, Bergado-Rosado J, Seidenbecher T, Pape HC, Frey JU. Reinforcement of early long-term potentiation (early-LTP) in dentate gyrus by stimulation of the basolateral amygdala: heterosynaptic induction mechanisms of late-LTP. *J Neurosci*. 2001;21:3697-703.
- Frey S, Bergado JA, Frey JU. Modulation of late phases of long-term potentiation in rat dentate gyrus by stimulation of the medial septum. *Neuroscience*. 2003;118:1055-62.
- Frey S und Frey JU. 'Synaptic tagging' and 'cross-tagging' and related associative reinforcement processes of functional plasticity as the cellular basis for memory formation. *Prog Brain Res*. 2008;169:117-43.
- Frey U, Huang YY und Kandel ER. Effects of cAMP simulate a late stage of LTP in hippocampal CA1 neurons. *Science*. 1993;260:1661-4.
- Frey U, Krug M, Reymann KG, Matthies H. Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, blocks late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region in vitro. *Brain Res*. 1988;452:57-65.
- Frey U, Matthies H, Reymann KG, and Matthies H. The effect of dopaminergic D1 receptor blockade during tetanization on the expression of long-term potentiation in the rat CA1 region in vitro. *Neurosci. Lett*. 1991;129:111-114.
- Frey U und Morris RG. Synaptic tagging and long-term potentiation. *Nature*. 1997;385:533-6.
- Frey U und Morris RG. Weak before strong: dissociating synaptic tagging and plasticity-factor accounts of late-LTP. *Neuropharmacology*. 1998;37:545-52.
- Frith CD. Functional brain imaging and the neuropathology of schizophrenia. *Schizophr Bull*. 1997;23:525-527.
- Frotscher M und Léránth C. Cholinergic innervation of the rat hippocampus as revealed by choline acetyltransferase immunocytochemistry: a combined light and electron microscopic study. *J Comp Neurol*. 1985;239:237-46.
- Fukunaga K, Muller D und Miyamoto E. CaM kinase II in long-term potentiation. *Neurochem Int*. 1996;28:343-58.
- Fuster JM. Unit activity in prefrontal cortex during delay-response performance: neuronal correlates of transient memory. *J Neurophysiol*. 1973;36:61-78.
- Fuster JM. *The prefrontal cortex: anatomy, physiology, and neuropsychology of the frontal lobe*. 3rd ed. Lippincott-Raven. Philadelphia. 1997.
- Fuster JM. Executive frontal functions. *Exp Brain Res*. 2000;133:66-70.
- Gamaro GD, Manoli LP, Torres IL, Silveira R, Dalmaz C. Effects of chronic variate stress on feeding behavior and on monoamine levels in different rat brain structures. *Neurochem Int*. 2003;42:107-14.
- Gasbarri A, Packard MG, Campana E, Pacitti C. Anterograde and retrograde tracing of projections from the ventral tegmental area to the hippocampal formation in the rat. *Brain Res Bull*. 1994a;33:445-52.
- Gasbarri A, Sulli A, Innocenzi R, Pacitti C und Brioni JD. Spatial memory impairment induced by lesion of the mesohippocampal dopaminergic system in the rat. *Neuroscience*. 1996;74:1037-44.
- Gasbarri A, Verney C, Innocenzi R, Campana E, Pacitti C. Mesolimbic dopaminergic neurons innervating the hippocampal formation in the rat: a combined retrograde tracing and immunohistochemical study. *Brain Res*. 1994b;668:71-9.
- Gelinas JN und Nguyen PV. Beta-adrenergic receptor activation facilitates induction of a protein synthesis-dependent late phase of long-term potentiation. *J Neurosci*. 2005;25:3294-303.

- Gluck MA, Mercado E und Myers CE. Learning and Memory: From Brain to Behavior. Palgrave Macmillan, New York. 2008.
- Gobert A, Billiras R, Cistarelli L und Millan MJ. Quantification and pharmacological characterization of dialysate levels of noradrenaline in the striatum of freely-moving rats: release from adrenergic terminals and modulation by alpha2-autoreceptors. *J Neurosci Methods*. 2004;140:141-52.
- Goldman-Rakic PS. Cellular basis of working memory. *Neuron*. 1995;14:477-85.
- Goldstein RZ, Tomasi D, Alia-Klein N, Honorio Carrillo J, Maloney T, Woicik PA, Wang R, Telang F und Volkow ND. Dopaminergic response to drug words in cocaine addiction. *J Neurosci*. 2009;29:6001-6.
- González-Burgos I und Fera-Velasco A. Serotonin/dopamine interaction in memory formation. *Prog Brain Res*. 2008;172:603-23.
- Goto Y und Grace AA. Dopamine modulation of hippocampal-prefrontal cortical interaction drives memory-guided behavior. *Cereb Cortex*. 2008;18:1407-14.
- Grant SJ, Aston-Jones G und Redmond DEJ. Responses of primate locus coeruleus neurons to simple and complex sensory stimuli. *Brain Res Bull*. 1988;21:401-10.
- Groenewegen HJ, Wright CI und Uylings HBM. The anatomical relationships of the prefrontal cortex with limbic structures and the basal ganglia. *J Psychopharmacol*. 1997;11:99-106.
- Güntürkün O. Avian and mammalian "prefrontal cortices": limited degrees of freedom in the evolution of the neural mechanisms of goal-state maintenance. *Brain Res Bull*. 2005a;66:311-6.
- Güntürkün O. The avian 'prefrontal cortex' and cognition. *Curr Opin Neurobiol*. 2005b;15:686-93.
- Gurden H, Takita M und Jay TM. Essential role of D1 but not D2 receptors in the NMDA receptor-dependent long-term potentiation at hippocampal-prefrontal cortex synapses in vivo. *J Neurosci*. 2000;20:RC106.
- Gurden H, Tassin J-P und Jay TM. Integrity of the mesocortical dopaminergic system is necessary for complete expression of in vivo hippocampal-prefrontal cortex long-term potentiation. *Neuroscience*. 1999;94:1019-27.
- Hajós M, Hoffmann WE, Robinson DD, Yu JH, Hajós-Korcsok E. Norepinephrine but not serotonin reuptake inhibitors enhance theta and gamma activity of the septo-hippocampal system. *Neuropsychopharmacology*. 2003;28:857-64.
- Hampson RE, Hedberg T, Deadwyler SA. Differential information processing by hippocampal and subicular neurons. *Ann N Y Acad Sci*. 2000;911:151-65.
- Hara S, Mukai T, Kurosaki K, Kuriwa F und Endo T. Modification of the striatal dopaminergic neuron system by carbon monoxide exposure in free-moving rats, as determined by in vivo brain microdialysis. *Arch Toxicol*. 2002;76:596-605.
- Harley CW und Sara SJ. Locus coeruleus bursts induced by glutamate trigger delayed perforant path spike amplitude potentiation in the dentate gyrus. *Exp Brain Res*. 1992;89:581-7.
- Hashimoto A, Oka T und Nishikawa T. Extracellular concentration of endogenous free D-serine in the rat brain as revealed by in vivo microdialysis. *Neuroscience*. 1995;66:635-43.
- Hebb DO. The organization of Behavior. Wiley; New York, 1949.
- Heckers S, Rauch SL, Goff D, Savage CR, Schacter DL, Fischman AJ und Alpert NM. Impaired recruitment of the hippocampus during conscious recollection in schizophrenia. *Nat Neurosci*. 1998;1:318-323.
- Herry C, Ciochi S, Senn V, Demmou L, Müller C und Lüthi A. Switching on and off fear by distinct neuronal circuits. *Nature*. 2008;454:606-8.

- Hill MN und McEwen BS. Endocannabinoids: The silent partner of glucocorticoids in the synapse. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106:4579-80.
- Hölscher C. Long-term potentiation: a good model for learning and memory? *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1997;21:47-68.
- Hok V, Lenck-Santini PP, Roux S, Save E, Muller RU und Poucet B. Goal-related activity in hippocampal place cells. *J Neurosci* 2007;27:472-82.
- Howell LL und Kimmel HL. Monoamine transporters and psychostimulant addiction. *Biochem Pharmacol*. 2008;75:196-217.
- Huang YY und Kandel ER. Recruitment of long-lasting and protein kinase A-dependent long-term potentiation in the CA1 region of hippocampus requires repeated tetanization. *Learn. Mem.* 1994;1:74-82.
- Huang CC, Lin HJ und Hsu KS. Repeated cocaine administration promotes long-term potentiation induction in rat medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex*. 2007;17:1877-88.
- Ingvar DH. "Memory of the future": an essay on the temporal organization of conscious awareness. *Hum Neurobiol*. 1985;4:127-36.
- Insausti R, Herrero MT, Witter MP. Entorhinal cortex of the rat: cytoarchitectonic subdivisions and the origin and distribution of cortical efferents. *Hippocampus*. 1997;7:146-83.
- Iyer RN und Bradberry CW. Serotonin-mediated increase in prefrontal cortex dopamine release: pharmacological characterization. *J Pharmacol Exp Ther*. 1996;277:40-7.
- Izquierdo I, Izquierdo LA, Barros DM, Mello e Souza T, de Souza MM, Quevedo J, Rodrigues C, Sant'Anna MK, Madruga M und Medina JH. Differential involvement of cortical receptor mechanisms in working, short-term and long-term memory. *Behav Pharmacol*. 1998;9:421-427.
- Izquierdo I und Medina JH. Correlation between the pharmacology of long-term potentiation and the pharmacology of memory. *Neurobiol Learn Mem*. 1995;63:19-32.
- Jas J, Almaguer W, Frey JU, Bergado J. Lesioning the fimbria-fornix impairs basolateral amygdala induced reinforcement of LTP in the dentate gyrus. *Brain Res*. 2000;861:186-9.
- Jay TM und Witter MP. Distribution of hippocampal CA1 and subicular efferents in the prefrontal cortex of the rat studied by means of anterograde transport of Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *J Comp Neurol*. 1991;313:574-86.
- Jing J und Gillette R. Escape swim network interneurons have diverse roles in behavioral switching and putative arousal in Pleurobranchanea. *J. Neurophysiol*. 2000;83:1346-55.
- Jodo E und Aston-Jones G. Activation of locus coeruleus by prefrontal cortex is mediated by excitatory amino acids input. *Brain Res*. 1997;768:327-32.
- Jodo E, Chiang C und Aston-Jones G. Potent excitatory influence of prefrontal cortex activity on noradrenergic locus coeruleus neurons. *Neuroscience*. 1998;83:63-80.
- Jones MW, Errington ML, French PJ, Fine A, Bliss TV, Garel S, Charnay P, Bozon B, Laroche S und Davis S. A requirement for the immediate early gene Zif268 in the expression of late LTP and long-term memories. *Nat Neurosci*. 2001;4:289-96.
- Jones S, Livner A und Backman L. Patterns of prospective and retrospective memory impairment in preclinical Alzheimer's disease. *Neuropsychology*. 2006;20:144-152.
- Jung MW, Qin Y, McNaughton BL und Barnes CA. Firing characteristics of deep layer neurons in prefrontal cortex in rats performing spatial working memory tasks. *Cereb Cortex* 1998;8:437-50.
- Kandel ER, Schwartz J und Jessel T. *Neurowissenschaften – Eine Einführung*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg. 1995.

- Kane MJ und Engle RW. The role of prefrontal cortex in working-memory capacity, executive attention, and general fluid intelligence: an individual-differences perspective. *Psychon Bull Rev.* 2002;9:637-71.
- Kawahara H, Kawahara Y und Westerink BHC. The noradrenaline-dopamine interaction in the rat medial prefrontal cortex studied by multi-probe microdialysis. *Eur J Pharmacol.* 2001;418:177-86.
- Kawahara Y, Kawahara H und Westerink BH. Comparison of effects of hypotension and handling stress on the release of noradrenaline and dopamine in the locus coeruleus and medial prefrontal cortex of the rat. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1999;360:42-9.
- Kemp A und Manahan-Vaughan D. The 5-hydroxytryptamine₄ receptor exhibits frequency-dependent properties in synaptic plasticity and behavioural metaplasticity in the hippocampal CA1 region in vivo. *Cereb Cortex.* 2005;15:1037-43.
- Kesner RP. Subregional analysis of mnemonic functions of the prefrontal cortex in the rat. *Psychobiology.* 2000;28:219-28.
- Kesner RP, Hunt ME, Williams JM und Long JM. Prefrontal Cortex and working memory of spatial response, spatial location, and visual object information in the rat. *Cereb Cortex.* 1996;6:311-8.
- Kesner RP und Rogers J. An analysis of independence and interactions of brain substrates that subserve multiple attributes, memory systems, and underlying processes. *Neurobiol Learn Mem.* 2004;82:199-215.
- Kienast T, Hariri AR, Schlagenhaut F, Wrase J, Sterzer P, Buchholz HG, Smolka MN, Gründer G, Cumming P, Kumakura Y, Bartenstein P, Dolan RJ und Heinz A. Dopamine in amygdala gates limbic processing of aversive stimuli in humans. *Nature Neuroscience.* 2008;11:1381-1382.
- Kim CK, Kalynchuk LE, Kornecook TJ, Mumby DG, Dadgar NA, Pinel JP und Weinberg J. Object-recognition and spatial learning and memory in rats prenatally exposed to ethanol. *Behav Neurosci.* 1997;111:985-95.
- Kim JJ und Haller J. Glucocorticoid hyper- and hypofunction: stress effects on cognition and aggression. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1113:291-303.
- Kim JJ, Song EY und Kosten TA. Stress effects in the hippocampus: synaptic plasticity and memory. *Stress.* 2006;9:1-11.
- Kirsch JA, Güntürkün O und Rose J. Insight without cortex: lessons from the avian brain. *Conscious Cogn.* 2008;17:475-83.
- Kloosterman F, Witter MP und Van Haeften T. Topographical and laminar organization of subicular projections to the parahippocampal region of the rat. *J Comp Neurol.* 2003;455:156-71.
- Koch S, Perry KW, Nelson DL, Conway RG, Threlkeld PG und Bymaster FP. R-fluoxetine increases extracellular DA, NE, as well as 5-HT in rat prefrontal cortex and hypothalamus: an in vivo microdialysis and receptor binding study. *Neuropsychopharmacology.* 2002;27:949-959.
- Kocsis B, Li S und Hajós M. Behavior-dependent modulation of hippocampal EEG activity by the selective norepinephrine reuptake inhibitor reboxetine in rats. *Hippocampus.* 2007;17:627-33.
- Korz V und Frey JU. Stress-related modulation of hippocampal long-term potentiation in rats: Involvement of adrenal steroid receptors. *J Neurosci.* 2003;23:7281-7.
- Korz V und Frey JU. Bidirectional modulation of hippocampal long-term potentiation under stress and no-stress conditions in basolateral amygdala-lesioned and intact rats. *J Neurosci.* 2005;25:7393-400.
- Korz V und Frey JU. Hormonal and monoamine signaling during reinforcement of hippocampal long-term potentiation and memory retrieval. *Learn Mem.* 2007;14:160-6.
- Krug M, Lössner B und Ott T. Anisomycin blocks the late phase of long-term potentiation in the dentate gyrus of freely moving rats. *Brain Res Bull.* 1984;13:39-42.

- Kubota K, Iwamoto T und Suzuki H. Visuokinetic activities of primate prefrontal neurons during delayed-response performance. *J Neurophysiol.* 1974;37:1197-212.
- Kulla A und Manahan-Vaughan D. Depotentiation in the dentate gyrus of freely moving rats is modulated by D1/D5 dopamine receptors. *Cereb Cortex.* 2000;10:614-20.
- Kyd RJ und Bilkey DK. Prefrontal cortex lesions modify the spatial properties of hippocampal place cells. *Cereb Cortex.* 2003;13:444-451.
- Laroche S, Davis S und Jay TM. Plasticity at hippocampal to prefrontal cortex synapses: dual roles in working memory and consolidation. *Hippocampus.* 2000;10:438-46.
- Laroche S, Doyère V und Bloch V. Linear relation between the magnitude of long-term potentiation in the dentate gyrus and associative learning in the rat. A demonstration using commissural inhibition and local infusion of an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist. *Neuroscience.* 1989;28:375-86.
- Larsen JK und Divac I. Selective ablations within the prefrontal cortex of the rat and performance of delayed alternation. *Physiol Psychol.* 1978;6:15-7.
- Lee SP, So CH, Rashid AJ, Varghese G, Cheng R, Lança AJ, O'Dowd BF und George SR. Dopamine D1 and D2 receptor Co-activation generates a novel phospholipase C-mediated calcium signal. *J Biol Chem.* 2004;279:35671-8.
- Leon MI und Shadlen MN. Effect of expected reward magnitude on the response of neurons in the dorsolateral prefrontal cortex of the macaque. *Neuron.* 1999;24:415-25.
- Léránth C und Hajszan T. Extrinsic afferent systems to the dentate gyrus. *Prog Brain Res.* 2007;163:63-84.
- Li BM, Mao ZM, Wang M und Mei ZT. Alpha-2 adrenergic modulation of prefrontal cortical neuronal activity related to spatial working memory in monkeys. *Neuropsychopharmacology.* 1999;21:601-10.
- Li BM und Mei ZT. Delayed-response deficit induced by local injection of the alpha 2-adrenergic antagonist yohimbine into the dorsolateral prefrontal cortex in young adult monkeys. *Behav Neural Biol.* 1994;62:134-9.
- Lim EP, Tan CH, Jay TM und Dawe GS. Locus coeruleus stimulation and noradrenergic modulation of hippocampo-prefrontal cortex long-term potentiation. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2010;4:1-13.
- Linnér L, Wiker C, Arborelius L, Schalling M und Svensson TH. Selective noradrenaline reuptake inhibition enhances serotonergic neuronal activity and transmitter release in the rat forebrain. *J Neural Transm.* 2004;111:127-39.
- Lømo T. The discovery of long-term potentiation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2003;358:617-20.
- Loy R, Koziell DA, Lindsey JD und Moore RY. Noradrenergic innervation of the adult rat hippocampal formation. *J Comp Neurol.* 1980;189:699-710.
- Lu B, Pang PT und Woo NH. The yin and yang of neurotrophin action. *Nat Rev Neurosci.* 2005;6:603-14.
- Makhracheva-Stepochkina D, Frey S, Frey JU, Korz V. Spatial learning in the holeboard impairs an early phase of long-term potentiation in the rat hippocampal CA1-region. *Neurobiol Learn Mem.* 2008;89:545-51.
- Malenka RC und Nicoll RA. Long-term potentiation – a decade of progress? *Science.* 1999;285:1870-4.
- Manahan-Vaughan D und Kulla A. Regulation of depotentiation and long-term potentiation in the dentate gyrus of freely moving rats by dopamine D2-like receptors. *Cereb Cortex.* 2003;13:123-35.
- Mangiavacchi S und Wolf ME. D1 dopamine receptor stimulation increases the rate of AMPA receptor insertion onto the surface of cultured nucleus accumbens neurons through a pathway dependent on protein kinase A. *J Neurochem.* 2004;88:1261-71.

- Marchetti E, Chaillan FA, Dumuis A, Bockaert J, Soumireu-Mourat B und Roman FS. Modulation of memory processes and cellular excitability in the dentate gyrus of freely moving rats by a 5-HT₄ receptors partial agonist, and an antagonist. *Neuropharmacology*. 2004;47:1021–35.
- Marsteller DA, Gerasimov MR, Schiffer WK, Geiger JM, Barnett CR, Schaich Borg J, Scott S, Ceccarelli J, Volkow ND, Molina PE, Alexoff DL und Dewey SL. Acute handling stress modulates methylphenidate-induced catecholamine overflow in the medial prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology*. 2002;27:163-70.
- Matsuda Y, Marzo A und Otani S. The presence of background dopamine signal converts long-term synaptic depression to potentiation in rat prefrontal cortex. *J Neurosci*. 2006;26:4803-10.
- di Matteo V, di Giovanni G, Pierucci M und Esposito E. Serotonin control of central dopaminergic function: focus on in vivo microdialysis studies. *Prog Brain Res*. 2008;172:7-44.
- Matthies H. The biochemical basis of learning and memory. *Life Sci*. 1974;15:2017-31.
- Matthies H. Neurobiological aspects of learning and memory. *Annu Rev Psychol*. 1989;40:381-404.
- Matthies H, Frey U, Reymann K, Krug M, Jork R, Schroeder H. Different mechanisms and multiple stages of LTP. *Adv Exp Med Biol*. 1990;268:359-68.
- Matthies H, Ruethrich H, Ott T, Matthies HK, Matthies R. Low frequency perforant path stimulation as a conditioned stimulus demonstrates correlations between long-term synaptic potentiation and learning. *Physiol Behav*. 1986;36:811-21.
- McDonald RJ, Devan BD und Hong NS. Multiple memory systems: the power of interactions. *Neurobiol Learn Mem*. 2004;82:333-46.
- McDougall W. *Grundlagen der Sozialpsychologie*. Jena: Gustav Fischer. 1928.
- McQuade R, Creton D, Stanford SC. Effect of novel environmental stimuli on rat behaviour and central noradrenaline function measured by in vivo microdialysis. *Psychopharmacology*. 1999;145:393-400.
- Mehta MA, Manes FF, Magnolfi G, Sahakian B und Robbins TW. Impaired set-shifting and dissociable effects on tests of spatial working memory following the dopamine D2 receptor antagonist sulpiride in human volunteers. *Psychopharmacology*. 2004;176:331-42.
- Meiri N, Sun MK, Segal Z und Alkon DL. Memory and longterm potentiation (LTP) dissociated: normal spatial memory despite CA1 LTP elimination with Kv1.4 antisense. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:15037-42.
- van der Meulen JA, Bilbija L, Joosten RN, de Bruin JP und Feenstra MG. The NMDA-receptor antagonist MK-801 selectively disrupts reversal learning in rats. *Neuroreport*. 2003;14:2225-8.
- Meyer-Lindenberg AS, Olsen RK, Kohn PD, Brown T, Egan MF, Weinberger DR und Berman KF. Regionally specific disturbance of dorsolateral prefrontal-hippocampal functional connectivity in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 2005;62:379-86.
- Miettinen R und Freund TF. Neuropeptide Y-containing interneurons in the hippocampus receive synaptic input from median raphe and GABAergic septal afferents. *Neuropeptides*. 1992;22:185-93.
- Miller E. The prefrontal cortex and cognitive control. *Nature Reviews: Neuroscience*. 2000;1:59-65.
- Miller EK und Cohen JD. An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annu Rev Neurosci*. 2001;24:167-202.
- Miller EK, Erickson CA und Desimone R. Neural mechanisms of visual working memory in prefrontal cortex of the macaque. *J Neurosci*. 1996;16:5154-67.
- Miller GA. The magical number seven, plus or minus two: Some limits on our capacity for processing information. *Psychological Review*. 1956;63:81-97.

- Mingote S, de Bruin JPC und Feenstra MGP. Noradrenaline and dopamine efflux in the prefrontal cortex in relation to appetitive classical conditioning. *J Neurosci*. 2004;24:2475-80.
- Miyamoto E. Molecular mechanism of neuronal plasticity: induction and maintenance of long-term potentiation in the hippocampus. *J Pharmacol Sci*. 2006;100:433-42.
- Mizoguchi K, Ishige A, Takeda S, Aburada M und Tabira T. Endogenous glucocorticoids are essential for maintaining prefrontal cortical cognitive function. *J Neurosci*. 2004;24:5492-5499.
- Montague PR und Berns GS. Neural economics and the biological substrates of valuation. *Neuron*. 2002;36:265-84.
- Moore RY und Bloom FE. Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the norepinephrine and epinephrine systems. *Annu Rev Neurosci*. 1979;2:113-68.
- Morris R, Anderson E, Lynch G und Baudry M. Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*. 1986;319:774-6.
- Moser EI, Krobot KA, Moser MB und Morris RG. Impaired spatial learning after saturation of long-term potentiation. *Science*. 1998;281:2038-42.
- Mulder AB, Nordquist R, Orgut O und Pennartz CM. Plasticity of neuronal firing in deep layers of the medial prefrontal cortex in rats engaged in operant conditioning. *Prog Brain Res*. 2000;126:287-301.
- Mumby DG und Pinel JP. Rhinal cortex lesions and object recognition in rats. *Behav Neurosci*. 1994;108:11-8.
- Murchison CF, Zhang XY, Zhang WP, Ouyang M, Lee A und Thomas SA. A distinct role for norepinephrine in memory retrieval. *Cell*. 2004;117:131-43.
- Murphy BL, Arnsten AFT, Goldman-Rakic PS und Roth RH. Increased dopamine turnover in the prefrontal cortex impairs spatial working memory performance in rats and monkeys. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996a;93:1325-1329.
- Murphy BL, Arnsten AFT, Jentsch JD und Roth RH. Dopamine and spatial working memory in rats and monkeys: pharmacological reversal of stress-induced impairment. *J Neurosci*. 1996b;16:7768-75.
- Murphy BL, Roth RH und Arnsten AFT. The effects of FG7142 on prefrontal cortical dopamine and spatial working memory in rat and monkey. *Soc Neurosci Abstr*. 1994;20:1018.
- Murphy BL, Roth RH und Arnsten AF. Clozapine reverses the spatial working memory deficits induced by FG7142 in monkeys. *Neuropsychopharmacology*. 1997;16:433-7.
- Mushiake H, Saito N, Sakamoto K, Itoyama Y und Tanji J. 2006. Activity in the lateral prefrontal cortex reflects multiple steps of future events in action plans. *Neuron*. 2006;50:631-41.
- Neugebauer F, Korz V und Frey JU. Modulation of extracellular monoamine transmitter concentrations in the hippocampus after weak and strong tetanization of the perforant path in freely moving rats. *Brain Res*. 2009;1273:29-38.
- Niki H. Differential activity of prefrontal units during right and left delayed response trials. *Brain res*. 1974;70:346-9.
- Ohashi S, Matsumoto M, Otani H, Mori K, Togashi H, Ueno K, Kaku A und Yoshioka M. Changes in synaptic plasticity in the rat hippocampo-medial prefrontal cortex pathway induced by repeated treatments with fluvoxamine. *Brain Res*. 2002;949:131-8.
- Ohashi S, Matsumoto M, Togashi H, Ueno K und Yoshioka M. The serotonergic modulation of synaptic plasticity in the rat hippocampo-medial prefrontal cortex pathway. *Neuroscience Lett*. 2003;342:179-82.
- O'Keefe J und Nadel L. *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford University Press. New York. 1978.

- Ongur D und Price JL. The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cereb Cortex*. 2000;10:206-19.
- Osborne PG, O'Connor WT, Drew KL und Ungerstedt U. An in vivo microdialysis characterization of extracellular dopamine and GABA in dorsolateral striatum of awake freely moving and halothane anaesthetised rats. *J Neurosci Methods*. 1990;34:99-105.
- Otani S und Abraham WC. Inhibition of protein synthesis in the dentate gyrus, but not the entorhinal cortex, blocks maintenance of long-term potentiation in rats. *Neurosci Lett*. 1989;106:175-80.
- Packard MG und White NM. Memory facilitation produced by dopamine agonists: role of receptor subtype and mnemonic requirements. *Pharmacol Biochem Behav*. 1989;33:511-518.
- Packard MG und White NM. Dissociation of hippocampus and caudate nucleus memory systems by posttraining intracerebral injection of dopamine agonists. *Behav Neurosci*. 1991;105:295-306.
- Parent MB, Master S, Kashlub S und Baker GB. Effects of the antidepressant/antipanic drug phenelzine and its putative metabolite phenylethylidenehydrazine on extracellular gamma-aminobutyric acid levels in the striatum. *Biochem Pharmacol*. 2002;63:57-64.
- Parker ES, Cahill L, McGaugh JL. A case of unusual autobiographical remembering. *Neurocase*, 2006; 12:35-49.
- Pastalkova E, Serrano P, Pinkhasova D, Wallace E, Fenton AA, Sacktor TC. Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP. *Science*. 2006;313:1141-4.
- Paulsen O und Sejnowski TJ. Natural patterns of activity and long-term synaptic plasticity. *Curr Opin Neurobiol*. 2000;10:172-9.
- Paxinos G und Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Elsevier, Amsterdam, 2007.
- Peterson GM, Williams LR, Varon S und Gage FH. Loss of GABAergic neurons in medial septum after fimbria-fornix transection. *Neurosci Lett*. 1987;76:140-4.
- Peterson JD, Wolf ME und White FJ. Repeated amphetamine administration decreases D1 dopamine receptor-mediated inhibition of voltage-gated sodium currents in the prefrontal cortex. *J Neurosci*. 2006;26:3164-8.
- Phillips AG, Ahn S und Floresco SB. Magnitude of dopamine release in medial prefrontal cortex predicts accuracy of memory on a delayed response task. *J Neurosci*. 2004;24:547-53.
- Phillips AG, Vacca G und Ahn S. A top-down perspective on dopamine, motivation and memory. *Pharmacol Biochem Behav*. 2008;90:236-49.
- van der Plasse G, La Fors SSBM, Meerkerk DTJ, Joosten RNJMA, Uylings HBM und Feenstra MGP. Medial prefrontal serotonin in the rat is involved in goal-directed behaviour when affect guides decision making. *Psychopharmacology*. 2007;195:435-449.
- Postma A, Kessels RP und van Asselen M. How the brain remembers and forgets where things are: the neurocognition of object-location memory. *Neurosci Biobehav Rev*. 2008;32:1339-45.
- van Praag H. Exercise and the brain: something to chew on. *Trends Neurosci*. 2009;32:283-90.
- Puig de Parada M, Parada MA, Pothos E und Hoebel BG. d-fenfluramine, but not d-norfenfluramine, uses calcium to increase extracellular serotonin. *Life Sci*. 1995;56:PL415-20.
- Putnam KM und McSweeney LB. Depressive symptoms and baseline prefrontal EEG alpha activity: a study utilizing Ecological Momentary Assessment. *Biol Psychol*. 2008;77:237-40.
- Quirarte GL, Roozendaal B und McGaugh JL. Glucocorticoid enhancement of memory storage involves noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:14048-53.

- Ragozzino ME. The effects of dopamine D(1) receptor blockade in the prelimbic-infralimbic areas on behavioral flexibility. *Learn Mem.* 2002;9:18-28.
- Ragozzino ME, Detrick S und Kesner RP. Involvement of the prelimbic-infralimbic areas of the rodent prefrontal cortex in behavioral flexibility for place and response learning. *J Neurosci.* 1999;19:4585-94.
- Rainer G, Asaad WF und Miller EK. Selective representation of relevant information by neurons in the primate prefrontal cortex. *Nature.* 1998;393:577-9.
- Rainer G, Rao SC und Miller EK. Prospective coding for objects in primate prefrontal cortex. *J Neurosci.* 1999;19:5493-505.
- Ramirez OA, Orsingher OA und Carrer HF. Differential threshold for long-term potentiation in the hippocampus of rats with inborn high or low learning capacity. *Neurosci Lett.* 1988;92:275-9.
- Rao VR und Finkbeiner S. NMDA and AMPA receptors: old channels, new tricks. *Trends Neurosci.* 2007;30:284-91.
- Raymond CR. LTP forms 1, 2 and 3: different mechanisms for the "long" in long-term potentiation. *Trends Neurosci.* 2007;30:167-75.
- Rebec GV, Grabner CP, Johnson M, Pierce RC und Bardo MT. Transient increase in catecholaminergic activity in medial prefrontal cortex and nucleus accumbens shell during novelty. *Neuroscience.* 1997;76:707-14.
- Rebec GV und Sun W. Neuronal substrates of relapse to cocaine-seeking behavior: role of prefrontal cortex. *J Exp Anal Behav.* 2005;84:653-66.
- Reymann KG, Malisch R, Schulzeck K, Brödemann R, Ott T und Matthies H. The duration of long-term potentiation in the CA1 region of the hippocampal slice preparation. *Brain Res. Bull.* 1985;15:249-55.
- Reymann KG und Frey JU. The late maintenance of hippocampal LTP: requirements, phases, 'synaptic tagging', 'late-associativity' and implications. *Neuropharmacology.* 2007;52:24-40.
- Richter-Levin G, Thomas KL, Hunt SP und Bliss TV. Dissociation between genes activated in long-term potentiation and in spatial learning in the rat. *Neurosci Lett.* 1988;251:41-4.
- Robbins TW. Cortical noradrenaline, attention and arousal. *Psychol Med.* 1984;14:13-21.
- Robbins TW. Chemical neuromodulation of fronto-executive functions in humans and other animals. *Exp Brain Res.* 2000;133:130-8.
- Roberts AC, De Salvia MA, Wilkinson LS, Collins P, Muir JL, Everitt BJ und Robbins TW. 6-Hydroxydopamine lesions of the prefrontal cortex in monkeys enhance performance on an analog of the Wisconsin Card Sort Test: possible interactions with subcortical dopamine. *J Neurosci.* 1994;14:2531-44.
- Roesch MR und Olson CR. Impact of expected reward on neuronal activity in prefrontal cortex, frontal and supplementary eye fields and premotor cortex. *J Neurophysiol.* 2003;90:1766-89.
- Roozendaal B, McReynolds J R und McGaugh JL. The basolateral amygdala interacts with the medial prefrontal cortex in regulating glucocorticoid effects on working memory impairment. *J Neurosci.* 2004;24:1385-92.
- Roozendaal B, Okuda S, Van der Zee EA und McGaugh JL. Glucocorticoid enhancement of memory requires arousal-induced noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:6741-6.
- Rosenzweig ES und Barnes CA. Impact of aging on hippocampal function: plasticity, network dynamics, and cognition. *Prog Neurobiol.* 2003;69:143-79.
- Rosenzweig MR, Breedlove SM und Watson NV. *Biological Psychology: An Introduction to Behavioral and Cognitive Neuroscience.* Palgrave Macmillan, new York. 2007.

- Rossetti ZL und Carboni S. Noradrenaline and dopamine elevations in the rat prefrontal cortex in spatial working memory. *J Neurosci.* 2005;25:2322-9.
- Rossi S, Singer S, Shearman E, Sershen H und Lajtha A. The effects of cholinergic and dopaminergic antagonists on nicotine-induced cerebral neurotransmitter changes. *Neurochem Res.* 2005;30:541-58.
- Rouillet P und Sara S. Consolidation of memory after its reactivation: involvement of beta noradrenergic receptors in the late phase. *Neural Plast.* 1998;6:63-8.
- Saito K, Kanazawa M und Fukudo S. Colorectal distention induces hippocampal noradrenaline release in rats: an in vivo microdialysis study. *Brain Res.* 2002;947:146-9.
- Sara SJ, Devauges V, Biegon A und Blizard DA. The Maudsly rat strains as a probe to investigate noradrenergic-cholinergic interaction in cognitive function. *J Physiol Paris.* 1994;88:337-45.
- Sarihi A, Fathollahi Y, Motamedi F, Naghdi N, Rashidy-Pour A. Effects of lidocaine reversible inactivation of the median raphe nucleus on long-term potentiation and recurrent inhibition in the dentate gyrus of rat hippocampus. *Brain Res.* 2003;962:159-68.
- Savage CR, Deckersbach T, Heckers S, Wagner AD, Schacter DL, Alpert NM, Fischman AJ und Rauch SL. Prefrontal regions supporting spontaneous and directed application of verbal learning strategies: evidence from PET. *Brain.* 2001;124:219-31.
- Sawaguchi T. Attenuation of delay-period activity of monkey prefrontal neurons by an alpha2-adrenergic antagonist during an oculomotor delayed-response task. *J Neurophysiol.* 1998;80:2200-5.
- Sawaguchi T, Matsumura M und Kubota K. Dopamine enhances the neuronal activity of spatial short-term memory task in the primate prefrontal cortex. *Neurosci Res.* 1988;5:465-73.
- Sawaguchi T, Matsumura M und Kubota K. Catecholaminergic effects on neuronal activity related to a delayed response task in monkey prefrontal cortex. *J Neurophysiol.* 1990;63:1385-400.
- Sawaguchi T und Goldman-Rakic PS. D1 dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory. *Science.* 1991;251:947-50.
- Sawaguchi T und Goldman-Rakic PS. The role of D1-dopamine receptor in working memory: local injections of dopamine antagonists into the prefrontal cortex of rhesus monkeys performing an oculomotor delayed-response task. *J Neurophysiol.* 1994;71:515-28.
- Scatton B, Simon H, Le Moal M und Bischoff S. Origin of dopaminergic innervation of the rat hippocampal formation. *Neurosci Lett.* 1980;18:125-31.
- Schultz RR, de Castro CC und Bertolucci PH. Memory with emotional content, brain amygdala and Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand.* 2009;120:101-10.
- Schultz W. Predictive reward signals of dopamine neurons. *J Neurophysiol.* 1998;80:1-27.
- Schultz W. Getting formal with dopamine and reward. *Neuron.* 2002;36:241-63.
- Schultz W, Apicella P und Ljungberg T. Responses of monkey dopamine neurons to reward and conditioned stimuli during successive steps of learning a delayed response task. *J Neurosci.* 1993;13:900-13.
- Schultz W und Dickinson A. Neuronal coding of prediction errors. *Annu Rev Neurosci.* 2000;23:473-500.
- Schulz S, Siemer H, Krug M und Holtt V. Direct evidence for biphasic cAMP responsive element-binding protein phosphorylation during long-term potentiation in the rat dentate gyrus in vivo. *J. Neurosci.* 1999;19:5683-92.
- Scoville WB und Milner B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1957;20:11-21.

- Seamans JK, Floresco SB und Phillips AG. Selective impairment on a delayed radial arm task following local administration of a selective D1, but not a D2, antagonist into the prefrontal cortex. *Soc Neurosci Abstr.* 1995a;21:1942.
- Seamans JK, Floresco SB und Phillips AG. Functional differences between the prelimbic and anterior cingulate regions of the rat prefrontal cortex. *Behav Neurosci.* 1995b;109:1063-73.
- Seamans JK, Floresco SB und Phillips AG. D1 receptor modulation of hippocampal-prefrontal cortical circuits integrating spatial memory with executive functions in the rat. *J Neurosci.* 1998;18:1613-21.
- Seamans JK und Yang CR. The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Prog Neurobiol.* 2004;74:1-58.
- Segal R. Neurotrophins: which way did they go? *Sci STKE.* 2001;2001(84):PE1.
- Sesack SR, Carr DB, Omelchenko N und Pinto A. Anatomical substrates for glutamate-dopamine interactions: evidence for specificity of connections and extrasynaptic actions. *Ann N Y Acad Sci.* 2003;1003:36-52.
- Sesack SR, Deutch AY, Roth RH und Bunney BS. Topographical organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tract-tracing study with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *J Comp Neurol.* 1989;290:213-42.
- Seidenbecher T, Balschun D, Reymann KG. Drinking after water deprivation prolongs "unsaturated" LTP in the dentate gyrus of rats. *Physiol Behav.* 1995;57:1001-4.
- Seidenbecher T, Reymann KG, Balschun D. A post-tetanic time window for the reinforcement of long-term potentiation by appetitive and aversive stimuli. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94:1494-9.
- Shakesby AC, Anwyl R und Rowan MJ. Overcoming the effects of stress on synaptic plasticity in the intact hippocampus: rapid actions of serotonergic and antidepressant agents. *J Neurosci.* 2002;22:3638-44.
- Shapiro M. Plasticity, hippocampal place cells, and cognitive maps. *Arch Neurol.* 2001;58:874-81.
- Shum D, Ungvari GS, Tang WK und Leung JP. Performance of schizophrenia patients on time-, event-, and activity-based prospective memory tasks. *Schizophr Bull.* 2004;30:693-701.
- Shute CC und Lewis PR. Electron microscopy of cholinergic terminals and acetylcholinesterase-containing neurones in the hippocampal formation of the rat. *Z Zellforsch Mikrosk Anat.* 1966;69:334-43.
- Sidiropoulou K, Lu FM, Fowler MA, Xiao R, Phillips C, Ozkan ED, Zhu MX, White FJ, Cooper DC. Dopamine modulates an mGluR5-mediated depolarization underlying prefrontal persistent activity. *Nat Neurosci.* 2009;12:190-9.
- Silva AJ, Raylor R, Wehner JM und Tonegawa S. Impaired spatial learning in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science.* 1992;257:206-11.
- Simons JS und Spiers HJ. Prefrontal and medial temporal lobe interactions in long-term memory. *Nat Rev Neurosci.* 2003;4:637-48.
- Stancampiano R, Melis F, Sarais L, Cocco S, Cugusi C, Fadda F. Acute administration of a tryptophan-free amino acid mixture decreases 5-HT release in rat hippocampus in vivo. *Am J Physiol.* 1997;272:R991-4.
- Stanciu M, Radulovic J und Spiess J. Phosphorylated cAMP response element binding protein in the mouse brain after fear conditioning: Relationship to Fos production. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 2001;94:15-24.
- Stäubli U und Xu FB. Effects of 5-HT₃ receptor antagonism on hippocampal theta rhythm, memory, and LTP induction in the freely moving rat. *J Neurosci.* 1995;15:2445-52.
- Stefani MR, Groth K und Moghaddam B. Glutamate receptors in the rat medial prefrontal cortex regulate set-shifting ability. *Behav Neurosci.* 2003;117:728-37.

- Stefani MR und Moghaddam B. Rule learning and reward contingency are associated with dissociable patterns of dopamine activation in the rat prefrontal cortex, nucleus accumbens, and dorsal striatum. *J Neurosci.* 2006;26:8810-8.
- Stemmelin J, Lazarus C, Cassel S, Kelche C und Cassel J. Immunohistochemical and neurochemical correlates of learning deficits in aged rats. *Neuroscience.* 2000;96:275-89.
- Straube T und Frey JU. Involvement of beta-adrenergic receptors in protein synthesis-dependent late long-term potentiation (LTP) in the dentate gyrus of freely moving rats: the critical role of the LTP induction strength. *Neuroscience.* 2003;119:473-9.
- Straube T, Korz V, Balschun D, Frey JU. Requirement of beta-adrenergic receptor activation and protein synthesis for LTP-reinforcement by novelty in rat dentate gyrus. *J Physiol.* 2003;552:953-60.
- Swanson LW. The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain Res Bull.* 1982;9:321-53.
- Taber MT und Fibiger HC. Activation of the mesocortical dopamine system by feeding: lack of a selective response to stress. *Neuroscience.* 1997;77:295-8.
- Takehara K, Kawahara S und Kirino Y. Time-dependent reorganization of the brain components underlying memory retention in trace eyeblink conditioning. *J Neurosci.* 2003;23:9897-905.
- Tan SE, Wenthold RJ und Soderling TR. Phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and protein kinase C in cultured hippocampal neurons. *J Neurosci.* 1994;14:1123-9.
- Tanila H, Rama P und Carlson S. The effects of prefrontal intracortical microinjections of an alpha-2 agonist, alpha-2 antagonist and lidocaine on the delayed alternation performance of aged rats. *Brain Res Bull.* 1996;40:117-119.
- Tinbergen, N. On Aims and Methods of Ethology. *Zeitschrift für Tierpsychologie.* 1963;20:410-433.
- Tobler PN, Fiorillo CD und Schultz W. Adaptive coding of reward value by dopamine neurons. *Science.* 2005;307:1642-5.
- Torres IL, Gamaro GD, Vasconcellos AP, Silveira R, Dalmaz C. Effects of chronic restraint stress on feeding behavior and on monoamine levels in different brain structures in rats. *Neurochem Res.* 2002;27:519-25.
- Tost H, Meyer-Lindenberg A, Klein S, Schmitt A, Hohn F, Tenckhoff A, Ruf M, Ende G, Rietschel M, Henn FA und Braus DF. D2 antidopaminergic modulation of frontal lobe function in healthy human subjects. *Biol Psychiatry.* 2006;60:1196-205.
- Trabace L, Cassano T, Tucci P, Steardo L, Kendrick KM und Cuomo V. The effects of nitric oxide on striatal serotonergic transmission involve multiple targets: an in vivo microdialysis study in the awake rat. *Brain Res.* 2004;1008:293-8.
- Tronel S, Feenstra MGP und Sara SJ. Noradrenergic Action in Prefrontal Cortex in the Late Stage of Memory Consolidation. *Learn Mem.* 2004;11:453-8.
- Ueda Y, Doi T, Nagatomo K und Nakajima A. In vivo activation of N-methyl-D-aspartate receptors generates free radicals and reduces antioxidant ability in the rat hippocampus: experimental protocol of in vivo ESR spectroscopy and microdialysis for redox status evaluation. *Brain Res.* 2007;1178:20-7.
- Uzakov S, Frey JU und Korz V. Reinforcement of rat hippocampal LTP by holeboard training. *Learn Mem.* 2005;12:165-71.
- Uylings HBM und van Eden CG. Qualitative and quantitative comparison of the prefrontal cortex in rat and in primates, including humans. *Prog Brain Res.* 1990;85:31-62.
- Verma A und Moghaddam B. NMDA receptor antagonists impair prefrontal cortex function as assessed via spatial delayed alternation performance in rats: modulation by dopamine. *J Neurosci.* 1996;16:373-379.

- Vincent SL, Khan Y und Benes FM. Cellular distribution of dopamine D1 and D2 receptors in rat medial prefrontal cortex. *J Neurosci.* 1993;13:2551-64.
- Vizi ES. Role of high-affinity receptors and membrane transporters in nonsynaptic communication and drug action in the central nervous system. *Pharmacol Rev.* 2000;52:63-89.
- Vizi ES und Kiss JP. Neurochemistry and pharmacology of the major hippocampal transmitter systems: synaptic and nonsynaptic interactions. *Hippocampus.* 1998;8:566-607.
- Volkow ND, Wang GJ, Kollins SH, Wigal TL, Newcorn JH, Telang F, Fowler JS, Zhu W, Logan J, Ma Y, Pradhan K, Wong C und Swanson JM. Evaluating dopamine reward pathway in ADHD: clinical implications. *JAMA.* 2009;302:1084-91.
- Volkow ND, Wang GJ, Telang F, Fowler JS, Logan J, Wong C, Ma J, Pradhan K, Tomasi D, Thanos PK, Ferré S und Jayne M. Sleep deprivation decreases binding of [¹¹C]raclopride to dopamine D2/D3 receptors in the human brain. *J Neurosci.* 2008;28:8454-61.
- Walling SG und Harley CW. Locus ceruleus activation initiates delayed synaptic potentiation of perforant path input to the dentate gyrus in awake rats: a novel beta-adrenergic- and protein synthesis-dependent mammalian plasticity mechanism. *J Neurosci.* 2004;24:598-604.
- Wang M, Vijayraghavan S und Goldman-Rakic PS. Selective D2 receptor actions on the functional circuitry of working memory. *Science.* 2004;303:853-6.
- Washburn M und Moises HC. Electrophysiological correlates of presynaptic alpha 2-receptor-mediated inhibition of norepinephrine release at locus coeruleus synapses in dentate gyrus. *J Neurosci.* 1989;9:2131-40.
- Watanabe M. Reward expectancy in primate prefrontal neurons. *Nature.* 1996;382:629-32.
- Watanabe Y, Himi T, Saito H und Abe K. Involvement of glycine site associated with the NMDA receptor in hippocampal long-term potentiation and acquisition of spatial memory in rats. *Brain Res.* 1992;582:58-64.
- Watanabe M, Hirosaka K, Sagakami M und Shirakawa S. Coding and monitoring of motivational context in the primate prefrontal cortex. *J Neurosci.* 2002;22:2391-400.
- Watanabe M, Kodama T und Hikosaka K. Increase of extracellular dopamine in primate prefrontal cortex during a working memory task. *J Neurophysiol.* 1997;78:2795-98.
- Weikop P, Kehr J und Scheel-Krüger J. The role of alpha1- and alpha2-adrenoreceptors on venlafaxine-induced elevation of extracellular serotonin, noradrenaline and dopamine levels in the rat prefrontal cortex and hippocampus. *J Psychopharmacol.* 2004;18:395-403.
- Weikop P, Kehr J, Scheel-Krüger J. Reciprocal effects of combined administration of serotonin, noradrenaline and dopamine reuptake inhibitors on serotonin and dopamine levels in the rat prefrontal cortex: the role of 5-HT1A receptors. *J Psychopharmacol.* 2007;21:795-804.
- White NM, Packard MG und Seamans J. Memory enhancement by posttraining peripheral administration of low doses of dopamine agonists: possible autoreceptor effect. *Behav Neural Biol.* 1993;59:230-241.
- Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF. Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science.* 2006;313:1093-7.
- Wickens JR, Begg AJ und Arbuthnott GW. Dopamine reverses the depression of rat corticostriatal synapses which normally follows high-frequency stimulation of cortex in vitro. *Neuroscience.* 1996;70:1-5.
- Wilkerson A und Levin ED. Ventral hippocampal dopamine D1 and D2 systems and spatial working memory in rats. *Neuroscience.* 1999;89:743-749.
- Williams GV und Goldman-Rakic PS. Modulation of memory fields by dopamine D1 receptors in prefrontal cortex. *Nature.* 1995;376:572-5.

- Williams S, Mmbaga N, Chirwa S. Dopaminergic D1 receptor agonist SKF 38393 induces GAP-43 expression and long-term potentiation in hippocampus in vivo. *Neurosci Lett*. 2006;402:46-50.
- Wiltgen BJ, Brown RA, Talton LE und Silva AJ. New circuits for old memories: the role of the neocortex in consolidation. *Neuron*. 2004;44:101-8.
- Winstanley CA, Theobald DE, Cardinal RN und Robbins TW. Contrasting roles of basolateral amygdala and orbitofrontal cortex in impulsive choice. *J Neurosci*. 2004;24:4718-22.
- Winterer G und Weinberger DR. Genes, dopamine and cortical signal-to-noise ratio in schizophrenia. *Trends Neurosci*. 2004;27:683-90.
- Wirkner K, Krause T, Köles L, Thümmler S, Al-Khrasani M und Illes P. D1 but not D2 dopamine receptors or adrenoceptors mediate dopamine-induced potentiation of N-methyl-d-aspartate currents in the rat prefrontal cortex. *Neurosci Lett*. 2004;372:89-93.
- Wise RA. Dopamine, learning and motivation. *Nat Rev Neurosci*. 2004;5:1-12.
- Wise SP. Forward frontal fields: phylogeny and fundamental function. *Trends Neurosci*. 2008;31:599-608.
- Witter MP, Naber PA, van Haeften T, Machielsen WCM, Rombouts SARB, Barkhof F, Scheltens P, Lopes da Silva FH. Cortico-Hippocampal Communication by Way of Parallel Parahippocampal-Subicular Pathways. *Hippocampus* 2000.10:398-410.
- Witter MP, Van Hoesen GW, Amaral DG. Topographical organization of the entorhinal projection to the dentate gyrus of the monkey. *J Neurosci*. 1989;9:216-28.
- Wolf ME, Sun X, Mangiavacchi S und Chao SZ. Psychomotor stimulants and neuronal plasticity. *Neuropharmacology*. 2004;47:61-79.
- Wolf OT. Stress and memory in humans: twelve years of progress? *Brain Res*. 2009;1293:142-54.
- Yapici N, Kim Y-J, Ribeiro C und Dickson BJ. A receptor that mediates the postmating switch in *Drosophila* reproductive behavior. *Nature*. 2007;451:33-7.
- Yin JC und Tully T. CREB and the formation of long-term memory. *Curr Opin Neurobiol*. 1996;6:264-268.
- Zahrt J, Taylor JR, Mathew RG und Arnsten AF. Supranormal stimulation of D1 dopamine receptors in the rodent prefrontal cortex impairs spatial working memory performance. *J Neurosci*. 1997;17:8528-35.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Frank Neugebauer
Geburtsdatum	22-Juni-1970
Geburtsort	Werdau
Wohnort	Könneritzstraße 15, Leipzig, 04229
Staatsangehörigkeit	Deutsch

Beruflicher Werdegang

01/05-06/09	Doktorand am Leibniz-Institut für Neurobiologie Magdeburg, Abt. Neurophysiologie
01/02-10/04	Doktorand an der Martin-Luther-Universität Halle, Institut für Zoologie, Abt. Physiologie
06/00	Diplom-Biologe, Abschluss „gut“
01/99-01/00	Diplomarbeit zum Thema: „Untersuchungen zur Wanderaktivität und Schallausbreitung bei der Grille <i>Gryllus campestris</i> L.“
09/91	Studium der Biologie an der Universität Leipzig
09/87-08/89	Erweiterte Oberschule „Alexander von Humboldt“ Werdau, Abitur, Abschluss „sehr gut“
09/77-08/87	Allgemeinbildende Polytechnische Oberschule Werdau, Mittlere Reife, Abschluss „sehr gut“

Selbstständigkeitserklärung

Ich habe die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe angefertigt. Es wurden keine als die im Schriftverzeichnis angeführten Quellen benutzt. Sämtliche Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder unveröffentlichten Schriften entnommen wurden, sowie von anderen Personen bereitgestellten Materialien habe ich als solche gekennzeichnet.

Ich versichere, dass ich nicht die Hilfe eines Promotionsberaters in Anspruch genommen habe und das Dritte von mir keine geldwerten Leistungen für die Arbeit erhalten haben.

Ich habe diese Arbeit weder im In- noch Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer Prüfungsbehörde zum Zwecke der Promotion vorgelegt.

Leipzig, 20-Mai-2010

Frank Neugebauer