

**Verhaltenspharmakologische Untersuchungen zur
Auswirkung neonataler Läsionen des entorhinalen
Cortex auf kognitive Leistungen adulter Ratten**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

vorgelegt

dem Fachbereich 2 (Biologie/Chemie)

der Universität Bremen

von

Silke Schmadel

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Der entorhinale Cortex	1
1.1.1	Anatomie	1
1.1.2	Efferenzen und Afferenzen	3
1.1.2.1	Hippocampale Projektionen	3
1.1.2.2	Weitere subcorticale Projektionen	5
1.1.3	Entwicklung der Verbindungen	6
1.1.4	Aufgaben	7
1.2	Schizophrenie	8
1.2.1	Symptomatik	9
1.2.2	Ätiologie	13
1.2.3	Pathomorphologie	16
1.2.4	Transmittersysteme	19
1.2.4.1	Dopamin	19
1.2.4.2	Glutamat	21
1.2.4.3	Dopamin-Glutamat-Interaktionen	22
1.3	Tiermodelle	24
1.3.1	Pharmakologische Modelle	24
1.3.1.1	Dopamin-Rezeptor Agonisten	25
1.3.1.2	NMDA-Rezeptor-Antagonisten	26
1.3.2	Entwicklungsbiologische Modelle	30

1.4 Verhaltenstests	34
1.4.1 Arbeitsgedächtnis	35
1.4.2 Verhaltensflexibilität	37
1.4.3 Motivation	38
1.4.4 Lokomotorische Aktivität	40
1.4.5 Präpulsinhibition der akustisch ausgelösten Schreckreaktion	43
1.5 Ziel der Arbeit	46
2 Material und Methoden	49
2.1 Tiere	49
2.2 Neonatale Läsionen des entorhinalen Cortex	50
2.2.1 Vorversuche	50
2.2.2 Stereotaktische Läsion	51
2.3 Lernverhalten im 8-Arm Radial Maze	52
2.3.1 Aufbau des 8-Arm Radial Maze	52
2.3.2 Eingewöhnung	53
2.3.3 Belohnte Alternation	54
2.3.4 Egozentrisches Lernen	55
2.3.5 Allozentrisches Lernen	56
2.4 Verhaltensflexibilität im Cross Maze	58
2.4.1 Aufbau des Cross Maze	58
2.4.2 Eingewöhnung	59
2.4.3 Verhaltensflexibilität	59
2.4.3.1 Allozentrisches Lernen	60
2.4.3.2 Egozentrisches Lernen	61

2.5 Motivation in einem <i>progressive ratio</i> Test der operanten Konditionierung	62
2.5.1 Apparatur zur Messung des operanten Verhaltens	62
2.5.2 <i>Progressive ratio</i> Test	63
2.5.3 Futter-Präferenz Test	64
2.6 Lokomotorische Aktivität in der Aktivitätsbox	65
2.6.1 Apparatur zur Messung der lokomotorischen Aktivität	65
2.6.2 Lokomotorische Aktivität	66
2.7 Sensorimotorische Informationsverarbeitung	66
2.7.1 Apparatur zur Messung der Präpulsinhibition der akustisch ausgelösten Schreckreaktion	66
2.7.2 Präpulsinhibition der akustisch ausgelösten Schreckreaktion	67
2.8 Histologie	68
2.8.1 Gehirnpräparation und Anfertigung von Gewebeschnitten	68
2.8.2 Thionin-Färbung	69
2.8.3 Goldchlorid-Färbung	69
2.8.4 Immunhistochemie: Parvalbumin	70
2.8.5 Lokalisation der Läsionen und Bestimmung des Volumens des entorhinalen Cortex	72
2.8.6 Messung der Myelinisierungsstärke	74
2.8.7 Zählung der Parvalbumin-immunreaktiven Interneurone	76
2.9 Statistische Versuchsauswertung	77
2.9.1 Verhaltensversuche	77
2.9.2 Histologische Untersuchungen	78

2.10	Versuchsabläufe	78
2.10.1	Substanzen	78
2.10.1.1	Apomorphin	78
2.10.1.2	Dizocilpin	79
2.10.2	Versuchsgruppen und Zeitplan	79
2.10.3	Verhalten adulter Ratten nach akuter Apomorphin-Behandlung	81
2.10.4	Verhalten adulter Ratten nach chronischer Dizocilpin-Behandlung	81
3	Ergebnisse	84
3.1	Histologie	84
3.1.1	Lokalisation der Läsionen und Volumenbestimmung des entorhinalen Cortex	84
3.1.2	Messung der Myelinisierungsstärke	87
3.1.3	Zählung der Parvalbumin-immunreaktiven Interneurone	92
3.2	Lernverhalten im 8-Arm Radial Maze	97
3.2.1	Belohnte Alternation	97
3.2.2	Egozentrisches Lernen	100
3.2.3	Allozentrisches Lernen	103
3.3	Motivation in einem <i>progressive ratio</i> Test der operanten Konditionierung	105
3.3.1	<i>Progressive ratio</i> Test	105
3.3.2	Futter-Präferenz Test	108
3.4	Lokomotorische Aktivität in der Aktivitätsbox	110
3.4.1	Lokomotorische Aktivität in verschiedenen Entwicklungsstadien	110
3.4.2	Lokomotorische Aktivität nach Apomorphin	113

3.5 Sensorimotorische Informationsverarbeitung	115
3.5.1 Präpulsinhibition der akustisch ausgelösten Schreckreaktion	115
3.5.2 Präpulsinhibition der akustisch ausgelösten Schreckreaktion nach Apomorphin	117
3.6 Verhalten adulter Ratten nach chronischer Dizocilpin-Behandlung	119
3.6.1 Verhaltensflexibilität im Cross Maze	120
3.6.1.1 Training	120
3.6.1.2 Wechsel zwischen den gelernten Strategien	123
3.6.2 Lokomotorische Aktivität	128
3.6.3 Sensorimotorische Informationsverarbeitung	130
4 Diskussion	133
4.1 Histologie	133
4.1.1 Morphologie des entorhinalen Cortex	133
4.1.2 Myelinisierung in Projektionsgebieten	135
4.1.3 Parvalbumin-immunreaktive Interneurone	136
4.2 Lernverhalten im 8-Arm Radial Maze	139
4.2.1 Belohnte Alternation	139
4.2.2 Egozentrisches und allozentrisches Lernen	142
4.3 Verhaltensflexibilität im Cross Maze	145
4.4 Motivation	150
4.5 Lokomotorische Aktivität	153
4.6 Sensorimotorische Informationsverarbeitung	159

4.7 Validität als Tiermodell für psychische Erkrankungen	162
4.7.1 Neonatale Läsion des entorhinalen Cortex	164
4.7.1.1 Morphologie	164
4.7.1.2 Verhalten	165
4.7.2 Chronische Behandlung mit Dizocilpin	168
5 Zusammenfassung	170
6 Literatur	172

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ACh	Acetylcholin
AK	Antikörper
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionsäure
ANOVA	Varianzanalyse (<i>analysis of variance</i>)
AP	rostrocaudal (anterior-posterior)
APO	Apomorphin
APir	amygdalopiriformes Gebiet
Asc	Ascorbinsäure
ASR	akustisch ausgelöste Schreckreaktion
BDNF	<i>brain derived neurotrophic factor</i>
BLA	basolaterale Amygdala
BS	Hirnstamm (<i>brain stem</i>)
CA	Ammons Horn (<i>cornu ammonis</i>)
Cb	Cerebellum
cm	Zentimeter
CPu	Caudate putamen
CRF	<i>continuous reinforcement</i>
DA	Dopamin
DAB	3,3'-Diaminobenzidin-Lösung
DAT	Dopamin-Transporter
dB	Dezibel
DSC	Lamina Dissecans
DSM-IV	<i>Diagnostic and statistical manual of mental disorders</i>
EC	entorhinaler Cortex
g	Gramm
GABA	γ -Aminobuttersäure
GAD	Glutamat-Decarboxylase
Glu	Glutamat
GPe	Globus pallidus externus
GPi	Globus pallidus internus
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HIPP	Hippocampus
ICD-10	<i>International classification of diseases</i>
kcal	Kilokalorien
kg	Kilogramm
kHz	Kilohertz
L	lateral
LA	laterale Amygdala
lac mol	Stratum lacunosum moleculare
LEA	laterales entorhinales Areal

M	Mol
m	Meter
MAG	Myelin-assoziiertes Glycoprotein
MAM	Methylazoxymethanol Acetat
MEA	mediales entorhinales Areal
MED	mediale medulläre Formatio reticularis
min	Minute
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
ms	Millisekunden
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
n	Anzahl der Tiere
NA	Noradrenalin
NAA	N-Acetylaspartat
NAC	Nucleus accumbens
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
Ob	olfaktorischer Bulbus
oriens	Stratum oriens
PaS	Parasubiculum
PB	Phosphatpuffer
PBS	phosphatgepufferte Saline
PC	piriformer Cortex
PCP	Phencyclidin
PE	Perseverationsfehler (<i>perseveration error</i>)
PFC	präfrontaler Cortex
PMCo	Nucleus der posteriomedialen corticalen Amigdala
PNC	Nucleus reticularis pontis caudalis
PND	postnatal Tag
POR	postrhinaler Cortex
PPI	Präpulsinhibition
PPTg	pedunculopontiner tegmentaler Kern
PR	progressive ratio (Test der operanten Konditionierung)
PRh	perirhinaler Cortex
PV	Parvalbumin
PVC	Polyvinylchlorid
PVr	Parvalbumin-immunreaktiv
pyr	Stratum pyramidale
rad	Stratum radiatum
rf	rhinale Fissur
RM	Langzeitgedächtnis (<i>reference memory</i>)
RME	Langzeitgedächtnisfehler (<i>reference memory error</i>)

s.c.	subcutan
sec	Sekunde
S.E.M.	Standardfehler (<i>standard error of the mean</i>)
SNr	Substantia nigra pars reticulata
SPL	<i>sound pressure level</i>
STN	Nucleus subthalamicus
Tab.	Tabelle
TBS	Tris-gepufferte Saline
V	ventral
VG	Versuchsgruppe
VH	ventraler Hippocampus
Vol	Volumen
VP	ventrales Pallidum
VTA	ventrales tegmentales Areal
WCST	Wisconsin Card Sorting Test
WM	Arbeitsgedächtnis (<i>working memory</i>)
WME	Arbeitsgedächtnisfehler (<i>working memory error</i>)
WPE	wiederholter Perseverationsfehler (<i>working-perseveration error</i>)
WRME	wiederholter Langzeitgedächtnisfehler (<i>working-reference-memory error</i>)
ZNS	zentrales Nervensystem

1 Einleitung

1.1 Der entorhinale Cortex

Der entorhinale Cortex (EC) befindet sich als Teil des Parahippocampus im medialen Temporallappen des Säugergehirns [AKIL & LEWIS, 1997]. Aufgrund seiner engen anatomischen Verbindungen mit dem Hippocampus (HIPPO) und dem Neocortex (siehe 1.1.2.1) spielt er eine wichtige Rolle bei der Kommunikation zwischen diesen beiden Gebieten [DOLORFO & AMARAL, 1998a; WITTER *ET AL.*, 1989]. Zusätzlich bestehen zahlreiche weitere subcorticale Verbindungen, vor allem zum Nucleus accumbens (NAC; siehe 1.1.2.2). Es wird vermutet, dass eine der Hauptfunktionen des EC die Unterstützung hippocampaler Funktionen, wie z.B. räumliche Gedächtnisleistungen, ist. Desweiteren ist der EC über seine Projektionen zum NAC an der Regulation der Motivation, der lokomotorischen Aktivität sowie der sensorimotorischen Informationsverarbeitung beteiligt (siehe 1.1.4).

1.1.1 Anatomie

Der EC der Ratte befindet sich in ventrocaudaler Lage in den cerebralen Hemisphären (Abb.1). Er liegt ventral der rhinalen Fissur und wird dorsal vom perirhinalen sowie postrhinalen Cortex, medial vom Parasubiculum und rostral vom piriformen Cortex und dem amygdaloiden Komplex begrenzt [BURWELL & AMARAL, 1998; DOLORFO & AMARAL, 1998b]. Der EC besteht aus sechs Schichten, die sich hinsichtlich ihrer Neuronenzahl, Neuronengröße sowie der Anordnung der Zellen unterscheiden [INSAUSTI *ET AL.* 1995; KRIMER *ET AL.* 1997]. Vier seiner Schichten sind zellulär (Schicht II, III, V und VI) und zwei azellulär (Schicht I und IV), wobei Schicht IV als Lamina dissecans bezeichnet wird.

Die Nomenklatur des EC wurde von Brodmann [BRODMANN, 1909] eingeführt, der den EC des Menschen aufgrund zytoarchitektonischer Kriterien in einen lateralen Bereich 28a (*lateral entorhinal area*; LEA) und einen medialen Bereich 28b (*medial entorhinal area*; MEA) unterteilte. MEA nimmt eine caudomediale Position innerhalb des EC ein, während LEA rostralateral zu MEA gelegen ist (Abb.1). Eine Abgrenzung des LEA vom MEA ist anhand der Zytoarchitektur möglich, die sowohl beim Menschen

als auch bei der Ratte komplex und äußerst variabel ist [HEINSEN *ET AL.* 1996; DOLORFO & AMARAL, 1998a]. Unterschiede bestehen bei der Ratte vor allem in Schicht II, die in LEA wesentlich dünner ist als in MEA und aus dunkel gefärbten, mittelgroßen, ovalen Zellen aufgebaut ist, die in Clustern angeordnet sind. Die Zellen der Schicht II sind in MEA groß, rund, schwach gefärbt und liegen dicht beieinander. Zusätzlich fehlt in LEA eine gut ausgebildete Lamina dissecans (Abb.2) [DOLORFO & AMARAL, 1998a].

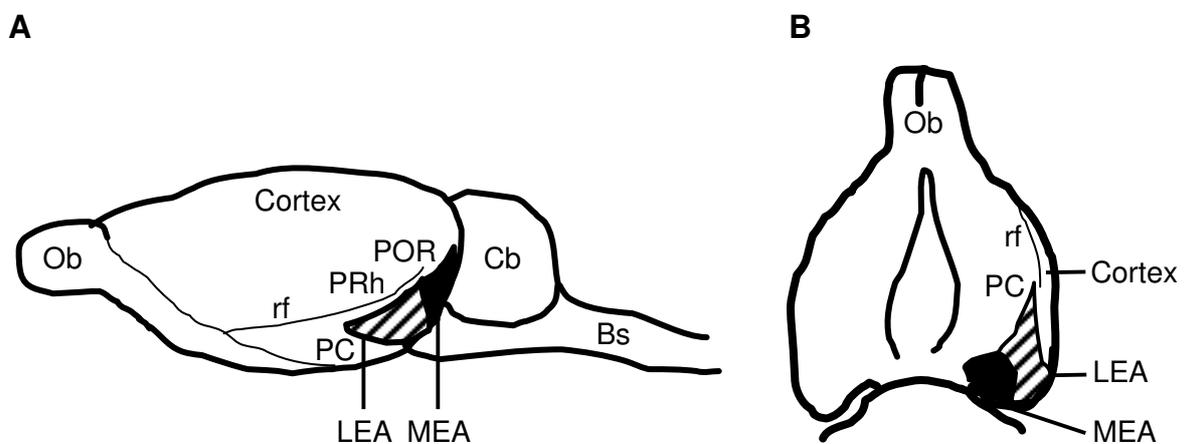


Abb.1: Lokalisation des entorhinalen Cortex im Rattengehirn und Position des lateralen (LEA; schraffierte Fläche) sowie medialen Areals (MEA; schwarze Fläche) in einer Lateral- (A) und Ventralansicht (B).

Abkürzungen: Bs – Hirnstamm; Cb – Cerebellum; LEA – laterales entorhinales Areal; MEA – mediales entorhinales Areal; Ob – Olfaktorischer Bulbus; PC – piriformer Cortex; POR – postrhinaler Cortex; PRh – perirhinaler Cortex; rf – rhinale Fissur.

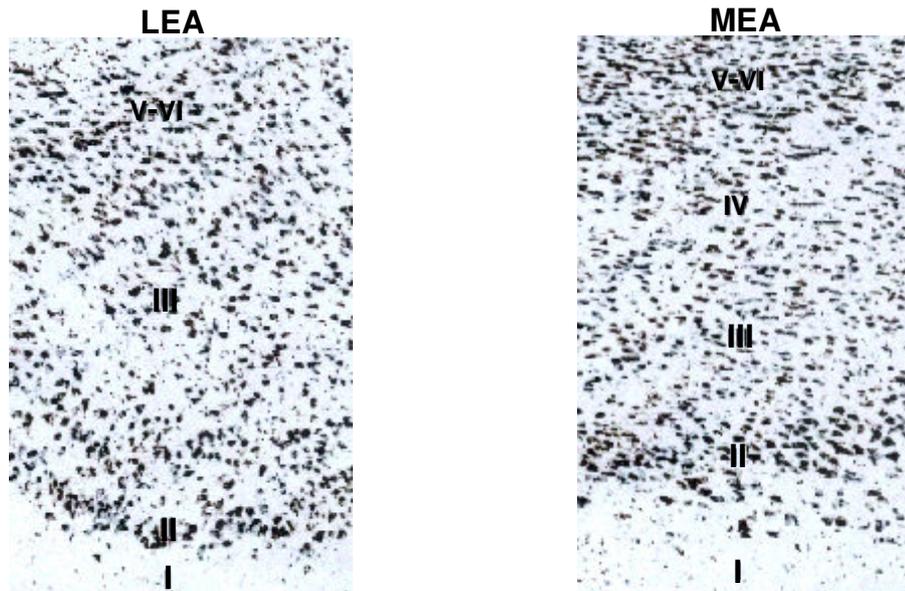


Abb.2: Zytoarchitektonische Schichten im lateralen (LEA) und medialen (MEA) Areal des entorhinalen Cortex bei der Ratte. Beide Gebiete können aufgrund der unterschiedlichen Zellanordnung vor allem in Schicht II sowie der fehlenden Lamina dissecans (Schicht IV) in LEA unterschieden werden [aus: DOLORFO & AMARAL, 1998a].

1.1.2 Efferenzen und Afferenzen

Der EC ist mit weiten Teilen des telencephalischen Cortex, einschließlich einem Großteil des limbischen Cortex, sowie mit weiten Teilen des Assoziationscortex reziprok verbunden.

1.1.2.1 Hippocampale Projektionen

Es ist seit langem bekannt, dass die wichtigsten afferenten Projektionen zum HIPP (Gyrus dentatus; Ammon's Horn) und Subiculum dem EC entspringen (Abb.3). Diese hauptsächlich glutamatergen Projektionen wurden von Ramón y Cajal entdeckt und als *perforant path* (Tractus perforans) bezeichnet [RAMÓN Y CAJAL, 1901; RAMÓN Y CAJAL, 1911]. Er entspringt aus den Neuronen des EC. Seine hauptsächlich erregenden Axone enden auf den Körnerzellen im Hilus des Gyrus dentatus. Die Axone dieser Körnerzellen bilden nun ihrerseits ein Faserbündel (Moosfasern), welches zu den Pyramidenzellen in der CA3-Region (Ammon's Horn; *cornu ammonis*) des HIPP verläuft. Von dort aus ziehen erregende Axonkollaterale (Schaffer-Kollaterale) zu den Pyramidenzellen der CA1-Region, deren Axone wiederum zum

Subiculum projizieren. Die Signale gelangen dann zurück in den EC, der seinerseits weiter zum Neocortex projiziert [BENES, 1999; KLOOSTERMAN *ET AL.*, 2003]. Diese reziproken Verbindungen stellen somit nicht nur einen corticalen Eingang zum HIPP dar, sondern ermöglichen es diesem umgekehrt auch neocorticale Strukturen zu modulieren [AMARAL & WITTER, 1995; WITTER *ET AL.*, 1989].

Es wurde lange angenommen, dass die äußeren Schichten I – III des EC Neurone mit Projektionen zum HIPP und die tieferen Schichten V und VI Neurone mit Afferenzen vom HIPP enthalten. Neuere anatomische und elektrophysiologische Daten lassen jedoch vermuten, dass diese funktionelle Einteilung des EC nicht länger haltbar ist [SEWARDS & SEWARDS, 2003]. Die Projektionsneurone des LEA und MEA weisen vor allem in Schicht II zusätzlich zu den anatomischen Unterschieden verschiedene Feuermuster auf. Außerdem resultiert eine Stimulation der medialen und lateralen Projektionen zum HIPP in quantitativ und qualitativ unterschiedlichen erregenden postsynaptischen Potentialen in den Zellen des Gyrus dentatus. Daher wird neuerdings vermutet, dass LEA als Eingangs- und MEA als Ausgangsstruktur für die Verbindung mit dem HIPP dient [SEWARDS & SEWARDS, 2003; WANG & LAMBERT, 2003].

Eine Unterbrechung dieser Verbindungen trennt somit den HIPP von dem Großteil seiner corticalen Eingänge. Es wurde gezeigt, dass Läsionen des *perforant path* eine anterograde Degeneration der entorhinalen Fasern im Stratum lacunosum moleculare der CA1-Region des HIPP sowie einen Verlust von bis zu 90% aller Synapsen innerhalb der äußeren Molekularschicht des Gyrus dentatus induzieren [BERGMANN *ET AL.*, 1997; DELLER & JUCKER, 2001].

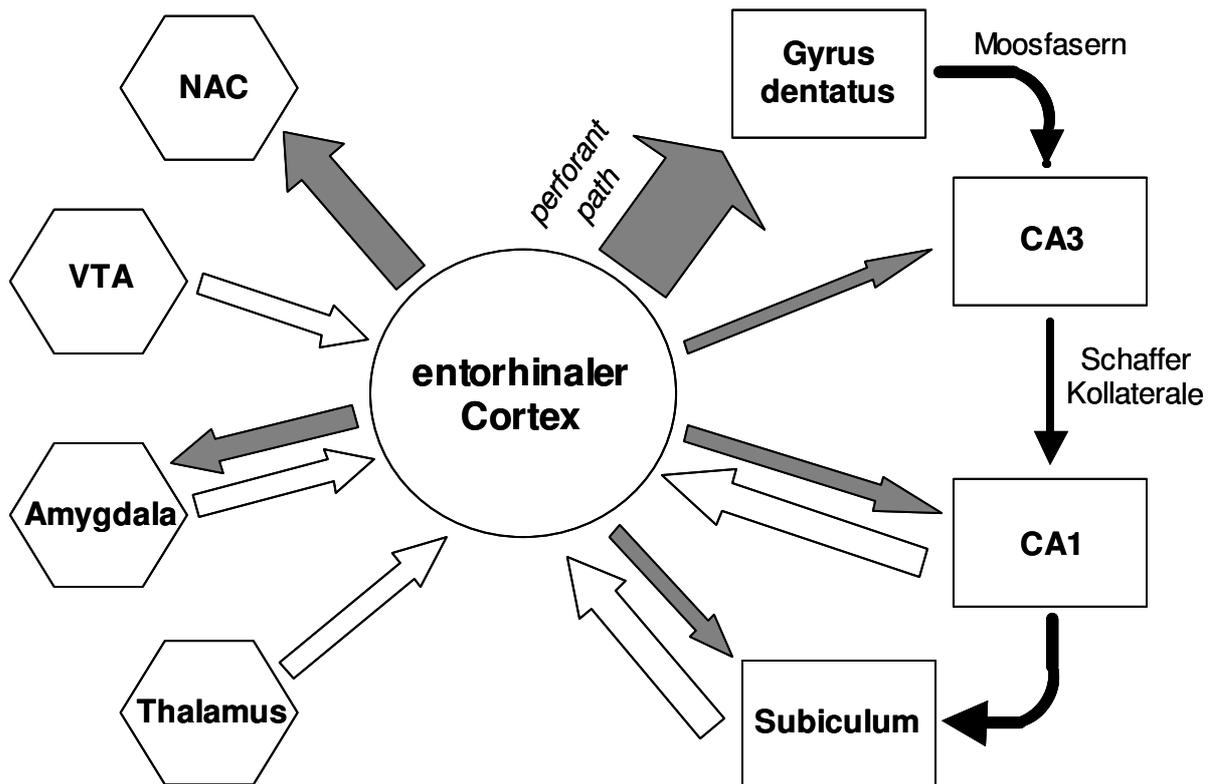


Abb.3: Schematische Darstellung der wichtigsten Afferenzen (weiße Pfeile) und Efferenzen (graue Pfeile) zwischen dem entorhinalen Cortex und der Hippocampusformation (Gyrus dentatus, CA3, CA1, Subiculum) sowie weiteren subcorticalen Strukturen (Nucleus accumbens [NAC], ventrales tegmentales Areal [VTA], Amygdala, Thalamus). Zusätzlich sind die Verbindungen innerhalb des Hippocampus dargestellt (schwarze Pfeile).

1.1.2.2 Weitere subcorticale Projektionen

Der EC ist nicht nur eng mit dem HIPP verbunden, sondern projiziert zusätzlich zu verschiedenen weiteren subcorticalen Strukturen (Abb.3) [WITTER *ET AL.*, 1989]. Eine der wichtigsten Verbindungen stellt dabei vermutlich die glutamaterge Projektion zum NAC dar [KRAYNIAK *ET AL.*, 1981; TOTTERDELL & MEREDITH, 1997]. Elektrophysiologische und neurochemische Analysen haben ergeben, dass eine Stimulation entorhinaler Neurone die Aktivität der Ausgangsneurone des NAC modulieren kann [FINCH *ET AL.*, 1995]. Der NAC erhält jedoch nicht nur einen Eingang aus dem EC sondern zusätzlich auch glutamaterge Projektionen vom HIPP, dem Subiculum und der Amygdala, welche vermutlich in der Shell Region des NAC mit denen des EC überlappen [MEREDITH *ET AL.*, 1990 ; WITTER *ET AL.*, 1989]. Diese glutamatergen Projektionen interagieren mit mesolimbischen dopaminergen Fasern,

die vom ventralen tegmentalen Areal (VTA) zum NAC verlaufen (siehe 1.2.4.3) [CSERNANSKY & BARDGETT, 1998].

Eine wichtige Bedeutung kommt auch der reziproken Projektion zur Amygdala zu. Da der EC sowohl eine Verbindung zum HIPP als auch zur Amygdala besitzt, können diese beiden Regionen über den EC miteinander interagieren. Die Projektionen vom EC zur Amygdala stammen aus den tieferen Schichten des EC (Schicht V und VI). Da die Projektionen, die vom HIPP zurück zum EC verlaufen, hauptsächlich in diesen tiefen Schichten enden, können sie mit den Zellen interagieren, aus denen die Projektionen zur Amygdala stammen. Umgekehrt enden die Projektionen aus der Amygdala in den äußeren Schichten des EC (Schicht I – III), die wiederum zum HIPP projizieren. Da die laterale Amygdala keine direkten Projektionen zur Hippocampusformation besitzt und die anderen Kerne der Amygdala nur zum Subiculum, nicht aber zum Gyrus dentatus projizieren, übt die Amygdala ihren Einfluss auf den HIPP vermutlich über den EC aus [WITTER *ET AL.*, 1989]. In der Tat wurde in elektrophysiologischen Studien bei der Ratte nachgewiesen, dass die Amygdala in der Lage ist, die Aktivität im HIPP zu beeinflussen. Diese Experimente ergaben, dass eine Stimulation der lateralen Amygdala eine über den *perforant path* hervorgerufene Aktivität des Gyrus dentatus verstärkt [THOMAS *ET AL.*, 1984].

1.1.3 Entwicklung der Verbindungen

Die Entwicklung des cerebralen Cortex ist ein komplexer Prozess, der über mehrere Stadien abläuft, die zu unterschiedlichen prä- und postnatalen Zeitpunkten stattfinden. Beim Menschen erfolgt ein Großteil der Hirnentwicklung, wie z.B. die Bildung der Neurone (Neurogenese), das Zellwachstum (Proliferation) sowie die Wanderung der Neurone zu ihrem Zielort (Migration) pränatal. Einige Entwicklungsschritte, wie z.B. die Zelldifferenzierung, finden jedoch auch teilweise in der frühen postnatalen Periode statt [RICE & BARONE, 2000]. Die Bildung der Synapsen (Synaptogenese; *brain growth spurt*) innerhalb und zwischen den corticalen Strukturen und ihren subcorticalen Afferenzen reicht sogar vom sechsten Monat der Schwangerschaft bis einige Jahre nach der Geburt [KESHAVAN & HOGARTY, 1999]. Während der Pubertät kommt es schließlich zur endgültigen Ausreifung des Nervensystems. Diese Periode ist gekennzeichnet durch zahlreiche Umbauprozesse und den Abbau überzähliger Synapsen (*pruning*). Die Myelinisierung der Verbindungen zwischen dem Cortex und dem HIPP zieht sich sogar durch die Kindheit hindurch bis in die Adoleszenz [ARNOLD

& RIOUX, 2001; RICE & BARONE, 2000], wobei in der zweiten Lebensdekade ein starker Anstieg der Myelinisierung der Fasern in der superioren Lamina der Medulla (*superior medullary lamina*) entlang des medialen Temporallappens auftritt [BENES *ET AL.*, 1994; BENES, 2000]. Dieses Gebiet besitzt unter anderem Fasern zum *perforant path*. Somit erfolgt die Myelinisierung des wichtigsten corticolimbischen afferenten Systems, welches zum HIPP projiziert, erst während der Adoleszenz.

Bei der Ratte treten im Gegensatz zum Menschen viele Entwicklungsschritte nicht prä- sondern postnatal auf [RICE & BARONE, 2000]. Tatsächlich entspricht die neuronale Entwicklung bei der Ratte zum Zeitpunkt der Geburt in etwa der Entwicklung im zweiten Trimester der Schwangerschaft bei Primaten [FINLAY, 2001]. Während der Entwicklung des entorhinalen-hippocampalen Systems bei Ratten senden Pyramidenzellen der Schichten II und III des EC ihre Fasern über den *perforant path* in die äußere Molekularschicht des Gyrus dentatus und in das Stratum lacunosum moleculare der CA-Regionen. Die ersten Axone des EC erreichen den Gyrus dentatus bereits am embryonalen Tag 19 [MEIER *ET AL.*, 2004], während weitere Fasern des *perforant path* um postnatal Tag fünf (PND 5) gebildet werden. Immunhistochemische Studien ergaben, dass die Myelinisierung der Fasern jedoch erst zwischen PND 10 und PND 15 beginnt. Dies wurde durch das Auftreten Myelin-assoziiierter Glycoproteine (MAG), deren Expression erst in der Adoleszenz (PND 60) abgeschlossen ist, nachgewiesen [BAUMANN & PHAM-DINH, 2001; SAVASKAN *ET AL.*, 1999; SUZUKI & RAISMAN, 1994].

1.1.4 Aufgaben

Der EC ist aufgrund seiner zahlreichen Verbindungen an der Regulation einer Vielzahl verschiedener Funktionen beteiligt. Er stellt eine wichtige Zwischenstation für die Kommunikation zwischen Neocortex und HIPP dar. Da eine der Hauptfunktionen des HIPP die Regulation räumlichen Lernens ist, insbesondere des Arbeitsgedächtnisses (*working memory*; WM) [JARRARD, 1993; JARRARD, 1995; WARD *ET AL.*, 1999], kann der EC über diese hippocampalen Verbindungen räumliche Gedächtnisleistungen modulieren. Es wurde in verschiedenen Studien gezeigt, dass adulte Läsionen des EC oder eine Transektion des *perforant path* im T-Maze und im Radial Maze ähnliche Dysfunktionen des räumlichen Lernens induzieren wie eine HIPP-Läsion [BANNERMAN *ET AL.*, 2001; HÖLSCHER & SCHMIDT, 1994; POUZET *ET AL.*, 1999]. Die Ergebnisse bildgebender Verfahren haben allerdings gezeigt, dass die Codierung neuer

räumlicher Informationen mit einer Aktivität im Parahippocampus, nicht jedoch im HIPP selbst, verbunden ist [EPSTEIN *ET AL.*, 1999; MAGUIRE *ET AL.*, 1999]. Dies deutet darauf hin, dass der EC nicht nur über die Beeinflussung hippocampaler Funktionen sondern auch unabhängig vom HIPP räumliches Lernen regulieren kann. Es wird außerdem vermutet, dass der EC an der Akquisition (Lernen), der Konsolidierung (Überführung der Informationen in das Langzeitgedächtnis) sowie dem Wiederabrufen von Informationen, für die insbesondere das WM eine Rolle spielt, beteiligt ist [YOUNG *ET AL.*, 1997].

Der EC ist jedoch nicht nur an der Regulation des räumlichen Lernens beteiligt, sondern kann über limbisch-striatale Bahnen die Dopamin (DA) Freisetzung im NAC regulieren und dadurch motivationale Prozesse, lokomotorische Aktivität sowie die sensorimotorische Informationsverarbeitung beeinflussen [GALANI *ET AL.*, 1998].

1.2 Schizophrenie

Die Psychiater Emil Kraepelin und Eugen Bleuler beschrieben zu Beginn des 20. Jahrhunderts erstmals eine schwere psychische Erkrankung, die durch verschiedene Verhaltensstörungen charakterisiert ist, deren Differenzierung in klar abgrenzbare Subgruppen bis heute nicht endgültig gelungen ist [BLEULER, 1911; KRAEPELIN *ET AL.*, 1919]. Kraepelin bezeichnete diese Erkrankung als „Dementia praecox“ (Dementia: geistiger Verfall; praecox: früher Beginn), Bleuler nannte sie „Schizophrenie“. Als besonders charakteristisch galt ein Aufmerksamkeitsdefizit sowie die Unfähigkeit klar, fließend und logisch zu denken. Heute werden die Schizophrenien aufgrund der komplexen Symptomatik (siehe 1.2.1) anhand des „Diagnostic and statistical manual of mental disorders“ (DSM-IV) [AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994] oder der „International classification of diseases“ (ICD-10) [WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992] in verschiedene Subgruppen eingeteilt (Box 1).

Diese schwere psychische Erkrankung trifft Menschen jeden Geschlechts sowie aller sozialer Schichten und Nationalitäten im frühen Erwachsenenalter und ruft lebenslange Dysfunktionen hervor, die die Lebensqualität der Patienten stark beeinträchtigen [ANDREASEN, 2000; BAYER *ET AL.*, 1999]. Eine Remission, d.h. eine Rückkehr zum prämorbidem Leistungsniveau, tritt nur selten auf. Der große

Leidensdruck dieser Erkrankung spiegelt sich in der Suizidrate wider, die bei etwa 10% liegt [AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994].

Box 1: Subtypen der Schizophrenie nach DSM-IV
[AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994]

Katatoner Typus

Psychomotorische Störungen (z.B. motorische Unbeweglichkeit oder übermäßige motorische Aktivität, Haltungstereotypien)

Hebephrener/Desorganisierter Typus

Schwerwiegendste Form der Schizophrenie: Zerfahrenheit, desorganisiertes Verhalten (z.B. Verlust der Zielorientierung), flacher und inadäquater Affekt, soziale Zurückgezogenheit, kognitive Funktionen können beeinträchtigt sein

Paranoider Typus

Leichteste Form der Schizophrenie: Wahn, auditorische Halluzinationen, Angst, Aggressivität, kognitive Funktionen weitgehend unbeeinträchtigt

Undifferenzierter Typus

Wahn, Halluzinationen, Zerfahrenheit, desorganisiertes Verhalten

Residualer Typus

Emotionale Abstumpfung, soziale Zurückgezogenheit, exzentrisches Verhalten, unlogisches Denken, nach mindestens einer schizophrenen Episode weisen Patienten keine auffallenden positiven Symptome mehr auf, Negativsymptomatik bleibt bestehen.

1.2.1 Symptomatik

Die einzelnen Subtypen der Schizophrenie können jeweils nicht durch ein einzelnes Symptom charakterisiert werden. Es tritt vielmehr eine Vielzahl verschiedener Symptome auf, die mit beruflichen und sozialen Leistungsbeeinträchtigungen einhergehen, wobei das Muster der Symptomatik zwischen den Patienten variieren kann [AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994; ANDREASEN, 2000]. Es erfolgt in der Regel eine Einteilung in positive (Typ-I; produktive Symptome) und negative (Typ-II; Mangelsymptome) Symptome. Zusätzlich können kognitive Defizite auftreten [HARRISON, 1999].

Eine Positivsymptomatik bezeichnet das Auftreten verschiedener Phänomene, die im gesunden Individuum nicht beobachtet werden können. Hierzu zählen Halluzinationen, Wahnvorstellungen, bizarres Verhalten und Katatonie (Box 2). Die

Negativsymptomatik ist gekennzeichnet durch den Verlust normalerweise auftretender Funktionen, wie z.B. Anhedonie, Alogie, Apathie/Avolition, Affektverflachung, Willensschwäche und sozialen Rückzug (Box 2) [ANDREASEN *ET AL.*, 1995; ANDREASEN, 2000]. Bei manchen Schizophrenen treten nur positive oder nur negative Symptome auf. In der Regel besteht jedoch eine Kombination beider Typen.

Box 2: Positive und negative Symptome der Schizophrenie nach DSM-IV
[AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994]

Positivsymptomatik

- Halluzinationen (meist auditorisch: Stimmen, die getrennt von den eigenen Gedanken des Betroffenen wahrgenommen werden)
- Wahnvorstellungen (Verzerrungen oder Überspitzungen des schlussfolgernden Denkens sowie Fehldeutung von Wahrnehmungen und Erfahrungen)
- Bizarres Verhalten (äußert sich z.B. in seltsamer Kleidung oder in unangepasstem Sozialverhalten. Häufig Aggressivität oder Hyperaktivität mit stereotypen Verhaltensweisen)
- Katatonie
 - o Stupor (ausgeprägtes Nachlassen der Reaktion auf die Umgebung, die teilweise nicht mehr bewusst wahrgenommen wird)
 - o Rigidität (Verharren in einer steifen Körperhaltung mit spürbarem Widerstand bei Bewegungsversuchen)
 - o Negativismus (aktiver Widerstand gegenüber Aufforderungen eine Bewegung durchzuführen)
 - o Haltungsstereotypien (Einnahme inadäquater oder bizarrer Körperhaltungen)
 - o Erregung (sinnlose, nicht durch äußere Reize hervorgerufene, übermäßige motorische Aktivität)

Negativsymptomatik

- Anhedonie (Verlust der Freude; daraus resultierend: sozialer Rückzug)
- Alogie (Sprachstörungen gekennzeichnet durch Sprachverarmung und Blockade des Sprachflusses)
- Apathie/Avolition (Antriebslosigkeit/Verlust der Motivation)
- Affektverflachung (Einschränkung der Intensität des Gefühlsausdruckes)
- Willensschwäche (Unfähigkeit zielgerichtetes Verhalten einzuleiten und durchzuhalten)
- Sozialer Rückzug (Unfähigkeit zwischenmenschliche Beziehungen einzugehen)

Neben dieser Positiv- und Negativsymptomatik weisen viele der Patienten kognitive Defizite auf, die häufig die Basis für die klinisch im Vordergrund stehend positive und negative Symptome der Schizophrenie bilden [CAPLETON, 1996; VORUGANTI *ET AL.*, 1997]. Besonders hervorstechend sind dabei Dysfunktionen des WM und des Wiedererkennungsgedächtnisses. Zusätzlich treten häufig Aufmerksamkeitsdefizite auf, die durch die Unfähigkeit wichtige Informationen auszufiltern und zuzuordnen, folgerichtig zu denken und die Aufmerksamkeit oder das Handeln auf ein bestimmtes Ziel auszurichten, gekennzeichnet sind [AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994; GOLDBERG & GOLD, 1995]. Dieser Störung liegt vermutlich ein Defizit bei der sensorimotorischen Informationsverarbeitung (*sensorimotor gating*) zugrunde [GEYER *ET AL.*, 2001]. Auffällig ist, dass Patienten mit hauptsächlich negativer Symptomatik stärkere kognitive Defizite zeigen als Patienten mit hauptsächlich positiver Symptomatik [GOLDBERG & GOLD, 1995]. Da die Symptomatik der Schizophrenie sehr vielschichtig ist und die Symptome in ein und demselben Patienten gleichzeitig oder abwechselnd in unterschiedlichen Kombinationen auftreten können, ist es schwierig, pathomorphologische Befunde (siehe 1.2.3) mit den klinischen Subtypen der Schizophrenie in Zusammenhang zu bringen. Es wird allerdings vermutet, dass strukturelle Veränderungen eher mit der Negativsymptomatik verbunden sind, während die Positivsymptomatik vermutlich hauptsächlich auf biochemischen Dysfunktionen beruht [LIDDLE, 1995]. Im Folgenden werden nun einige ausgewählte kognitive Dysfunktionen schizophrener Patienten genauer beschrieben.

Arbeitsgedächtnis

Das Arbeitsgedächtnis (*working memory*; WM) speichert Informationen zeitlich begrenzt, um verzögerte Handlungen auszuführen und ist deshalb besonders wichtig für komplexe kognitive Aufgaben, wie z.B. Sprachverständnis, Lernen, Problemlösung und schlussfolgerndes Handeln [BADDELEY, 1992]. Der *n-back task* wird beim Menschen häufig zur Überprüfung der WM-Leistungen eingesetzt (Abb.4A). Bei diesem Test wird dem Probanden eine Zahl kurz auf einem Bildschirm präsentiert (Stimulusreiz). Nach einer zeitlichen Verzögerung wird eine weitere Zahl präsentiert (Zielreiz). Der Proband soll nun angeben, ob es sich um die gleiche Zahl wie zuvor handelt (*1-back*). Zur Steigerung der Anforderung an das WM werden dann zwischen zwei identischen Zahlen ein (*2-back*) oder mehrere (*n-back*) andere Zahlen

(Distraktoren) präsentiert und der Proband soll angeben, wann sich die zuerst präsentierte Zahl wiederholt. Dieser Test stellt eine hohe Anforderung an das WM, da der Proband sich die relevante Zahl über einen bestimmten Zeitraum merken muss, auch wenn zwischen dem Stimulusreiz und dem Zielreiz andere, nicht-relevante Zahlen präsentiert werden. Schizophrene Patienten weisen bei diesem Test ein deutliches WM-Defizit auf. Je größer der Abstand zwischen den identischen Zahlen ist, desto mehr Fehler werden gemacht. Dies deutet darauf hin, dass Schizophrene nicht in der Lage sind, eine Information über einen bestimmten Zeitraum im WM aufrechtzuerhalten und diese dann später wieder abzurufen und folgerichtig einzusetzen [POCHON *ET AL.*, 2002].

Verhaltensflexibilität

Ein weiteres charakteristisches Merkmal bei Schizophrenen ist die Unfähigkeit sinnvolle Handlungspläne zu entwerfen und abstrakte Problemstellungen zu bewältigen, wenn die Lösung nicht offensichtlich ist. Einmal erlernte Assoziationen und Denkgewohnheiten sind mitunter so fest verankert, dass ein Neukombinieren bestehenden Wissens oft nicht möglich ist. Diese Defizite werden den sogenannten Exekutivfunktionen zugeordnet und können beim Menschen mit Hilfe des *Wisconsin Card Sorting Test* (WCST) erfasst werden (Abb.4B). Dieser Test stellt Anforderungen an die Abstraktionsleistung, die Aufmerksamkeit sowie an das WM [GOLDBERG & GOLD, 1995]. Im Verlauf dieses Tests muss der Proband Karten, die verschiedene Muster unterschiedlicher Farben und Anzahl zeigen, nach einer bestimmten Regel sortieren. Die Regel für das Sortieren der Karten wird dann gewechselt, wobei der Proband von dem Regelwechsel nur durch positive oder negative Rückmeldung erfährt. So soll der Proband beispielsweise zunächst die Karten nach Farbe und anschließend nach Muster sortieren. Schizophrene Patienten zeigen bei diesem Test deutliche Defizite hinsichtlich der Fähigkeit zwischen verschiedenen Regeln zu wechseln. Sie zeigen hierbei ein deutliches Perseverationsverhalten, das gekennzeichnet ist durch ein Beharren auf einer einmal eingeschlagenen Strategie, auch wenn diese mittlerweile unangemessen und nicht mehr erfolgsversprechend ist [GOLDBERG & GOLD, 1995].

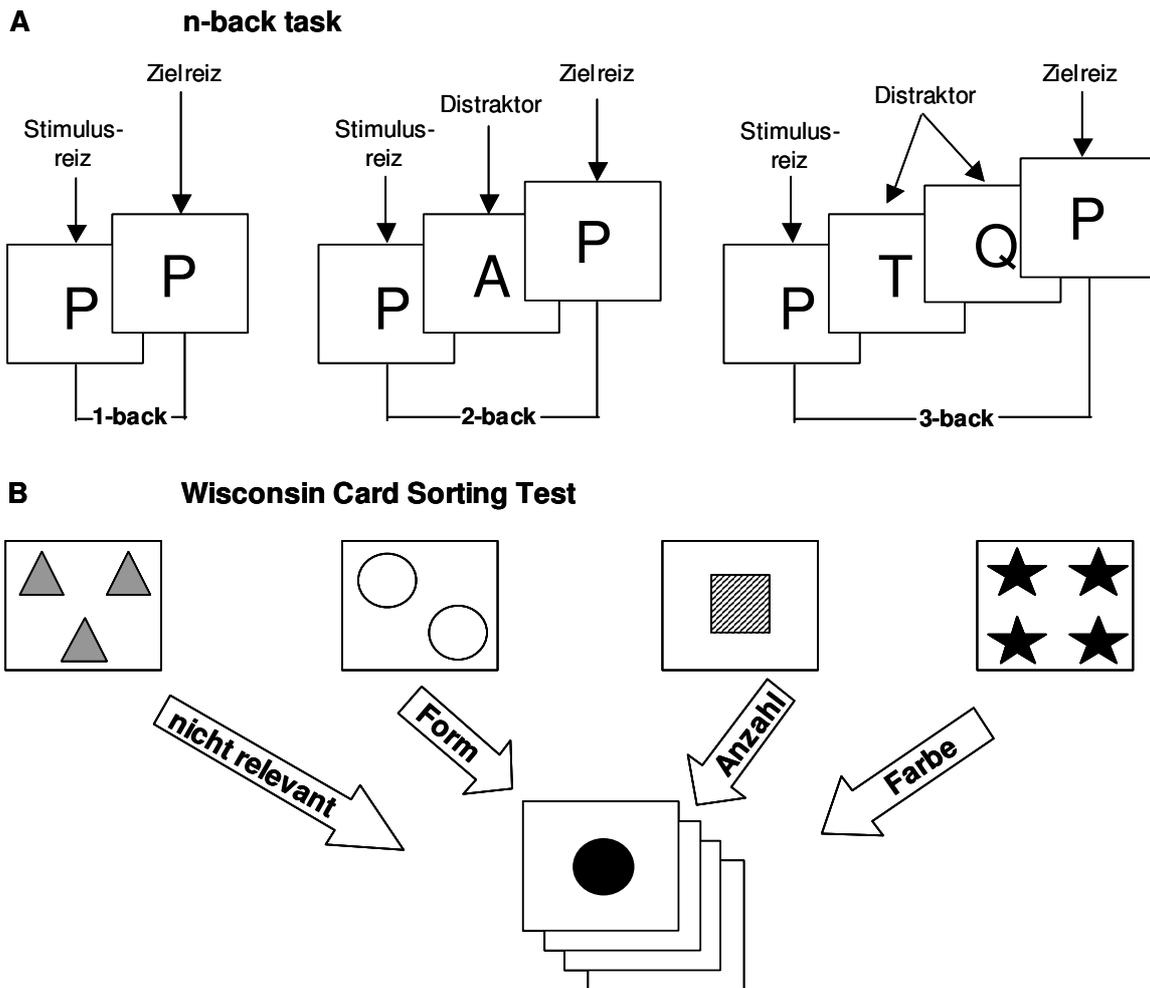


Abb.4: Schematische Darstellung des *n-back task* zur Überprüfung des Arbeitsgedächtnisses (A) und des *Wisconsin Card Sorting Test* zur Messung der Exekutivfunktionen (B). Erklärung siehe Text.

1.2.2 Ätiologie

Die Ätiologie der Schizophrenie ist in weiten Teilen noch unklar. Man geht jedoch heute aufgrund neuroanatomischer, bildgebender und epidemiologischer Studien davon aus, dass es sich bei dieser Erkrankung um eine Entwicklungsstörung handelt, die prä- und perinatal sowohl von genetischen, physiologischen als auch psychologischen Faktoren beeinflusst wird [DUNCAN *ET AL.*, 1999].

Obwohl bisher kein einzelnes Gen für das Risiko an Schizophrenie zu erkranken gefunden wurde [BAYER *ET AL.*, 1999; HARRISON, 1999; LOPES-MACHADO & DUARTE, 2000], deuten Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien darauf hin, dass eine genetische Prädisposition für das Auftreten dieser Erkrankung besteht. Während die

Erkrankungswahrscheinlichkeit in der normalen Bevölkerung bei etwa 1% liegt, haben die Verwandten ersten Grades von Schizophrenen ein ungefähr zehnfach höheres Risiko an dieser psychischen Störung zu erkranken als die Allgemeinbevölkerung, auch wenn die Kinder von nicht-schizophrenen Pflegeeltern aufgezogen werden. Das Erkrankungsrisiko steigt nochmals erheblich, wenn beide Eltern an Schizophrenie erkrankt sind oder wenn es sich bei dem Erkrankten und dem Verwandten um eineiige Zwillinge handelt. Hierbei liegt die Wahrscheinlichkeit, dass beide Zwillinge betroffen sind, bei etwa 46%. Bei zweieiigen Zwillingen liegt das Risiko bei etwa 14% und damit im Rahmen der Inzidenzrate gewöhnlicher Geschwister. Sie ist aber immer noch ungefähr zehnmal höher als bei der Gesamtbevölkerung (Abb.5) [ANDREASEN, 2000].

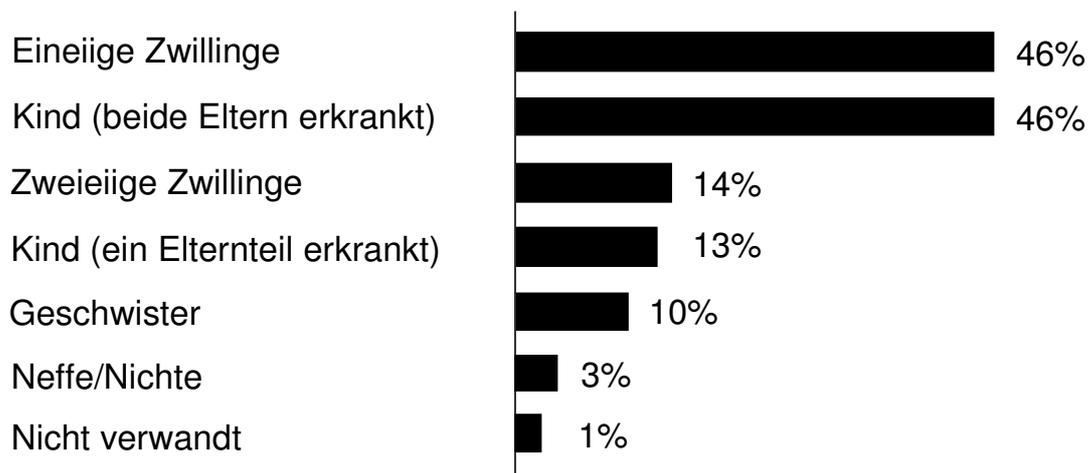


Abb.5: Risiko im Laufe des Lebens an einer Schizophrenie zu erkranken. Die Erkrankungswahrscheinlichkeit steigt mit dem genetischen Verwandtschaftsgrad. Abgeändert nach [KANDEL ET AL., 1996].

Die Tatsache, dass die Erkrankungswahrscheinlichkeit bei eineiigen Zwillingen trotz genetischer Identität bei nur 46% liegt, deutet darauf hin, dass neben den erblichen Faktoren Umweltfaktoren eine wichtige Rolle spielen. Epidemiologische Untersuchungen zeigten, dass bei schizophrenen Patienten vermehrt aversive Umwelteinflüsse während des zweiten Trimesters der Schwangerschaft auftreten, welche sich negativ auf die Hirnentwicklung auswirken können. Zu diesen Risikofaktoren zählen unter anderem Fehl- oder Mangelernährung, Infektionen (z.B. Influenza), Drogen- oder Alkoholkonsum sowie Stress der Mutter (z.B. Tod eines

Familienangehörigen, ungewollte Schwangerschaft). Zusätzlich können auch Geburtskomplikationen (Anoxie, extrem langer Geburtsverlauf) einen Einfluss auf die Hirnentwicklung haben [BAYER *ET AL.*, 1999; LOBATO *ET AL.*, 2001; McDONALD & MURRAY, 2000]. Der Ausbruch der Krankheit liegt jedoch gewöhnlich in der Adoleszenz oder im frühen Erwachsenenalter, wobei Männer in der Regel einen etwas früheren Beginn zeigen (20 – 25 Jahre) als Frauen (25 – 30 Jahre) [AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994; HARRISON, 1999]. Das verzögerte Auftreten der Symptome ist möglicherweise auf fehlerhafte Reifungsprozesse, wie synaptische Um- und Abbauprozesse (*pruning*) sowie eine Störung der Myelinisierung, während der Pubertät zurückzuführen. Diese Prozesse führen dazu, dass Störungen, die während der Ausreifung noch kompensiert werden können, beim Erwachsenen Symptome hervorrufen. Die Pubertät stellt somit eine weitere kritische Periode dar, in der verschiedene Umwelteinflüsse, aber auch durch die Pubertät bedingte hormonelle Umstellungen, mit den normalen Reifungsprozessen interagieren können.

Es wird vermutet, dass eine Kombination aus einer frühen Störung der pränatalen Hirnentwicklung und gestörten Reifungsprozessen während der Pubertät zur Entstehung einer Schizophrenie führen kann [DUNCAN *ET AL.*, 1999]. Daraus entwickelte sich die heute gängige Hypothese zur Entstehung der Schizophrenie, die „Vulnerabilitäts-Stress-Hypothese“ (*two-hit model*; Abb.6). Diese Hypothese besagt, dass eine frühe Störung des sich entwickelnden Gehirns (*first hit*) zu einer erhöhten Vulnerabilität gegenüber später, meist während der Pubertät auftretenden Umweltreizen (*second hit*) und infolgedessen zur Entstehung einer schizophrenen Symptomatik beim Erwachsenen führt [MAYNARD *ET AL.*, 2001].

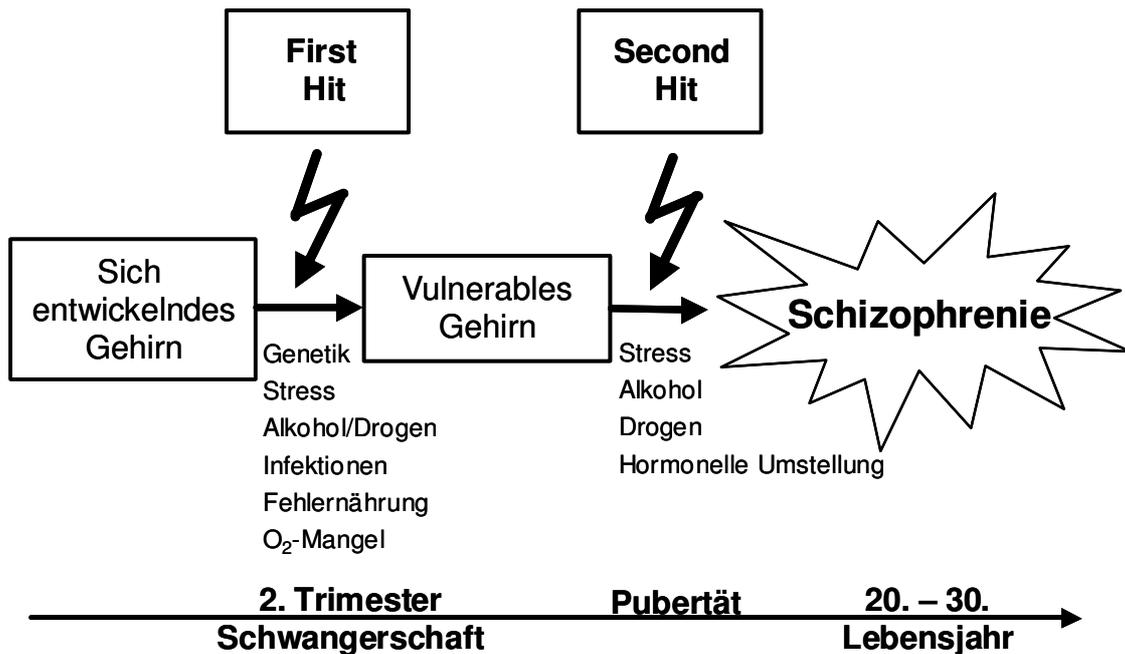


Abb.6: Vulnerabilitäts-Stress-Hypothese der Schizophrenie. Die Entwicklung des Gehirns wird während des zweiten Trimesters der Schwangerschaft durch Umwelteinflüsse (*first hit*) gestört. Dadurch entsteht eine erhöhte Vulnerabilität gegenüber während der Pubertät auftretenden aversiven Einflüssen (*second hit*). Es kommt zu Störungen abschließender Reifungsprozesse und dadurch zur Entstehung einer schizophrenen Symptomatik.

1.2.3 Pathomorphologie

Auf dem ersten internationalen Kongress für Neuropathologie in Rom 1952 gingen die meisten Neuropathologen noch davon aus, dass die Schizophrenie eine rein funktionelle Psychose ohne pathomorphologische Veränderungen darstellt. Erst mit Beginn der 80er Jahre des 20. Jahrhunderts wurden durch die Entwicklung neuer morphometrischer und histochemischer Techniken für die *post mortem* Analyse sowie bildgebender Verfahren für *in vivo* Studien (Computer Tomographie; Magnetic Resonance Imaging) strukturelle Veränderungen in verschiedenen Hirnregionen bei Schizophrenen nachgewiesen, die mit den psychotischen Symptomen der Schizophrenie korrelieren [BOGERTS, 1999; HARRISON, 1999].

Die Hypothese, dass es sich bei der Schizophrenie um eine Entwicklungsstörung handelt, stützt sich auf die Beobachtung, dass im Gegensatz zu klassischen Demenzerkrankungen, die mit neurodegenerativen Prozessen verbunden sind (z.B. Morbus Alzheimer), keine Gliose auftritt [FALKAI *ET AL.*, 1999; WOODS, 1998]. Zellschäden rufen erst ab Ende des zweiten Trimesters der Schwangerschaft eine

Gliose hervor. Deshalb wird eine fehlende Gliose als Marker für eine frühe Entwicklungsstörung herangezogen [HARRISON, 1999; TURNER *ET AL.*, 1997; WEINBERGER, 1995]. Dies deutet darauf hin, dass die Schäden, die später zu einer Schizophrenie führen, bereits vor dem dritten Trimester induziert wurden. Zusätzlich weisen einige neuropsychologische Studien darauf hin, dass im Vergleich zu klassischen neurodegenerativen Erkrankungen keine Progression hinsichtlich der Symptomatik auftritt. Dies lässt vermuten, dass pathophysiologische Prozesse während der Entwicklung die Neuritenbildung, die Synaptogenese und das Pruning beeinflussen und so der Ausbildung schizophrener Symptome vorangehen [ANDREASEN, 2000; HARRISON, 1999]. In einer neueren Studie von PANTELIS *ET AL.* [2003] wurde jedoch nachgewiesen, dass fortschreitende anatomische Veränderungen mit dem Auftreten psychotischer Symptome verbunden sind.

Bei der Untersuchung der Gehirne schizophrener Patienten wurde eine Volumenreduktion der cerebralen Hemisphären, ein Verlust der normalen strukturellen Asymmetrie des Frontal- und Occipitallappens sowie eine Erweiterung der lateralen Ventrikel nachgewiesen [FALKAI *ET AL.*, 1995; HARRISON, 1999]. Die meisten morphologischen und zytoarchitektonischen Veränderungen treten im limbischen System, vor allem in der Hippocampusformation sowie dem Parahippocampus, auf [BOGERTS, 1999]. Jedoch sind auch andere corticale (präfrontaler Cortex [PFC]; anteriorer cingulärer Cortex) und subcorticale Strukturen (Amygdala, Thalamus, Globus pallidus internus, Basalganglien) betroffen (Box 3) [ANDREASEN, 2000; BENES, 2000]. In zahlreichen morphometrischen Studien wurde eine Reduktion des Volumens, der Neuronendichte und der Neuronengröße in diesen Strukturen nachgewiesen, während hingegen in den Basalganglien eine Zunahme des Volumens auftritt [ARNOLD *ET AL.*, 1995; HARRISON, 1999; JOYAL *ET AL.*, 2002; LAUER *ET AL.*, 2001; WRIGHT *ET AL.*, 2000]. Im PFC und anterioren cingulären Cortex tritt zusätzlich eine Reduktion des Neuropil auf. Außerdem kommt es vor allem im HIPP und EC zu einer Desorganisation der corticalen Schichten mit Fehlanordnung der Neurone [ARNOLD *ET AL.*, 1997; ARNOLD & RIOUX, 2001; FALKAI *ET AL.*, 1999; FALKAI *ET AL.*, 2000; JAKOB & BECKMANN, 1994]. Dies deutet auf synaptische Fehlverschaltungen hin und kann dadurch die Verbindung mit anderen Hirnregionen behindern. Besonders auffallend ist ein Verlust der normalen Positionierung der Neuronen vor allem in Schicht II des EC. Diese sogenannten prä- α -Zellen, die die Ausgangsneurone des *perforant path* darstellen, sind bei schizophrenen Patienten in tiefere Schichten verschoben. Es wird

vermutet, dass dies die Konsequenz einer abnormen neuronalen Migration während der Hirnentwicklung darstellt [FALKAI *ET AL.*, 2000; HARRISON, 1999; JAKOB & BECKMANN, 1986].

Dysfunktionen neuronaler Netzwerke können auch durch eine Reduktion der Markscheiden von Nervenfasern nachgewiesen werden. In diesem Zusammenhang lassen neuere Studien vermuten, dass Myelin eine wichtige Rolle bei der Pathogenese der Schizophrenie spielt [DAVIS *ET AL.*, 2003]. Eine Demyelinisierung konnte vor allem in temporalen Regionen des schizophrenen Gehirns nachgewiesen werden [Foong *et al.*, 2000]. Folge ist eine Dysfunktion cortico-corticaler und cortico-subcorticaler Interaktionen, die vor allem mit kognitiven Defiziten der Schizophrenie verbunden ist [DAVIS *ET AL.*, 2003].

In weiteren neuropathologischen Studien wurde mit Hilfe des calcium-bindenden Proteins Parvalbumin (PV) eine Dysfunktion und/oder ein Verlust GABAerger (γ -Aminobuttersäure) Interneurone bei schizophrenen Patienten nachgewiesen [ZHANG & REYNOLDS, 2002]. GABAerge Interneurone sind wichtig für komplexe kognitive Leistungen und ein Verlust dieser Neurone spielt vermutlich eine Rolle bei der Pathophysiologie der Schizophrenie [BENES & BERRETTA, 2001]. Eine Reduktion Parvalbumin-immunreaktiver (PVr) Zellen tritt vor allem im HIPP, aber auch im PFC auf. PV wird vor allem von sogenannten Kandelaberzellen, einem Subtyp GABAerger Interneurone, exprimiert. Diese Zellen bilden axo-axonale Synapsen mit dem Initialsegment des Pyramidenzellaxons und können dadurch die Ausgangsaktivität der Pyramidenzellen regulieren. Aber auch Korbzellen, welche die Projektionsneurone über axo-somatische Kontakte beeinflussen, exprimieren PV [BENES & BERRETTA, 2001]. Im HIPP kann ein Verlust der inhibitorischen GABAergen Interneurone zu einem Anstieg der neuronalen Aktivität der Pyramidenzellen führen [ZHANG & REYNOLDS, 2002].

Box 3: Neuropathologische Befunde in corticalen und subcorticalen Regionen schizophrener Patienten**Gehirn gesamt**

Volumenreduktion – fehlende Asymmetrie – Reduktion der anterior-posterior Länge – Reduktion des Hirngewichtes – Ventrikelerweiterung

Präfrontaler Cortex

Volumenreduktion – Reduktion des Neuropil – Reduktion der Neuronendichte – Reduktion der Neuronengröße – Reduktion GABAerger Interneurone

Hippocampus

Volumenreduktion – Reduktion der Neuronendichte – Reduktion der Neuronengröße – Fehlpositionierung von Neuronen – Reduktion GABAerger Interneurone – Demyelinisierung

Entorhinaler Cortex

Volumenreduktion – Reduktion der Neuronendichte – Reduktion der Neuronengröße – Fehlpositionierung von Neuronen in Schicht II

Thalamus

Volumenreduktion

Basalganglien

Zunahme des Volumens

1.2.4 Transmittersysteme

Während entwicklungsbedingte Prozesse eine Prädisposition für Schizophrenie hervorrufen können, resultiert der Beginn und Verlauf der Erkrankung vor allem aus einer Dysregulation der Interaktion verschiedener Transmittersysteme. Besondere Bedeutung wird dabei dem dopaminergen und glutamatergen System zugeschrieben [CARLSSON *ET AL.*, 1999].

1.2.4.1 Dopamin

Dopamin (DA) ist ein wichtiger Neurotransmitter im zentralen Nervensystem (ZNS). DA-Rezeptoren befinden sich vor allem in striatalen und limbischen Gebieten und werden zwei großen Gruppen zugeordnet. Zu der D₁-Familie gehören D₁ und D₅-Rezeptoren, welche an ein erregendes G-Protein (G_s) gekoppelt sind und über die Aktivierung einer Adenylatcyclase wirken. Zu der D₂-Familie zählen D₂, D₃ und

D₄-Rezeptoren, die an ein inhibitorisches G-Protein (G_i) gekoppelt sind und die Adenylatcyclase hemmen.

Das DA-System lässt sich in ein nigrostriatales, mesocorticales und mesolimbisches System unterteilen. Die Zellen des nigrostriatalen DA-System befinden sich in der Substantia nigra pars compacta und hemmen im dorsalen Striatum GABAerge Projektionsneurone und cholinerge Interneurone. Die Zellkörper des mesocorticalen und mesolimbischen DA-Systems liegen in der VTA des Mesencephalons und projizieren vor allem zum NAC, aber auch zum Tuberculum olfactorium sowie zu der Amygdala (mesolimbisch) und zur frontalen, cingulären und entorhinalen Hirnrinde (mesocortical) [COOPER *ET AL.*, 2003].

Das DA-System ist an der Regulation verschiedener Verhaltensweisen, insbesondere an motivationalen Prozessen, lokomotorischer Aktivität und sensorimotorischer Informationsverarbeitung, beteiligt. Eine Hyperaktivität vor allem des mesolimbischen DA-Systems wird als hauptverantwortliche Ursache für die Positivsymptomatik der Schizophrenie angesehen. Diese DA-Hypothese der Schizophrenie beruht auf zwei Beobachtungen. Zum einen verstärken Amphetamin und andere DA-freisetzende Substanzen schizophrene Psychosen und induzieren bei Gesunden psychotische Symptome, die der Positivsymptomatik einer Schizophrenie ähneln [DUNCAN *ET AL.*, 1999]. Zum anderen sind Neuroleptika, die für die Behandlung der Schizophrenie eingesetzt werden, wirksame DA-Rezeptor-Antagonisten, wobei meist eine Präferenz für D₂-Rezeptoren vorliegt [CREESE *ET AL.*, 1976; HARRISON, 1999]. Außerdem wurde in bildgebenden Verfahren gezeigt, dass eine durch DA-Rezeptor-Agonisten induzierte DA-Freisetzung im NAC bei schizophrenen Patienten stärker ist als bei Gesunden [ABI-DARGHAM *ET AL.*, 1998].

Die DA-Hypothese der Schizophrenie ist allerdings unzureichend, da eine vollständige Blockade der DA-Rezeptoren nur zum Teil antipsychotisch wirkt und dadurch nur einen limitierten therapeutischen Effekt besitzt. Da DA-Agonisten hauptsächlich positive Symptome der Schizophrenie nachahmen, kann die DA-Hypothese die Negativsymptomatik nicht erklären. Eine besonders wichtige Rolle wird dabei dem Transmitter Glutamat (Glu) zugeschrieben. Es wird jedoch vermutet, dass auch andere Neurotransmittersysteme, wie z.B. das serotonerge System, maßgeblich an der Entstehung der Schizophrenie beteiligt sind. Diese Annahme basiert auf der Beobachtung, dass die meisten Substanzen, die heutzutage zur Pharmakotherapie der Schizophrenie eingesetzt werden (z.B. Clozapin, Olanzapin,

Risperidon), anti-serotonerge Effekte besitzen [AGHAJANIAN & MAREK, 2000; WADDINGTON, 1995].

1.2.4.2 Glutamat

Glutamat (Glu) ist der wichtigste exzitatorische Neurotransmitter im ZNS. Glu-Rezeptoren befinden sich im gesamten Gehirn, jedoch in besonders hoher Dichte im Cortex, im HIPP, in der Substantia nigra und im Striatum. Glutamaterge Projektionen sind somit über corticale, striatale und limbische Hirnregionen verteilt und können dadurch verschiedene zentrale Funktionen beeinflussen [MICHAELIS, 1998; WHITTON, 1997].

Glu-Rezeptoren werden in metabotrope und ionotrope Rezeptoren unterteilt, wobei die metabotropen Rezeptoren G-Protein gekoppelt sind, während die ionotropen Rezeptoren Teil eines Ionenkanals darstellen, der aus vier Untereinheiten besteht. Ionotrope Rezeptoren lassen sich weiter unterteilen in N-methyl-D-aspartat (NMDA)-Rezeptoren und in nicht-NMDA-Rezeptoren (Kainat und AMPA [α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionsäure]) [MICHAELIS, 1998].

Der NMDA-Rezeptor spielt eine wichtige Rolle bei der Entwicklung synaptischer Verbindungen sowie bei Lernen, Gedächtnis und neuronaler Plastizität [GOFF & COYLE, 2001]. Er hat das Interesse auf sich gezogen, da er vermutlich an der Pathophysiologie vieler neurodegenerativer (z.B. Morbus Alzheimer, Morbus Huntington, Morbus Parkinson) aber auch psychischer Erkrankungen (z.B. Schizophrenie) beteiligt ist. *Post mortem* Studien bei Schizophrenen ergaben eine Reduktion der Glu-Rezeptor-Dichte sowie Veränderungen bei der Zusammensetzung der Rezeptor-Untereinheiten im PFC, Temporallappen und Thalamus [MEADOR-WOODRUFF & HEALY, 2000]. Eine NMDA-Rezeptor Hypofunktion spielt vermutlich eine wichtige Rolle bei der Ausbildung der schizophrenen Symptomatik [HIRSCH *ET AL.*, 1997; OLNEY & FARBER, 1995]. Diese sogenannte Glu-Hypothese stützt sich auf die Beobachtung, dass Glu-Rezeptor-Antagonisten, wie z.B. Phencyclidin (PCP), Ketamin und Dizocilpin (MK-801), vor allem über die Wirkung an NMDA-Rezeptoren bei Gesunden eine Psychose auslösen, die einer akuten Schizophrenie ähnelt [GOFF & COYLE, 2001; VOLLENWEIDER *ET AL.*, 2000]. Eine solche psychotische Phase kann bereits nach einmaliger Applikation mehrere Wochen andauern, während eine chronische Gabe zu einem sogenannten „PCP-Burnout“ mit kognitiven Defiziten und Sprachstörungen führt [ELLISON, 1995]. Bei schizophrenen

Patienten wird eine bereits bestehende Symptomatik durch NMDA-Rezeptor-Antagonisten verstärkt [OLNEY *ET AL.*, 1999]. Die sogenannte PCP-Psychose hat in der Schizophrenieforschung besondere Bedeutung erlangt, da sie anders als die durch DA-Rezeptor-Agonisten induzierte Psychose nicht nur mit positiven sondern auch mit negativen und kognitiven Symptomen der Schizophrenie verbunden ist [GOFF & COYLE, 2001; HIRSCH *ET AL.*, 1997].

1.2.4.3 Dopamin-Glutamat-Interaktionen

Zahlreiche Verhaltensweisen werden durch Interaktionen des dopaminergen und glutamatergen Systems reguliert [CARLSSON & CARLSSON, 1990; CARLSSON *ET AL.*, 1999]. Eine zentrale Rolle für diese Interaktion spielt der NAC, der durch mesolimbische dopaminerge Fasern aus der VTA innerviert wird und zusätzlich glutamaterge Afferenzen von verschiedenen Strukturen, wie z.B. dem HIPP, EC, PFC und der Amygdala, erhält. Diese interagieren präsynaptisch mit den dopaminergen Projektionen der VTA und regulieren dadurch die DA-Freisetzung im NAC. Vom NAC aus verläuft dann eine GABAerge Projektion über das ventrale Pallidum (VP) zum Thalamus (Abb.7) [GRACE, 2000; O'DONNELL & GRACE, 1998; SESACK & PICKEL, 1990].

Die Regulation der DA-Freisetzung kann in striatalen Regionen über zwei Mechanismen ablaufen:

(1) eine tonische DA-Freisetzung, die über den glutamatergen Eingang aus dem HIPP, dem EC, dem PFC und der Amygdala reguliert wird

(2) eine phasische DA-Freisetzung, die von der dopaminergen Aktivität in der VTA abhängt und den GABAergen Ausgang zum VP reguliert [GRACE, 2000].

Eine pathologische Unterbrechung cortico-striataler glutamaterger Systeme kann präsynaptisch die tonische DA-Freisetzung reduzieren und dadurch die Sensitivität postsynaptischer DA-Rezeptoren erhöhen und damit die Wirkung der phasischen DA-Freisetzung verstärken [CSERNANSKY & BARDGETT, 1998; DUNCAN *ET AL.*, 1999; KESHAVAN, 1999]. Zusätzlich kommt es durch die Reduktion der tonischen DA-Freisetzung zu einer fehlenden Aktivierung dopaminergere Autorezeptoren. Folge dieses fehlenden autoregulatorischen inhibitorischen Mechanismus ist ein weiterer Anstieg der phasischen DA-Freisetzung. Diese durch eine Blockade des glutamatergen Eingangs hervorgerufene Dysregulation des tonisch-phasischen

DA-Systems wird vor allem mit positiven Symptomen der Schizophrenie in Zusammenhang gebracht [MOGENSON *ET AL.*, 1993; O'DONNELL & GRACE, 1998].

Einen weiteren Mechanismus, über den die limbisch-striatale DA-Transmission im NAC reguliert werden kann, stellen exzitatorische Projektionen des HIPP zum PFC dar. Durch einen Verlust dieser glutamatergen Verbindungen kann sekundär die Aktivität des PFC reduziert werden. Diese sogenannte Hypofrontalität ist häufig mit negativen Symptomen und kognitiven Dysfunktionen schizophrener Patienten verbunden [O'Donnell & Grace, 1998]. Eine Hypofunktion des frontalen Cortex führt zu einer Verringerung der tonischen DA-Freisetzung, welche einer verstärkte Antwort des DA-Systems auf postsynaptischer Ebene bewirkt. Eine Aktivierung dopaminerger Neurone induziert dann in solch einem kompensatorisch hochregulierten System eine übermäßige phasische DA-Freisetzung, die wiederum mit positiven Symptomen der Schizophrenie verbunden ist [MEYER-LINDENBERG *ET AL.*, 2002].

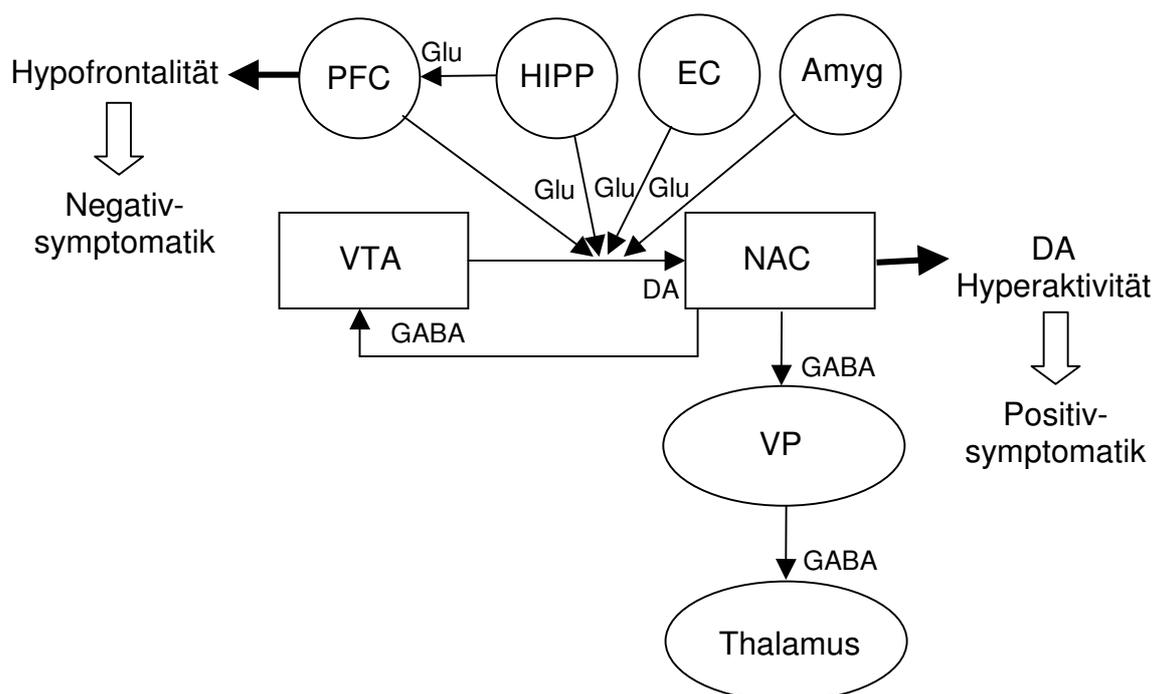


Abb.7: Schematische Darstellung des cortico-limbisch-striatalen Kreislaufs, der an der Entstehung der Positiv- und Negativsymptomatik der Schizophrenie beteiligt ist. Eine Interaktion zwischen dopaminergen Neuronen der VTA und glutamatergen Neuronen limbischer Strukturen beeinflusst die DA-Freisetzung im NAC. Erklärung siehe Text. Abkürzungen: Amyg – Amygdala; DA – Dopamin; EC – entorhinaler Cortex; GABA - γ -Aminobuttersäure; Glu – Glutamat; HIPP – Hippocampus; NAC – Nucleus accumbens; PFC – präfrontaler Cortex; VP – ventrales Pallidum; VTA – ventrales tegmentales Areal.

1.3 Tiermodelle

Aufgrund der Komplexität psychischer Erkrankungen und der Störung typisch menschlicher Eigenschaften stellt die Entwicklung von Tiermodellen hier eine besondere Herausforderung dar. Bislang konnte kein Modell die perzeptuellen, kognitiven und emotionalen Aspekte einer typisch menschlichen Erkrankung, wie der Schizophrenie, vollständig nachbilden. Dennoch wurden in den letzten Jahren Tiermodelle zur Nachahmung einiger Aspekte psychischer Störungen, so auch für die Schizophrenie, entwickelt, weil der ursächliche Zusammenhang zwischen Noxe, Neuropathologie und Verhaltensstörung nur in solchen Modellen erforscht werden kann.

Für die Validierung eines Tiermodells werden drei Kriterien herangezogen [KOCH, 2002]:

(1) unter Abbild-Validität (*face validity*) versteht man, dass bei Mensch und Tier vergleichbare Verhaltensweisen durch gleiche Reizparameter hervorgerufen werden

(2) prädiktive Validität (*predictive validity*) besteht, wenn pharmakologische Behandlungen bei Tier und Mensch gleichermaßen effektiv sind, so dass in dem Tiermodell die Wirksamkeit neuer Pharmaka vorhergesagt werden kann

(3) Konstrukt-Validität (*construct validity*) fordert, dass die in dem Tiermodell hervorgerufenen Störungen die Ätiopathogenese und Pathophysiologie der menschlichen Erkrankung nachahmen.

1.3.1 Pharmakologische Modelle

Vor dem Hintergrund der DA- (siehe 1.2.4.1) und der Glu-Hypothese (siehe 1.2.4.2) wurde bei der Entwicklung von Tiermodellen für die Schizophrenie-Forschung der Schwerpunkt zunächst auf das dopaminerge und glutamaterge System gelenkt. Da eine Dysregulation beider Transmitter beim Menschen psychotische Symptome auslöst und zusätzlich strukturelle Veränderungen sowohl des dopaminergen als auch glutamatergen Systems im Gehirn schizophrener Patienten nachgewiesen wurden, wird eine Behandlung mit DA-Rezeptor-Agonisten und Glu-Rezeptor-Antagonisten als Tiermodell für Schizophrenie eingesetzt.

1.3.1.1 Dopamin-Rezeptor Agonisten

DA-Rezeptor-Agonisten induzieren sowohl beim Menschen als auch bei der Ratte einen Anstieg der dopaminergen Aktivität vor allem in der VTA und im NAC (Konstrukt-Validität) und lösen beim Menschen dadurch eine Psychose aus, die eng mit der Positivsymptomatik der Schizophrenie verbunden ist [DUNCAN *ET AL.*, 1999]. Bei der Ratte induzieren DA-Rezeptor-Agonisten unter anderem motorische Hyperaktivität und eine Reduktion der Präpulsinhibition (PPI) der akustisch ausgelösten Schreckreaktion (ASR; Abbild-Validität) [GEYER *ET AL.*, 2001]. Diese Verhaltenseffekte werden durch klinisch wirksame Antipsychotika antagonisiert, die vor allem über den D₂-Rezeptor wirken (prädiktive Validität). Eine chronische Behandlung mit DA-Rezeptor-Agonisten bewirkt eine progressive Verstärkung der Verhaltenseffekte dieser Substanzen, was als Sensitivierung bezeichnet wird und vermutlich eine Rolle bei der Entstehung und dem Verlauf der schizophrenen Symptomatik spielt [VANDERSCHUREN & KALIVAS, 2000; WOLF, 1998].

Der DA-Rezeptor-Agonist Amphetamin induziert über die Freisetzung von DA einen Anstieg der synaptischen DA-Konzentration. Zusätzlich besitzt diese Substanz bereits in geringen Dosierungen einen Einfluss auf das noradrenerge und serotonerge System. Im Gegensatz dazu verstärkt der direkte DA-Rezeptor-Agonist Apomorphin (APO; 3,4-Dihydroxyapomorphin; Abb.8) die dopaminerge Neurotransmission postsynaptisch über einen direkten Effekt an Rezeptoren der D₁- (D_{1A}, D_{1B}, D₅) und D₂-Familie (D₂, D₃, D₄) ohne Einfluss auf andere Transmittersysteme und ist deshalb besonders geeignet, um eine selektive Hyperaktivität des dopaminergen Systems zu induzieren [DEPATIE & LAL, 2001].

APO gehört zu der Gruppe der Morphinderivate und wirkt hauptsächlich über D₂-Rezeptoren [DEPATIE & LAL, 2001]. Diese Substanz wurde erstmals 1869 synthetisiert [MATTHIESSEN & WRIGHT, 1869] und als Emetikum, Sedativum, bei Alkoholismus sowie bei der Behandlung motorischer Störungen (z.B. bei Parkinsonpatienten) eingesetzt [DEPATIE & LAL, 2001], wobei die Wirkungen von der Dosierung abhängig sind. Eine hohe Dosis verstärkt die dopaminerge Neurotransmission über die Wirkung an postsynaptischen D₂-Rezeptoren. Dabei werden jedoch die psychotischen Symptome durch die emetische Wirkung verdeckt. Im Gegensatz dazu stimuliert APO in niedrigen Dosierungen präsynaptische DA-Autorezeptoren, während die postsynaptischen Rezeptoren aufgrund der geringeren Sensitivität nicht angesprochen werden. Folge ist eine Hemmung der

DA-Freisetzung, die mit antipsychotischen Wirkungen verbunden ist [TAMMINGA *ET AL.*, 1978].

Der experimentelle Einsatz von DA-Rezeptor-Agonisten ist aufgrund der einfachen und schnell durchzuführenden Methodik und der sehr guten prädiktiven Validität in Bezug auf das DA-System zur Überprüfung der Wirksamkeit antipsychotischer Substanzen gut geeignet. Nachteile dieses Modells sind die fehlende Wirkung auf das glutamaterge System sowie das Fehlen einer Negativsymptomatik. Zusätzlich sind diese Substanzen nicht nur postpubertär wirksam, was mit dem Zeitpunkt des Auftretens der psychotischen Symptomatik bei schizophrenen Patienten übereinstimmen würde, sondern können bereits präpubertär wirken.

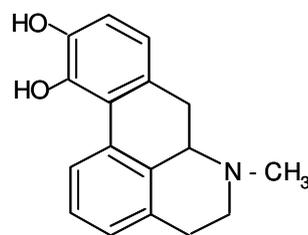


Abb.8: Strukturformel von Apomorphin

1.3.1.2 NMDA-Rezeptor-Antagonisten

NMDA-Rezeptor-Antagonisten (Dizocilpin, PCP, Ketamin) induzieren sowohl beim Menschen als auch bei der Ratte eine Hypofunktion des glutamatergen Systems, welche sekundär mit einem Anstieg dopaminerger Funktionen verbunden ist (Konstrukt-Validität). Eine Blockade des NMDA-Rezeptors induziert psychotische Symptome, die stark der Positiv- und Negativsymptomatik einer akuten Schizophrenie ähneln [GOFF & COYLE, 2001; VOLLENWEIDER *ET AL.*, 2000]. Im Tierversuch bewirken diese Substanzen unter anderem Hyperlokomotion, Stereotypien, Ataxie, Unterbrechung der PPI und kognitiven Defizite in zahlreichen verschiedenen Lern- und Gedächtnisparadigmen (Abbild-Validität) [BAST *ET AL.*, 2000; JENTSCH & ROTH, 1999; MANSBACH & GEYER, 1989], die durch klinisch wirksamen Antipsychotika antagonisiert werden können (prädiktive Validität). Eine chronische Behandlung mit NMDA-Rezeptor-Antagonisten induziert eine Sensitivierung der Verhaltenseffekte dieser Substanz [XU & DOMINO, 1994]. Eine Sensitivierung des glutamatergen

Systems konnte ebenfalls bei schizophrenen Patienten nachgewiesen werden [JENTSCH & ROTH, 1999].

Für die Wirkungsweise von NMDA-Rezeptor-Antagonisten, ist vermutlich das cortico- limbische DA-System von Bedeutung [OLNEY *ET AL.*, 1999; WHITTON, 1997]. Einen Hinweis darauf geben verschiedene Studien in denen gezeigt wurde, dass die durch NMDA-Rezeptor-Antagonisten induzierten Symptome teilweise durch DA-Rezeptor-Antagonisten (z.B. Haloperidol, Racloprid) blockiert werden können [LÖSCHER & HONACK, 1992; MARTIN *ET AL.*, 1997; OLNEY & FARBER, 1995]. Desweiteren wurde in Mikrodialyse-Studien nachgewiesen, dass NMDA-Rezeptor-Antagonisten sowohl einen Anstieg der extrazellulären Glu- als auch der DA-Freisetzung in limbisch-striatalen Gebieten hervorrufen [ADAMS & MOGHADDAM, 1998; MILLER & ABERCROMBIE, 1996] und zusätzlich eine durch Amphetamin induzierte Stimulation der striatalen DA-Freisetzung potenzieren [BALLA *ET AL.*, 2001].

Die Art und Weise der durch NMDA-Rezeptoren vermittelten Regulation der DA-Freisetzung im Striatum und anderen limbischen Hirnstrukturen ist nicht vollständig geklärt, verläuft aber vermutlich über zwei Mechanismen:

(1) Über eine glutamaterge Stimulation inhibitorischer GABAerger und noradrenerger Interneurone wird normalerweise eine tonische Hemmung der glutamatergen, cholinergen oder neuropeptinergen exzitatorischen Projektionsbahnen aufrechterhalten (Abb.9) [HIRSCH *ET AL.*, 1997; OLNEY *ET AL.*, 1999; WHITTON, 1997]. Eine Blockade der NMDA-Rezeptoren inaktiviert diese corticalen GABAergen Interneurone und bewirkt dadurch eine Disinhibition der drei exzitatorischen Eingänge, die dann eine exzessive Hyperstimulation der Pyramidenneurone mit nachfolgender DA-Freisetzung im NAC induziert [CARLSSON *ET AL.*, 2001; CSERNANSKY & BARDGETT, 1998; OLNEY *ET AL.*, 1991].

(2) Während NMDA-Rezeptor-Antagonisten in limbisch-striatalen Regionen einen Anstieg der DA-Freisetzung induzieren, wird durch die Blockade der NMDA-Rezeptoren die Aktivität des PFC reduziert (Hypofrontalität). Da mesocorticale und mesolimbische DA-Systeme eine inverse Verbindung zueinander besitzen [JENTSCH & ROTH, 1999], ist diese Hypoaktivität corticaler dopaminergener Neurone mit einer Hyperaktivität subcorticaler DA-Systeme verbunden (siehe 1.2.4.3) [CARR & SESACK, 2000; JENTSCH *ET AL.*, 1998].

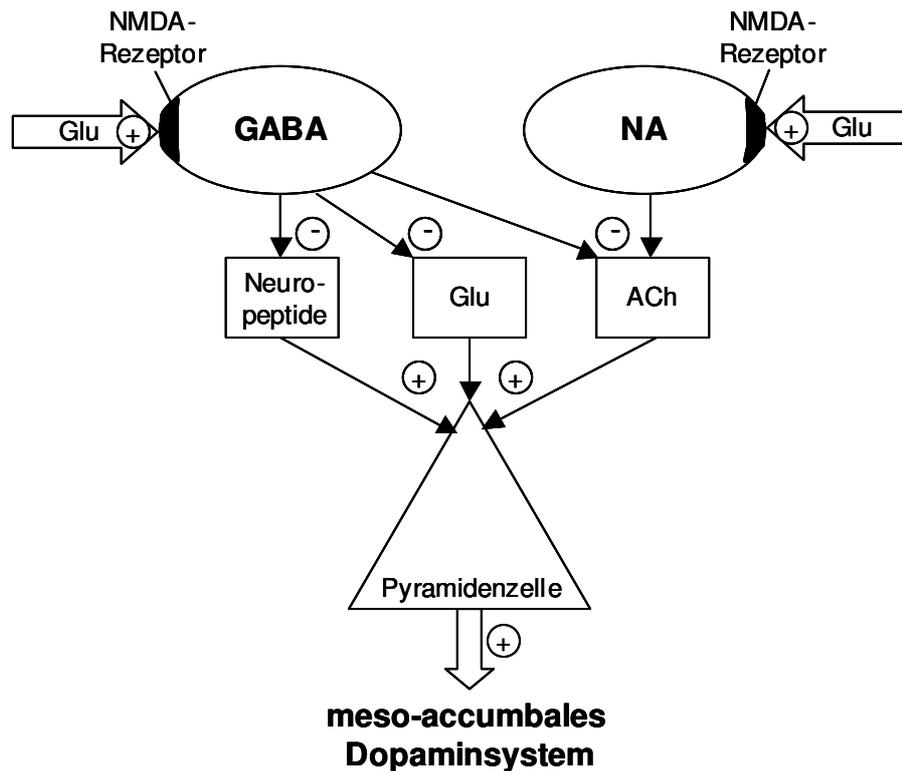


Abb.9: Schematische Darstellung der durch NMDA-Rezeptoren vermittelten Regulation der Dopamin-Freisetzung. Glutamat reguliert über NMDA-Rezeptoren, die sich auf GABAergen und noradrenergen Neuronen befinden, die tonische Hemmung cholinergischer, glutamaterger und neuropeptinerger Projektionsbahnen, die wiederum über eine Stimulation der Pyramidenzellen die meso-accumbale Dopamin-Freisetzung regulieren.

Abkürzungen: ACh – Acetylcholin; GABA – γ -Aminobuttersäure; Glu – Glutamat; NA – Noradrenalin; \ominus – hemmend; \oplus – erregend

NMDA-Rezeptor-Antagonisten induzieren in hohen Dosierungen apoptotische Reaktionen, die unter anderem durch die Bildung cytoplasmatischer Vakuolen, das Auftreten von Hitzeschockproteinen sowie durch Induktion der mRNA-Expression für *c-fos* und BDNF (*brain derived neurotrophic factor*) gekennzeichnet ist [HASHIMOTO *ET AL.*, 1996; LINDEN *ET AL.*, 1997]. Diese Schäden sind nach niedrigdosierter akuter Applikation in der Regel reversibel, jedoch bewirken hohe Dosierungen sowie chronische Behandlungen irreversible nekrotische Schäden [ELLISON, 1995]. Neuronale Degeneration nach Dizocilpin tritt vor allem in frontalen (PFC) und limbischen (HIPP, Amygdala, EC) Strukturen auf, welche auch bei Schizophrenen deutliche Veränderungen zeigen [ELLISON, 1995; HORVATH *ET AL.*, 1997].

Dizocilpin (MK-801; (+)-5-methyl-10,11-dihydroxy-5H-dibenzo-[a,d]-cyclohepten-5,10-imine maleate; Abb.10) ist ein nicht-kompetitiver Antagonist am NMDA-Subtyp

des Glu-Rezeptor, der an einer Bindungsstelle innerhalb des Ionenkanals bindet und diesen dadurch blockiert. Dizocilpin wurde in den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts als Anästhetikum eingeführt. Bereits nach kurzer Zeit wurde diese Substanz jedoch aufgrund starker Nebenwirkungen (z.B. Erregung, bizarres Verhalten, Paranoia, Halluzinationen) nicht mehr zur Induktion einer Anästhesie eingesetzt.

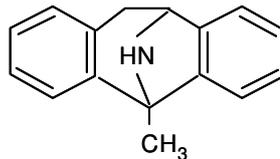


Abb.10: Strukturformel von Dizocilpin (MK-801)

NMDA-Rezeptor-Antagonisten bieten einige Vorteile als pharmakologisches Tiermodell für psychische Erkrankungen. Aufgrund der einfachen und schnell durchzuführenden Methodik und der sehr guten prädiktiven Validität ist dieses Modell zur Überprüfung der Wirksamkeit antipsychotischer Substanzen gut geeignet. NMDA-Rezeptor-Antagonisten induzieren sowohl eine Hypofunktion des Glu-Systems als auch eine Hyperfunktion des DA-Systems und sind dadurch mit positiven und negativen Symptomen der Schizophrenie verbunden. Dies stellt einen entscheidenden Vorteil gegenüber den DA-Rezeptor-Agonisten dar. Außerdem sind die psychotomimetischen und neurotoxischen Effekte der NMDA-Rezeptor-Antagonisten bei jungen Ratten (< sechs Wochen) äußerst gering oder nicht vorhanden und eine vollständige Sensitivität gegenüber der Toxizität entwickelt sich erst nach der Pubertät (drei bis vier Monate). Auch beim Menschen treten die Wirkungen der NMDA-Rezeptor-Antagonisten bei Kindern selten auf, während Jugendliche und junge Erwachsene stark auf diese Substanzen reagieren [ELLISON, 1995; FARBER *ET AL.*, 1995; GOFF & COYLE, 2001; KESHAVAN, 1999]. Dies weist darauf hin, dass eine Dysfunktion oder Dysregulation der durch NMDA-Rezeptoren vermittelten Neurotransmission eine wichtige Rolle bei psychischen Erkrankungen spielt, die wie die Schizophrenie durch das postpubertäre Auftreten der Symptomatik charakterisiert sind [JENTSCH & ROTH, 1999; NEWCOMER *ET AL.*, 1999]. Die Eigenschaft der NMDA-Rezeptor-Antagonisten beim Menschen und beim Nager postpubertär

auftretende Verhaltensdefizite auszulösen, die sowohl auf anatomischer als auch auf funktioneller Ebene eng mit der Pathophysiologie der Schizophrenie verbunden sind, hat dazu geführt, dass mit Dizocilpin behandelte Ratten und Mäuse als ein pharmakologisches Tiermodell für zumindest einige Aspekte der Schizophrenie eingesetzt werden [ELLISON, 1995].

1.3.2 Entwicklungsbiologische Modelle

Da eine abnorme Hirnentwicklung vermutlich an der Entstehung der Schizophrenie beteiligt ist [DUNCAN *ET AL.* 1999], hat sich in den letzten Jahren das Interesse immer mehr den entwicklungsbedingten Aspekten dieser Erkrankung zugewandt. Die neuronale Entwicklung bei der Ratte entspricht zum Zeitpunkt der Geburt in etwa der Entwicklung im zweiten Trimester der Schwangerschaft bei Primaten [FINLAY, 2001]. Dies hat den Vorteil, dass Störungen der Hirnentwicklung bei der Ratte nicht *in utero* stattfinden müssen sondern postnatal induziert werden können. Deshalb kann die frühe Hirnentwicklung im Tiermodell durch verschiedene neonatale Eingriffe, wie z.B. Stress und Läsionen, beeinflusst werden. Folge ist eine Störung der Neurogenese, Zellmigration, Differenzierung und Synaptogenese, die eine Fehlentwicklung neuronaler Kreisläufe und Transmittersysteme in verschiedenen corticalen und subcorticalen Gebieten induzieren kann, die dann später auftretende Verhaltensdefizite hervorruft. Zu diesen Modellen zählen soziale Isolation präpubertärer Jungtiere (*social isolation*) [WILKINSON *ET AL.* 1994], Trennung von der Mutter (*maternal separation*) [DANIELS *ET AL.*, 2004], pränatale Vireninfektion (z.B. Influenza, Borna Virus) [FATEMI *ET AL.* 2002; SHI *ET AL.*, 2003], Fehlernährung und Proteinmangel [BROWN *ET AL.*, 1996]. Aber auch durch *in utero* Behandlung z.B. mit Alkohol [LOHR & BRACHA, 1989] oder Methylazoxymethanol Acetat (MAM) [FIORE *ET AL.*, 1999; TALAMINI *ET AL.*, 1998], kann die Hirnentwicklung gestört werden. Besondere Bedeutung hat jedoch die Induktion neonataler Läsionen in verschiedenen Hirnstrukturen, z.B. im HIPP, PFC und der Amygdala, erlangt [LIPSKA & WEINBERGER, 2000]. Durch die gezielte Läsion bestimmter Hirnstrukturen kann die Beteiligung dieser Regionen an verschiedenen Verhaltensweisen untersucht werden, während die zuvor aufgeführten Methoden unselektive Auswirkungen auf das gesamte Gehirn besitzen. Zur Ausschaltung von Hirnarealen wurden in der Vergangenheit eine Vielzahl verschiedener Läsionstechniken entwickelt (Box 4).

Box 4: Vor- und Nachteile einiger Methoden
zur Läsionierung von Hirnregionen

Physikalische Methoden

Das Gewebe wird z.B. durch elektrische Ströme (Elektrolyse) oder durch Absaugen (Aspiration) zerstört. Dabei werden jedoch unspezifisch Neurone, Fasern, Gliazellen und Blutgefäße zerstört. Zusätzlich treten häufig Läsionen in benachbarten Regionen auf.

Messerschnitte

Eine direkte Durchtrennung von Faserbündeln unterbricht selektiv die Verbindungen zwischen verschiedenen Hirnregionen ohne die Funktionsfähigkeit des Nervengewebes an sich zu zerstören. Allerdings ist diese Methode häufig ungenau oder eignet sich aufgrund spezieller anatomischer Gegebenheiten nicht.

Exzitatorisch wirkende Neurotoxine

Neurotoxisch wirkende Substanzen zerstören selektiv Neurone. Das Neurotoxin Ibotenat (α -amino-3-hydroxy-5-isoxazolacetylsäure; Abb.11) wird aus dem Fliegenpilz (*Amanita muscaria*) extrahiert. Es handelt sich um einen Glu-Rezeptor-Agonist, der eine Präferenz für den NMDA-Rezeptor zeigt. Seine neurotoxischen Wirkungen entfaltet diese Substanz vermutlich über eine langanhaltende Stimulation der NMDA-Rezeptoren, wodurch es zu einer Überflutung mit Ca^{2+} -Ionen kommt. Folge ist eine exzessive Stimulation von Proteasen und Phospholipasen, wodurch Neurone zerstört werden. Vorbeiziehende Fasern und Blutgefäße werden bei entsprechender Dosierung nicht beschädigt [JARRARD, 1989], was einen entscheidenden Vorteil gegenüber den physikalischen Läsionstechniken darstellt. Eine exzessive Überstimulation durch eine hohe Dosierung des Neurotoxins kann jedoch teilweise Läsionen im Projektionsgebiet der Neurone induzieren. Durch eine niedrigdosierte lokale intracerebrale Injektion dieses Neurotoxins entstehen jedoch eng umgrenzte Läsionen an der Injektionsstelle, ohne dass Projektionsgebiete des Injektionsortes zerstört werden [JOHNSTON ET AL., 1968].

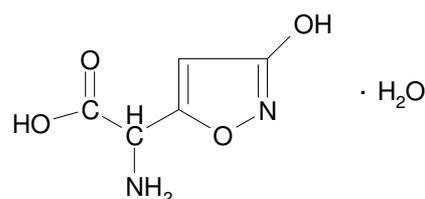


Abb.11: Strukturformel von Ibotensäure

Besonders gut charakterisiert ist das von Lipska und Weinberger entwickelte Tiermodell der neonatalen HIPP-Läsion [LIPSKA *ET AL.*, 1993; LIPSKA & WEINBERGER, 1993]. Dabei werden durch intracerebrale Injektion des Neurotoxins Ibotenat (Abb.11) in den ventralen HIPP (VH) an PND 7 postpubertär auftretenden kognitive, pharmakologische und molekulare Dysfunktionen induziert (Tab.1), die durch Behandlung mit klinisch wirksamen Antipsychotika weitgehend antagonisiert werden können (prädiktive Validität) [LIPSKA & WEINBERGER, 1994]. LIPSKA *ET AL.* konnten zeigen, dass neonatale Läsionen des VH Defizite an PND 56, nicht aber an PND 35, induzieren, die mit einer Hyperaktivität des striatalen DA-Systems sowie mit präfrontalen Dysfunktionen verbunden sind [LIPSKA *ET AL.*, 1998; LIPSKA & WEINBERGER, 2000]. Diese Störungen stehen in Zusammenhang mit der Schizophrenie und entsprechen dem Auftreten der psychotischen Symptomatik bei schizophrenen Patienten in der späten Adoleszenz (Abbild-Validität; Tab.1) [HARROP & TROWER, 2001; KESHAVAN, 1999].

Neonatale Läsionen des VH induzieren Hyperlokomotion in einer neuen Umgebung [AL-AMIN *ET AL.*, 2000; LIPSKA *ET AL.*, 1993], reduzieren eine durch Haloperidol induzierte Katalepsie [LIPSKA & WEINBERGER, 1993] und die PPI der ASR [LE PEN *ET AL.*, 2000; LIPSKA *ET AL.*, 1995], unterbrechen die latente Hemmung des Lernens [GRECKSCH *ET AL.*, 1999], führen zu Defiziten des Sozialverhaltens [BECKER *ET AL.*, 1999] sowie zu kognitiven Dysfunktionen vor allem des WM [LIPSKA *ET AL.*, 2002; WOLTERINK *ET AL.*, 2000]. Zusätzlich ergaben pharmakologische Studien eine erhöhte Vulnerabilität gegenüber den lokomotionssteigernden und PPI-reduzierenden Effekten von DA-Rezeptor-Agonisten [SWERDLOW *ET AL.*, 2000; SWERDLOW *ET AL.*, 2001b; WAN *ET AL.*, 1996] sowie gegenüber den lokomotionssteigernden Effekten von NMDA-Rezeptor-Antagonisten [AL-AMIN *ET AL.*, 2000].

Die Mechanismen, denen diese Veränderungen unterliegen, sind noch nicht endgültig geklärt, beruhen aber vermutlich auf einer durch die neonatale Inaktivierung des VH induzierten Fehlentwicklung der direkten Projektionsbahnen vom HIPP zum PFC, NAC und mediodorsalen Thalamus [LIPSKA & WEINBERGER, 2000; WEINBERGER & LIPSKA, 1995], wodurch die Funktionen der glutamatergen Projektionsneurone, die auf dopaminergen und GABAergen Neuronen enden, beeinflusst werden. Dadurch kommt es postpubertär zu einer dopaminergen Hyperaktivität in mesolimbischen und nigrostriatalen Systemen, sowie zu einem Anstieg der Sensitivität postsynaptischer

DA-Rezeptoren (siehe 1.2.4.3) [LIPSKA & WEINBERGER, 2000; SWERDLOW *ET AL.*, 1995; WAN *ET AL.*, 1996].

In molekularbiologischen Studien wurde gezeigt, dass neonatale Läsionen des VH Veränderungen der dopaminergen und glutamatergen Neurotransmission [LILLRANK *ET AL.*, 1999; SCHROEDER *ET AL.*, 1999], eine reduzierte Expression des DA-Transporters (DAT) sowie des BDNF und der GAD-67 (Glutamat-Decarboxylase) mRNA und eine Reduktion der NAA- (N-Acetylaspartat) Konzentration, einem neuronalen Marker für Zellverluste, vor allem im PFC induzieren [LIPSKA & WEINBERGER, 2000]. Desweiteren ergaben elektrophysiologische Studien, dass bei adulten Ratten mit neonatalen VH Läsionen Neurone des NAC und PFC auf eine Aktivierung der VTA mit übermäßigem Feuern antworten [GOTO & O'DONNELL, 2002].

Neonatale Läsionen des VH scheinen folglich ein breites Spektrum der mit Schizophrenie verbundenen Phänomene zu reproduzieren. Da diese Effekte nach Adultläsion nicht auftreten, liefert dies einen Hinweis darauf, dass eine Störung der Entwicklungsprozesse sowie eine Fehlentwicklung der mit dem HIPP verbundenen Regionen, vor allem des PFC, und nicht ein Verlust der hippocampalen Projektionen *per se* das Verhalten der läsierten Tiere beeinflusst (Konstrukt-Validität) [AL-AMIN *ET AL.*, 2001; LIPSKA *ET AL.*, 2002]. Entwicklungsbedingte Dysfunktionen des HIPP sowie eine exzessive Neurotransmission im mesolimbischen DA-System werden mit der Pathophysiologie der Schizophrenie in Verbindung gebracht [LIPSKA & WEINBERGER, 2000]. Aus diesem Grund stellt die neonatale HIPP-Läsion ein geeignetes Tiermodell für einige Aspekte der Schizophrenie dar.

Tab.1: Vergleich der durch eine neonatale Läsion des ventralen Hippocampus (VH) bei der Ratte induzierten Symptome mit denen einer Schizophrenie beim Menschen.

Neonatale VH-Läsion (Ratte)		Schizophrenie (Mensch)
Verhalten		
Hyperlokomotion gegenüber Stress	⇒	Vulnerabilität gegenüber Stress
PPI-Defizit	⇒	PPI-Defizit
Defizit bei der latenten Hemmung des Lernens	⇒	Defizit bei der latenten Hemmung des Lernens
Arbeitsgedächtnis-Defizit	⇒	Arbeitsgedächtnis-Defizit
Reduzierter Sozialkontakt	⇒	Sozialer Rückzug
Pharmakologie		
Amphetamin-induzierte Hyperaktivität	⇒	Verstärkte Antwort auf DA-Rezeptor-Agonisten
Apomorphin-induzierte Stereotypien	⇒	Verstärkte Antwort auf DA-Rezeptor-Agonisten
Dizocilpin und PCP-induzierte Hyperaktivität	⇒	Verstärkte Antwort auf Ketamin
Molekulare Veränderungen		
NAA ↓	⇒	NAA ↓
GAD-67 mRNA ↓	⇒	GAD-67 mRNA ↓
BDNF mRNA ↓	⇒	BDNF mRNA ↓

Abkürzungen: BDNF – brain derived neurotrophic factor; GAD-67 – Glutamat-Decarboxylase-67; NAA – N-Acetylaspartat; PPI – Präpulsinhibition der Schreckreaktion; ↓ – reduziert gegenüber Kontrollen [abgeändert nach LIPSKA & WEINBERGER, 2000].

1.4 Verhaltenstests

Ein Großteil der schizophrenen Symptomatik umfasst typisch menschliche Eigenschaften (siehe 1.2.1) und kann aus diesem Grund im Tier nicht nachgebildet werden. Positive und negative Symptome der Schizophrenie treten jedoch häufig sekundär als Antwort auf kognitive Dysfunktionen auf [CAPLETON, 1996; VORUGANTI *ET AL.*, 1997]. Da äquivalente kognitive Funktionen bei der Ratte gut erfasst werden können, besteht hier eine Möglichkeit im Tiermodell einige Aspekte psychischer Erkrankungen nachzubilden [JENTSCH & ROTH, 1999].

Tiermodelle basieren auf dem Konzept von „Endophänotypen“. Ein Endophänotyp bezeichnet hierbei ein physiologisches Merkmal, das mit der Erkrankung assoziiert ist,

aber im Vergleich zum klinischen Symptom näher an der biologischen Ursache der Störung liegt und daher im Versuchstier abgebildet werden kann. Endophänotypen, die für die Nachbildung schizophrener Symptome eine Rolle spielen, sind unter anderem Störungen des WM und der Verhaltensflexibilität sowie eine fehlende Reaktionsunterdrückung und Aufmerksamkeitsdefizite [KOCH, 2002].

1.4.1 Arbeitsgedächtnis

Dysfunktionen des WM, also die Fähigkeit Informationen zeitlich begrenzt zu speichern, können beim Menschen mit Hilfe des *n-back task* überprüft werden (siehe 1.2.1), der jedoch auf Ratten in dieser Form nicht übertragen werden kann. Da Ratten ein sehr gutes räumliches Orientierungsvermögen besitzen, wurden zur Messung der WM-Leistung bei Nagern Labyrinthaufgaben entwickelt, die mit den beim Menschen durchgeführten Aufgaben vergleichbar sind (Abbild-Validität).

Ratten sind in der Lage, ein Ziel von verschiedenen unbekanntem Startpunkten aus aufzusuchen und den Rückweg zu finden, auch wenn der direkte Weg blockiert ist. Diese Fähigkeit des flexiblen, zielorientierten Lernens wurde dahingehend interpretiert, dass die Ratten über die Bildung einer kognitiven Karte ein inneres Abbild ihrer Umwelt erstellen [TOLMAN, 1948]. Es wird vermutet, dass der HIPP und der EC eine wichtige Rolle bei der Bildung dieser kognitiven Landkarte und damit beim räumlichen Lernen spielen [BEST ET AL., 2001].

Eine Vielzahl verschiedener Labyrinth (z.B. T-Maze, Y-Maze, Cross Maze, Radial Maze, Water Maze) wurden zur Messung räumlicher Lern- und Gedächtnisleistungen bei Nagern entwickelt [OLTON, 1979]. Besonders häufig wird das von Olton und Samuelson eingeführte 8-Arm Radial Maze eingesetzt [OLTON & SAMUELSON, 1976], in dem Ratten darauf trainiert werden, eine Futterbelohnung, die sich am Ende der Arme befindet, einzusammeln. Dabei können entweder alle Arme (belohnte Alternation) oder auch nur vier Arme (*4-arm-baited 4-arm-unbaited test*) oder ein Arm (z.B. beim Regellernen) belohnt sein. Die Aufgabe für die Ratte besteht darin, zu behalten, welcher Bereich des Labyrinthes in vergangenen Durchgängen belohnt wurde und welcher nicht, sowie welche Gänge bereits exploriert wurden. Ein Eintritt in einen Arm, der nie belohnt ist, wird dabei als Maß für ein *reference memory* Defizit (*reference memory error*; RME) angesehen, während hingegen ein Wiedereintritt in einen bereits zuvor besuchten Arm als WM-Fehler (*working memory error*; WME) gewertet wird. Dabei stellt das *reference memory* einen Aspekt des

Langzeitgedächtnis dar (RM), das WM wird dem Kurzzeitgedächtnis zugeordnet. RM bezeichnet somit die Fähigkeit, Informationen über einen längeren Zeitraum (Tage/Wochen/Monate) zu behalten, während hingegen das WM Informationen nur vorübergehend speichern kann (Sekunden/Minuten) [GOLDMAN-RAKIC, 1995]. Zur Überprüfung der WM-Leistungen wird häufig die belohnte Alternation eingesetzt, bei der alle acht Arme des Labyrinthes belohnt werden. Ein RM-Defizit kann jedoch mit diesem Test nicht aufgedeckt werden. Durch Einfügen einer Verzögerung zwischen den einzelnen Armeintritten kann die Anforderung an das WM erhöht werden.

Räumliches Lernen ist eine komplexe assoziative Aufgabe, die sowohl beim Menschen als auch bei der Ratte insbesondere von der Funktion des HIPP und angrenzender Regionen, z.B. des EC, abhängt (Konstrukt-Validität). Bei psychischen Erkrankungen, die mit Dysfunktionen des HIPP und EC verbunden sind, ist vor allem das räumliche WM beeinträchtigt [GOLDBERG & GOLD, 1995; MCGRATH *ET AL.*, 2001; MENON *ET AL.*, 2001]. Eine besondere Rolle spielt dabei der NMDA-Rezeptor-Komplex im medialen Temporallappen [ZOLA-MORGAN & SQUIRE, 1993]. Bei Nagern induzieren exzitotoxische Läsionen des HIPP [HOCK & BUNSEY, 1998; JARRARD, 1993] und extrahippocampaler Strukturen [AGGLETON *ET AL.*, 1996; LIU & BILKEY, 1999] sowie intra-hippocampale Infusionen des NMDA-Rezeptor-Antagonisten AP-5 oder knockout der hippocampalen CA1 NMDA-Rezeptoren Funktionsstörungen dieses Komplexes, die mit räumlichen Defiziten, insbesondere des WM, verbunden sind [TSIEN *ET AL.*, 1996] und durch klinisch wirksame Antipsychotika antagonisiert werden können (prädiktive Validität). Akute und auch chronische systemische Applikation kompetitiver (AP-5) und nicht-kompetitiver NMDA-Rezeptor-Antagonisten (Dizocilpin) induziert ebenfalls Defizite beim Erlernen räumlicher Aufgaben (Akquisition), vor allem nach Einfügen einer Verzögerung [JENTSCH *ET AL.*, 1997; JENTSCH & ROTH, 1999; SCHACTER *ET AL.*, 1989].

Räumliche Gedächtnisfunktionen werden jedoch nicht nur von glutamatergen sondern auch von dopaminergen und cholinergen (nicotinerg und muscarinerg) Systemen moduliert. Dysfunktionen des räumlichen Lernens können durch Injektion von DA-Rezeptor-Agonisten induziert werden [BARON *ET AL.*, 1998]. Eine Blockade der cholinergen Systeme, z.B. durch Läsionen, Erkrankungen (Morbus Alzheimer) oder durch Antagonisten (wie z.B. Mecamylamin oder Scopolamin) unterbricht die Interaktionen mit dem dopaminergen System und führt dadurch ebenfalls zu schweren WM-Defiziten [KIM & LEVIN, 1996].

1.4.2 Verhaltensflexibilität

Die Verhaltensflexibilität kann beim Menschen mit Hilfe des WCST überprüft werden (siehe 1.2.1). Da die Durchführung eines solchen Tests bei Ratten nicht praktikabel ist, wird dieser Test zur Messung der Verhaltensflexibilität im Labyrinth durch das Wechseln zwischen einer räumlichen und einer nicht-räumlichen Strategie nachgebildet.

Ratten können auf zwei unterschiedliche Arten in ihrer Umwelt navigieren. Zum einen können sie sensorische Informationen aus der Umwelt zur Orientierung einsetzen, so dass jeder Ort in der Umwelt mit einer bestimmten Anordnung verschiedener, meist visueller Stimuli verbunden ist. Das Erlernen des Auffindens solcher Orte anhand externer Landmarken wird als allozentrisches Lernen bezeichnet (*place learning*). Zum anderen können die Tiere ihre Position unabhängig von externen Landmarken anhand ihrer eigenen Bewegungsabläufe bestimmen. Dabei wird die Körperposition in Relation zu einem Startpunkt analysiert. Diese Form der Orientierung wird als egozentrisch bezeichnet (*response learning*) [DECOTEAU & KESNER, 2000; RAGOZZINO ET AL., 1999; WHISHAW ET AL., 1997].

Zur Messung der Verhaltensflexibilität erlernen die Ratten zunächst eine allozentrische und dann eine egozentrische Strategie, um eine Belohnung zu erhalten. Bei der allozentrischen Strategie befindet sich die Belohnung während der gesamten Versuche immer in demselben, durch eine visuelle Landmarke gekennzeichneten Arm, während sie sich bei der egozentrischen Orientierung hingegen z.B. immer in dem rechts vom Startarm gelegenen Arm befindet. Nach Erlernen dieser beiden Strategien wird zwischen den Regeln gewechselt und gemessen, wie schnell die Ratte ihr Verhalten der neuen Regel entsprechend anpasst. Ein Beharren auf der zuvor angewendeten Strategie wird als Perseveration gedeutet und dient als Maß für die kognitive Flexibilität der Tiere (Abbild-Validität). Zusätzlich ist eine Überprüfung der WM- und RM-Leistungen möglich.

Die Verhaltensflexibilität wird, wie auch das WM, insbesondere vom HIPP, aber auch vom Striatum und PFC reguliert (Konstrukt-Validität). Es wurde gezeigt, dass Läsionen des HIPP allozentrisches Lernen unterbrechen, während hingegen egozentrisches Lernen sensitiv auf Schäden des Striatums reagiert [CHANG & GOLD, 2003; DECOTEAU & KESNER, 2000; JARRARD, 1995; KESNER ET AL., 1993]. Desweiteren reduziert eine chronische Behandlung mit NMDA-Rezeptor-Antagonisten die Fähigkeit zwischen zwei Strategien zu wechseln [JENTSCH & TAYLOR, 2001].

1.4.3 Motivation

Ein Test, der als Tiermodell zur Nachbildung der Anhedonie und der Avolition, einem Aspekt der negativen Symptome der Schizophrenie, eingesetzt wird und in den letzten Jahren immer mehr Aufmerksamkeit erregt hat, ist der *progressive ratio* (PR) Test der operanten Konditionierung [BARR & PHILLIPS, 1999]. Instrumentelles Verhalten ist ein komplexer Prozess, an dem Lernmechanismen aber auch motorische und motivationale Aspekte beteiligt sind [SALAMONE & CORREA, 2002]. Bei dem PR Test wird die Ratte zunächst in einer Skinner-Box darauf trainiert für eine Futterbelohnung einen Hebel zu drücken. Nach Erreichen eines stabilen Leistungsniveaus wird die operante Anforderung (Hebel drücken) für den Erhalt einer Belohnung schrittweise angehoben bis die Tiere abhängig von der Motivation das Hebel drücken einstellen. Dieser sogenannte *breakpoint* charakterisiert den maximalen Aufwand, den die Tiere bereit sind zu erbringen um eine Belohnung zu erhalten [BARR & PHILLIPS, 1999; HO ET AL., 2003]. Außerdem stellt er ein Maß für die relative Stärke der Belohnung dar [CHEETA ET AL., 1995; HODOS, 1961]. Der *breakpoint* gibt somit den Punkt an, an dem der belohnende Wert geringer ist als die Bereitschaft der Ratte den geforderten Aufwand für den Erhalt der Belohnung zu erbringen [ELLENBROEK & COOLS, 2000]. Dabei bestimmt der Motivationszustand der Ratte die Wirksamkeit der Belohnung. Bei hungrigen Ratten steigt der *breakpoint* mit zunehmendem belohnenden Wert, z.B. steigender Konzentration einer Zuckerlösung oder Anzahl der Futterpellets, während bei durstigen Ratten die Konzentration der Zuckerlösung keinen Einfluss auf die Antworteigenschaften im PR Test besitzt [REILLY, 1999]. Der *breakpoint* wird allerdings nicht nur von der Stärke der Belohnung und der Motivation des Individuums sondern auch von nicht-motivationalen Faktoren, wie z.B. motorischen Defiziten, der Höhe des Hebels oder der Kraft, die für einen Hebel druck erforderlich ist, beeinflusst. Ein weiterer Faktor, der die Leistung im PR Test beeinflussen kann, ist aversive Frustration beim Ausbleiben einer Belohnung (Abbild-Validität) [ELLENBROEK & COOLS, 2000; STEWART, 1975].

Der *breakpoint* kann durch Dysfunktionen des limbisch-striato-pallidalen Systems (*motive circuit*) reduziert werden, das wichtig für die Übersetzung von Motivation in zielgerichtetes Verhalten ist [MOGENSON ET AL., 1980; MOGENSON ET AL., 1993]. Viele limbische Strukturen, einschließlich des HIPP und des EC, senden Informationen zum ventralen Striatum, vor allem zur Shell Region des NAC, die dann in einen striato-thalamo-corticalen Kreislauf gelangen. Zusätzlich besteht ein direkter

limbischer Eingang zu diesem Kreislauf auf Ebene des Thalamus, wo er sich mit dem indirekten limbisch-striato-pallidalen Signal verbindet [BROWN & PLUCK, 2000; SWANSON, 2000]. Die Übersetzung von Motivation in eine Verhaltensantwort erfolgt daher vermutlich über dopaminerge Interaktionen auf der Ebene des NAC [ROBBINS & EVERITT, 1996]. Dabei moduliert eine corticale DA-Freisetzung die cortico-striatalen Fasern und beeinflusst dadurch die Aktivität des striato-thalamo-corticalen Kreislaufes (Konstrukt-Validität). Die Motivation und das damit verbundene Fressverhalten werden vor allem über eine Disinhibition und damit eine Aktivierung der Neurone des lateralen Hypothalamus induziert [KELLEY & BERRIDGE, 2002].

Eine Reduktion des *breakpoint* kann durch die Injektion psychotogener Substanzen, wie z.B. von Amphetamin oder PCP, induziert werden [CILIA ET AL., 2001; FREDERICK ET AL., 1995; PAULE, 1994]. Dabei wird in erster Linie die präparatorische und nicht die konsumatorische Phase beeinflusst [ROBBINS & EVERITT, 1996; SALAMONE ET AL., 1994]. Somit ist das meso-cortico-limbische System nicht erforderlich für die Vermittlung der hedonischen Reaktion auf die Belohnung (*liking*), jedoch für die Motivation ein zielgerichtetes Verhalten auszulösen um diese Belohnung zu erhalten (*wanting*) [BERRIDGE & ROBINSON, 1998; SALAMONE & CORREA, 2002]. Das atypische Antipsychotikum Clozapin, das auch zur Behandlung der Negativsymptomatik der Schizophrenie eingesetzt werden kann [BRUNELLO ET AL., 1995; WORREL ET AL., 2000], hebt den *breakpoint* an, während das typische Antipsychotikum Haloperidol, welches vor allem auf positive Symptome wirkt, keinen Einfluss auf den *breakpoint* besitzt [CILIA ET AL., 2001] oder diesen reduziert [MOBINI ET AL., 2000] (prädiktive Validität).

1.4.4 Lokomotorische Aktivität

Bei der Ratte initiiert eine unbekannte Umgebung motorische Aktivität, die durch verschiedene Verhaltensweisen, z.B. Exploration, Lokomotion, Aufrichten und Putzen, gekennzeichnet ist. Durch dieses Verhalten erhält die Ratte Informationen über die neue Umgebung, die in der freien Natur für die Nahrungssuche, den Nestbau, das Finden von Sexualpartnern und den Schutz vor Feinden wichtig sind. Die Aktivität nimmt normalerweise über die Zeit ab, wenn die Ratte genug Informationen gesammelt und sich an die neue Umgebung gewöhnt hat (Habituation). Im Tierversuch wird die Lokomotion in der Regel in einer Aktivitätsbox mit Hilfe von Lichtschranken gemessen.

Die lokomotorische Aktivität wird über einen komplexen Schaltkreis reguliert, an dem die Basalganglien sowie limbische und motorische Strukturen beteiligt sind (Abb.12). Die Interaktionen zwischen dem cortico-limbischen und motorischen System finden vor allem auf Ebene des dorsalen (Caudate putamen [CPu]) und ventralen Striatums (NAC) statt, die dopaminerge Projektionen aus der VTA und glutamaterge Projektionen aus cortico-limbischen Regionen (z.B. aus der Amygdala, dem HIPP, dem EC und dem PFC) erhalten und die wichtigsten Eingangsstrukturen der Basalganglien darstellen. Der NAC projiziert hauptsächlich zum VP, das einerseits direkt und andererseits über den pedunculo-pontinen tegmentalen Kern (PPTg) die Aktivität des Thalamus beeinflusst. Der Thalamus projiziert dann seinerseits zu motorischen Arealen des Cortex. Vom PPTg ziehen zusätzlich Projektionen, die an der Induktion einer motorischen Antwort beteiligt sind, über die mediale medulläre Formatio reticularis des Hirnstamms ins Rückenmark [SKINNER & GARCIA-RILL, 1993].

Der CPu-Komplex projiziert hingegen GABAerg über zwei miteinander interagierende Bahnen zur Substantia nigra pars reticulata (SNr) und dem Globus pallidus internus (GPi = Nucleus entopeduncularis bei Nagern), die die Ausgangsstrukturen der Basalganglien darstellen. Dabei inhibiert die direkte striato-nigrale Bahn monosynaptisch GABAerge Neurone im GPi oder der SNr und bewirkt nachfolgend eine Enthemmung des Thalamus. Die indirekte striato-pallidale Bahn reguliert die thalamische Aktivität über eine polysynaptische Verschaltung. Dabei verläuft zunächst eine inhibitorische Projektion vom NAC zum Globus pallidus externus (GPe). Dadurch wird die GABAerge Hemmung pallidaler Neurone auf den Nucleus subthalamicus (STN) reduziert, der dann über glutamaterge Projektionen eine exzitatorische Wirkung auf den GPi und die SNr ausübt. Folge ist eine verstärkte Hemmung des Thalamus. Die indirekte Bahn reduziert somit die exzitatorische Wirkung des Thalamus auf verschiedene, für die Motorik verantwortliche Cortexareale, während die direkte Bahn diese verstärkt. Dabei ist ein Gleichgewicht zwischen diesen beiden Projektionsbahnen für die Bewegungskoordination von Bedeutung [MINK, 1999].

Eine wichtige Bedeutung bei der Regulation der lokomotorischen Aktivität kommt dem DA-System zu. Es wird vermutet, dass ein Anstieg des striatalen DA zum Überwiegen des direkten striato-nigralen Projektionsweges führt, wodurch der GPi und die SNr verstärkt gehemmt werden. Folge ist eine Disinhibition des Thalamus, die mit einer verstärkten Aktivität thalamo-corticaler Neurone verbunden ist [WICHMANN &

DELONG, 1996]. Eine Hyperlokomotion kann zum einen durch einen Anstieg der DA-Freisetzung oder eine Aktivierung der DA-Rezeptoren im Striatum mittels Injektion von DA-Rezeptor-Agonisten [PIJNENBURG *ET AL.*, 1976; WEINER *ET AL.*, 1996], zum anderen aber auch über eine Unterbrechung der limbischen glutamatergen Bahnen, z.B. durch Injektion von NMDA-Rezeptor-Antagonisten oder durch Läsionen limbischer Strukturen, induziert werden [MOGENSON *ET AL.*, 1993].

Es wird angenommen, dass das mesolimbische System innere motivationale und äußere sensorische Reize über den NAC zu zielgerichtetem motorischen Verhalten verarbeitet, während das nigrostriatale System über das dorsale Striatum die Bewegungsausführung reguliert. Der NAC stellt somit eine Zwischenstation (*interface*) zwischen den Strukturen dar, die für die Umwandlung motivierender Reize in zielgerichtetes motorisches Verhalten zuständig sind [MOGENSON *ET AL.*, 1993; ROBBINS & EVERITT, 1996].

Eine dopaminerge Hyperaktivität spielt eine wichtige Rolle bei zahlreichen psychischen Erkrankungen. Da dem dopaminergen System ebenfalls eine zentrale Bedeutung bei der Regulation der lokomotorischen Aktivität zukommt, können in diesem Verhaltenstest Aspekte der DA-Hypothese der Schizophrenie nachgebildet werden (Konstrukt-Validität), obwohl Hypoaktivität kein prominentes Symptom der Schizophrenie ist und deshalb nur bedingte Abbild-Validität besteht. Die durch eine dopaminerge Hyperaktivität ausgelöste Lokomotion kann jedoch durch klinisch wirksame Antipsychotika reduziert werden. Aufgrund dieser prädiktiven Validität ist die Messung der lokomotorischen Aktivität bei der Ratte ein geeignetes Modell zur Überprüfung der Wirksamkeit antidopaminergere Substanzen.

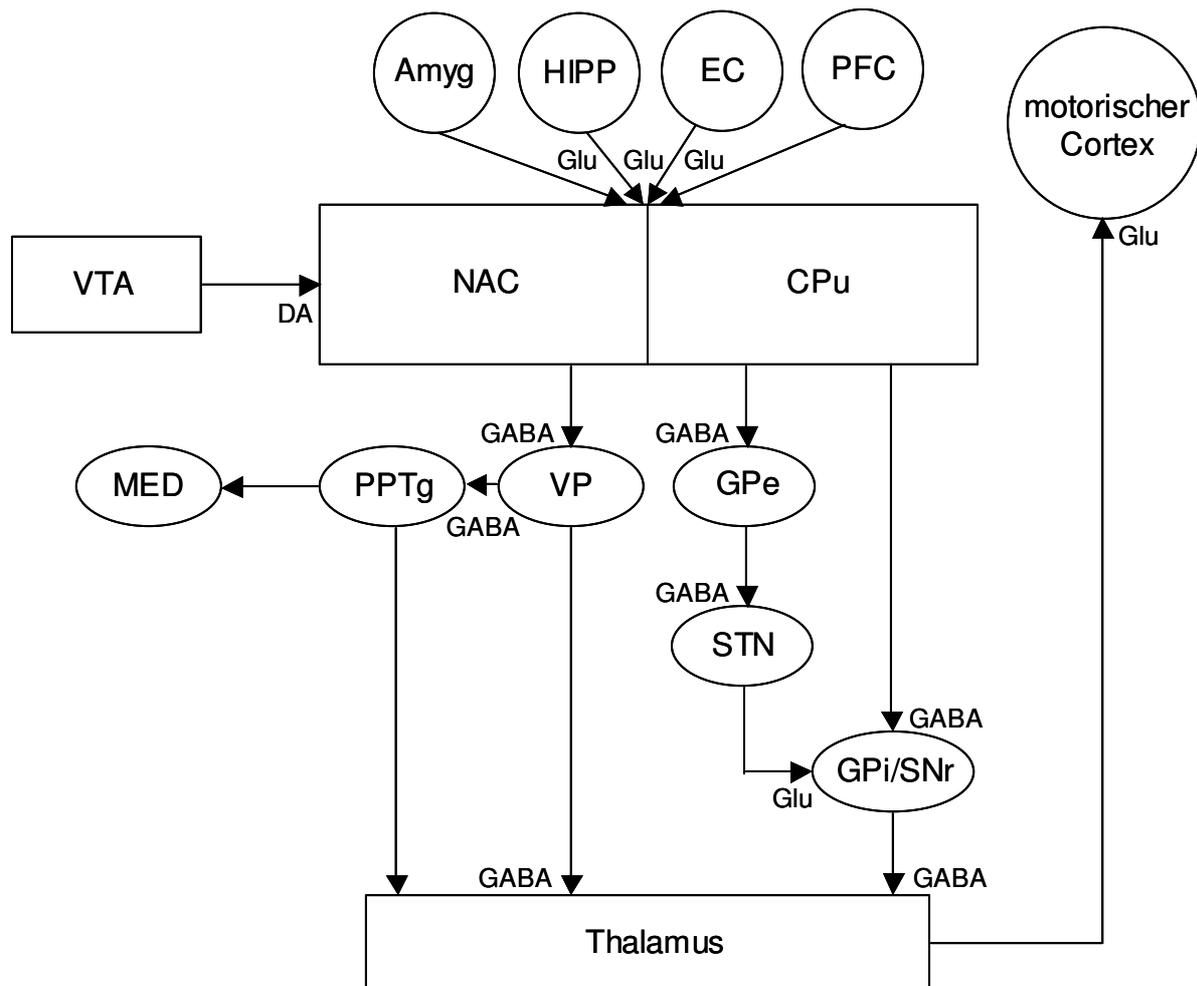


Abb.12: Schematische Darstellung der cortico-limbisch-striato-pallido-thalamo-corticalen *feedback*-Schleife, die an der Regulation der lokomotorischen Aktivität beteiligt ist. Erklärung siehe Text.

Abkürzungen: Amyg – Amygdala; CPu – Caudate putamen; DA – Dopamin; EC – entorhinaler Cortex; GABA – γ-Aminobuttersäure; Glu – Glutamat; GPe – Globus pallidus externus; GPi – Globus pallidus internus; HIPP – Hippocampus; MED - mediale medulläre Formatio reticularis; NAC – Nucleus accumbens; PFC – präfrontaler Cortex; PPTg – pedunculo-pontiner tegmentaler Kern; SNr – Substantia nigra pars reticulata; STN – Nucleus subthalamicus; VP – ventrales Pallidum; VTA – ventrales tegmentales Areal.

1.4.5 Präpulsinhibition der akustisch ausgelösten Schreckreaktion

Die akustisch ausgelöste Schreckreaktion (ASR) ist eine natürliche Abwehr- und Schutzreaktion auf plötzlich auftretende, intensive, akustische Reize. Sie ist charakterisiert durch ein stereotypes Muster bestehend aus Kontraktionen der Gesichts- und Skelettmuskulatur und kann bei Mensch und Ratten durch identische Reizparameter ausgelöst werden. Die Messung erfolgt beim Menschen elektromyographisch über den *Musculus orbicularis oculi*, also über den Lidschlag, und bei der Ratte in der Regel als Ganzkörperreaktion mit Hilfe einer bewegungssensitiven Plattform. Die ASR wird über eine oligosynaptische Bahn auf Hirnstammniveau vermittelt. Eine zentrale Rolle spielt dabei der Nucleus reticularis pontis caudalis (PnC), der auch als „sensomotorisches Interface“ betrachtet wird. Der akustische Reiz wird von Neuronen des vestibulo-cochleären Ganglions (*cochlear root*) über glutamaterge Bahnen auf Riesenneurone des PnC übertragen. Von dort erfolgt dann die Projektion auf spinale und craniale Motoneurone, die für die motorische Antwort zuständig sind [KOCH & SCHNITZLER, 1997; KOCH, 1999; YEOMANS & FRANKLAND, 1996].

Die ASR kann durch einen Präpuls gehemmt werden, der 30 – 500 ms vor dem Schreckreiz präsentiert wird und selbst keine Schreckreaktion hervorruft (Abb.13). Dieses Phänomen wird als PPI bezeichnet und ist sowohl beim Menschen als auch bei der Ratte ein operationales Maß für die sensorimotorische Reaktionsunterdrückung [KOCH & SCHNITZLER, 1997; KOCH, 1999; SWERDLOW *ET AL.*, 2001a]. Dabei aktiviert der Präpuls vermutlich eine neuronale Hemmschleife, die eine Verarbeitung nachfolgender, möglicherweise konkurrierender sensorischer, motorischer und kognitiver Sinneseingänge unterdrückt und dadurch die ungestörte Verarbeitung des Präpulses gewährleistet sowie Interferenzen von Verhaltensabläufen verhindert [KOCH & SCHNITZLER, 1997]. Dieser Mechanismus schützt somit die Verarbeitung des initialen Stimulus, dient der Filterung von Informationen und verhindert dadurch sensorische Überflutung und kognitive Fragmentierung, die bei zahlreichen psychiatrischen Erkrankungen auftritt [GEYER *ET AL.*, 2001; KOCH & FENDT, 2003; VAN DEN BUUSE *ET AL.*, 2003].

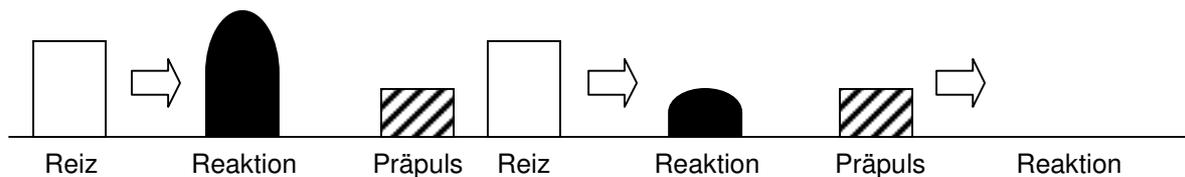
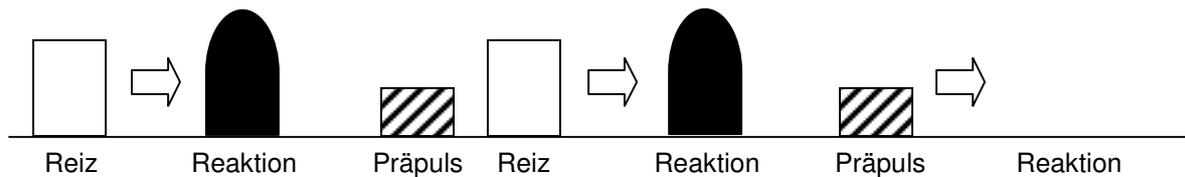
A Präpulsinhibition**B Reduktion der Präpulsinhibition**

Abb.13: Schema zur Präpulsinhibition (PPI) der akustisch ausgelösten Schreckreaktion (ASR). Ein Präpuls, der selbst keine Schreckreaktion auslöst, hemmt die ASR, wenn er 30 – 500 ms vor dem Reiz präsentiert wird (A). Bei einer Reduktion der PPI besitzt der Präpuls keinen Effekt auf die Reaktionsamplitude (B) [abgeändert aus KOCH & SCHNITZLER, 1997].

In neuroanatomischen und elektrophysiologischen Studien wurde ein cortico- limbisch-striato-pallido-pontiner Schaltkreis ermittelt, der vermutlich für die Regulation der PPI verantwortlich ist. Der akustische Präpuls aktiviert die aufsteigende Hörbahn auf Mittelhirnniveau. Dabei wird der Reiz über den Colliculus inferior und den Colliculus superior zum PPTg geleitet [FENDT *ET AL.*, 2001]. Von dort aus verläuft eine inhibitorische cholinerge Projektion zum PnC (Abb.14 Mitte), über die PnC-Riesenneurone der primären Schreckbahn gehemmt werden (Abb.14 linke Seite) [CARLSON & WILLOTT, 1998]. Folge ist eine Abschwächung der Verarbeitung des nachfolgenden Schreckreizes. Dieser Kreislauf kann durch das cortico- limbisch-striatale System beeinflusst werden. Der NAC spielt dabei eine wichtige Rolle als Zwischenstation für die Interaktion corticaler und limbischer Regionen mit dem PPTg. Der NAC erhält glutamaterge Afferenzen vom septohippocampalen System, der Amygdala und dem PFC sowie dopaminerge Afferenzen von der VTA. Über direkte und indirekte (über das VP) GABAerge Projektionen zum PPTg beeinflusst der NAC die Hemmung der primären Schreckbahn (Abb.14 rechte Seite) [KOCH & SCHNITZLER, 1997; KOCH, 1999].

Ein PPI-Defizit kann im Tierversuch durch Stimulation der D₂-Rezeptoren im NAC und im medialen Striatum (z.B. durch Amphetamin oder APO), Blockade

nicht-kompetitiver NMDA-Rezeptoren (z.B. durch PCP oder Dizocilpin), Blockade der 5-HT₂-Rezeptoren, Stimulation der 5-HT₁-Rezeptoren, Stimulation von α_1 -adrenergen Rezeptoren (Cirazoline), und *in utero* Applikation des Mitose-Inhibitors MAM induziert werden [GEYER *ET AL.*, 2001; KOCH, 1999; SWERDLOW *ET AL.*, 1990]. Auch nicht-pharmakologische Eingriffe wie zum Beispiel präpubertäre soziale Isolation (*social isolation*) [GREENE *ET AL.*, 2002], Trennung von der Mutter für 24 Stunden (*maternal separation*) [ELLENBROEK *ET AL.*, 1998; VAN DEN BUUSE *ET AL.*, 2003] oder Störung neuronaler Kreisläufe durch Läsionen des HIPP [LIPSKA *ET AL.*, 1995], NAC [WAN & SWERDLOW, 1993] oder PPTg [KOCH *ET AL.*, 1993; SWERDLOW & GEYER, 1993] können ein PPI-Defizit hervorrufen. Die experimentell induzierten Defizite können ebenso wie die Defizite bei Schizophrenen durch atypische (Clozapin, Olanzapin, Risperidon) und typische (Haloperidol) Antipsychotika reduziert werden [BAKSHI *ET AL.*, 1994; GEYER *ET AL.*, 2001; KOCH & BUBSER, 1994].

Die Tatsache, dass viele der pharmakologischen Manipulationen der PPI bei Versuchstieren auf den Menschen übertragbar scheinen, lässt vermuten, dass eine Homologie der Hirnstrukturen, die die PPI vermitteln und modulieren, besteht (Konstrukt-Validität). Die Fähigkeit der Antipsychotika ein PPI-Defizit zu normalisieren, korreliert mit der klinischen Wirksamkeit dieser Substanzen beim Menschen, sowie mit ihrer D₂-Rezeptor-Affinität [SWERDLOW *ET AL.*, 1994]. Mit diesem Modell lässt sich also die antipsychotische Wirksamkeit einer Substanz mit relativ guter Verlässlichkeit prüfen (prädiktive Validität). Zusätzlich rufen fast identische Reizparameter bei Mensch und Tier vergleichbare Reaktionen hervor (Abbild-Validität).

Da viele neuropsychiatrische Erkrankungen mit einem PPI-Defizit verbunden sind, stellt die Messung der PPI sowie die Studie der Mechanismen, die der PPI zugrunde liegen, ein gutes Tiermodell mit Konstrukt-, Abbild- und prädiktiver Validität zur Erforschung der neuronalen Basis neuropsychiatrischer Erkrankungen dar [KOCH & FENDT, 2003].

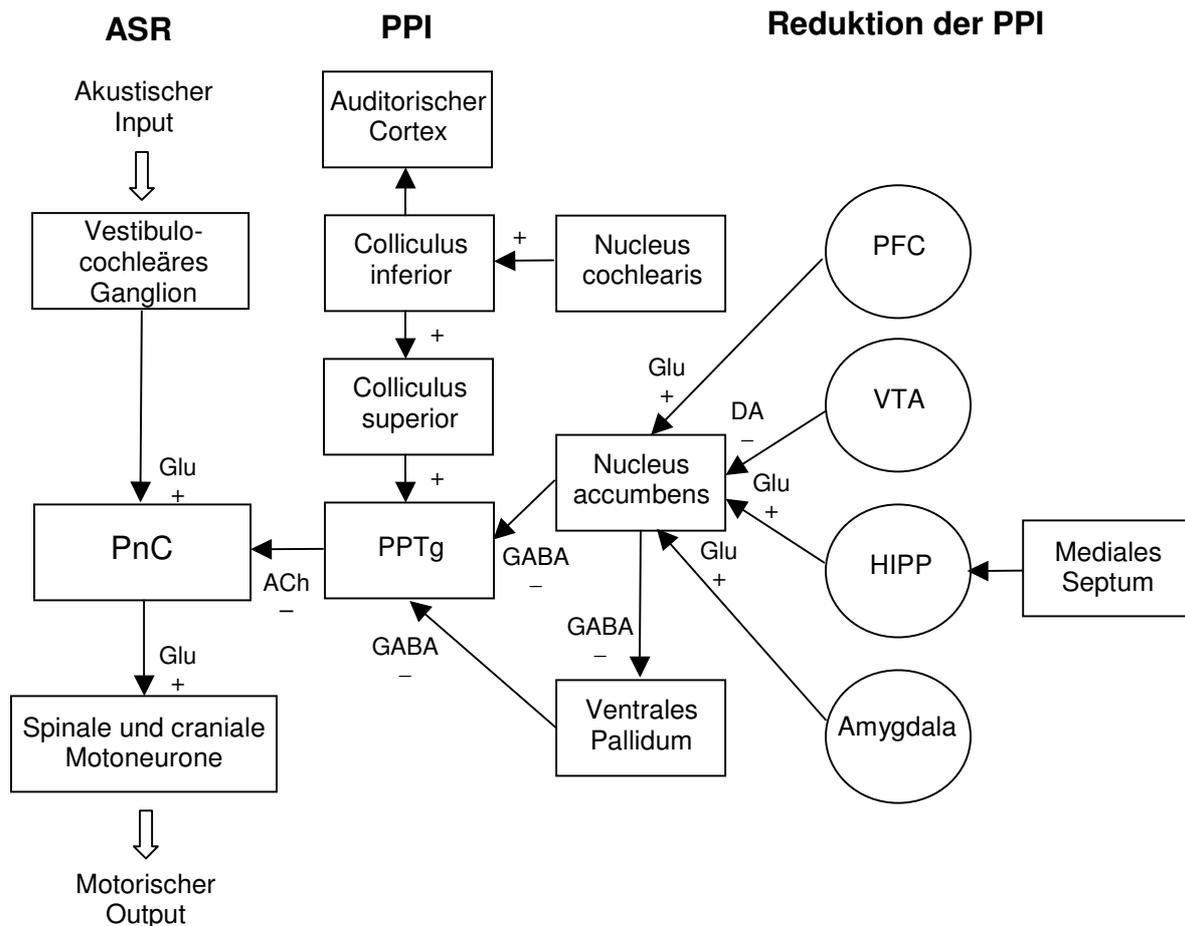


Abb.14: Neuronaler Schaltkreis der primären Schreckbahn (ASR), der Präpulsinhibition (PPI) durch einen auditorischen Präpuls sowie der Reduktion der Präpulsinhibition. Erklärung siehe Text.

Abkürzungen: ACh – Acetylcholin; DA – Dopamin; GABA – γ -Aminobuttersäure; Glu – Glutamat; HIPP – Hippocampus; PFC – präfrontaler Cortex; PnC – Nucleus reticularis pontis caudalis; PPTg – pedunculo-pontiner tegmentaler Kern; VTA – ventrales tegmentales Areal; (+) – erregend; (-) – hemmend.

1.5 Ziel der Arbeit

Die Entwicklung geeigneter Tiermodelle für psychische Erkrankungen, wie z.B. die Schizophrenie, ist von großer Bedeutung für die weitere Klärung der pathophysiologischen Mechanismen. Ein Problem stellt jedoch die Komplexität der Symptome dar. Außerdem können typisch menschliche Eigenschaften im Tiermodell nicht oder nur schwer nachgebildet werden, so dass eine Reproduktion dieser Erkrankungen in ihrer Gesamtheit nicht möglich ist. Einen Ansatzpunkt bietet hier die Strategie, gezielt einzelne Aspekte der Symptomatik auszuwählen, die Endophänotypen darstellen. Kognitive Defizite, wie z.B. Störungen des WM und der

Verhaltensflexibilität, Antriebslosigkeit und Aufmerksamkeitsdefizite stellen die Grundlage für die Positiv- und Negativsymptomatik der Schizophrenie dar und können gut im Tiermodell nachgebildet werden [VORUGANTI *ET AL.*, 1997].

In den letzten Jahren hat sich das Interesse immer mehr den entwicklungsbedingten Aspekten psychischer Erkrankungen zugewandt, da eine Vielzahl neuropsychiatrischer Störungen vermutlich auf einer Fehlentwicklung cortico-limbischer Hirnregionen beruht [WEINBERGER, 1995]. Bei verschiedenen neurologischen und psychiatrischen Störungen sind anatomische Veränderungen des EC mit kognitiven Defiziten verbunden [BRAAK & BRAAK, 1992; HYMAN & GOMEZ-ISLA, 1996; KORDOWER *ET AL.*, 2001]. Der EC besitzt zudem zahlreiche Verbindungen zum HIPP und zu verschiedenen anderen subcorticalen Bereichen [WITTER *ET AL.*, 1989]. Deshalb wird eine Unterbrechung der Entwicklung des EC durch neonatale Läsionen vermutlich Reifungsprozesse der Kreisläufe, an denen der EC beteiligt ist, beeinflussen und dadurch Dysfunktionen im gesamten Netzwerk hervorrufen.

Ziel dieser Arbeit war deshalb, den EC durch eine selektive intracerebrale Injektion des NMDA-Rezeptor-Agonisten Ibotenat an PND 7 zu läsionieren. Dieses Entwicklungsstadium entspricht in etwa dem zweiten Trimester der Schwangerschaft beim Menschen [FINLAY, 2001] und stellt deshalb eine besonders vulnerable Periode dar, in der Läsionen zur Entstehung von Verhaltensstörungen beitragen können. Als Folge der neonatalen Läsion wird eine Störung der Entwicklung glutamaterger Projektionen zum HIPP sowie zu weiteren subcorticalen Strukturen (z.B. Amygdala, NAC) erwartet. Aufgrund der starken Projektionen zum HIPP sind Defizite beim räumlichen Lernen, insbesondere des WM und der Verhaltensflexibilität zu erwarten, während hingegen die Unterbrechung der Projektionen zum Striatum einen Einfluss auf die lokomotorische Aktivität, die Motivation und die sensorimotorische Informationsverarbeitung haben kann. Daher sollten in der vorliegenden Studie die Effekte der neonatalen EC-Läsion auf kognitive, motivationale, lokomotorische sowie sensorimotorische Leistungen adulter Ratten in verschiedenen Verhaltensparadigmen untersucht werden.

Zahlreiche psychotische und kognitive Symptome werden durch eine dopaminerge Hyperfunktion sowie eine glutamaterge Hypofunktion erklärt. In der vorliegenden Arbeit wurden daher die Effekte einer akuten Behandlung mit dem DA-Rezeptor-Agonisten APO auf die lokomotorische Aktivität und die sensorimotorische Informationsverarbeitung gemessen. Dabei sollte untersucht werden, ob durch die

Fehlentwicklung des EC eine Hypersensitivität gegenüber den Verhaltenseffekten von APO induziert wurde. Zusätzlich besteht die Möglichkeit, dass durch die Läsion Veränderungen des DA-Systems auftreten, die zunächst nicht direkt zu Verhaltensdefiziten führen. Aus diesem Grund sollte überprüft werden, ob diese maskierten Effekte durch die Behandlung mit dem DA-Rezeptor-Agonisten APO aufgedeckt werden können. In einem weiteren Ansatz wurden die Effekte einer chronischen Behandlung mit dem NMDA-Rezeptor-Antagonisten Dizocilpin auf die Verhaltensflexibilität, die lokomotorische Aktivität und die sensorimotorische Informationsverarbeitung gemessen. Dabei wurde geprüft, ob durch die neonatale Läsion des EC die nach einer chronischen hochdosierten Dizocilpin-Behandlung auftretenden Verhaltenseffekte potenziert werden. Da in verschiedenen Studien gezeigt wurde, dass eine wiederholte Applikation von Dizocilpin eine Sensitivierung der Effekte dieser Substanz induzieren kann [JENTSCH & ROTH, 1999], wurde zusätzlich die Auswirkung einer akuten niedrigdosierten Dizocilpin-Behandlung auf die sensorimotorische Informationsverarbeitung gemessen.

Nach einer entwicklungsbedingten Störung vor allem limbischer Regionen können strukturelle Veränderungen in den Zielregionen der jeweiligen Struktur erwartet werden. Myelin spielt eine wichtige Rolle für die Stabilisierung der entorhinalen-hippocampalen Projektionen während der späten Entwicklung [SAVASKAN *ET AL.*, 1999]. Die Expression des calcium-bindenden Proteins PV findet im HIPP ebenfalls in der frühen postnatalen Periode statt [SOLBACH & CELIO, 1991]. Neonatale Läsionen des EC können diese Entwicklung vermutlich über die Störung der Verbindungen zum HIPP unterbrechen und dadurch die inhibitorische GABAerge Regulation im HIPP beeinflussen. Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Studie abschließend untersucht, ob eine experimentell induzierte Entwicklungsstörung des EC einen Einfluss auf die Myelinisierung sowie die Expression GABAerger Interneurone in prominenten Gebieten des limbischen Systems (HIPP, Amygdala) besitzt.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Tiere

Für die Versuche wurden insgesamt 86 männliche Ratten verwendet. Hierbei handelte es sich um die Nachkommen der Verpaarung von Elterntieren des Stammes Wistar Hannover (Harlan Winkelmann, Borchon, Deutschland) am hiesigen Institut. Die Verpaarung der Elterntiere erfolgte jeweils in einem Standard-Makrolon®-Käfig (Typ-IV, tecniplast, Hohenpeißenberg, Deutschland), in dem sich ein Holzhaus als Versteckmöglichkeit befand. Drei Wochen nach der Verpaarung wurde das Männchen aus dem Käfig entfernt und einzeln in einem Standard-Makrolon®-Käfig Typ-III gehalten. Wurfdatum war das jeweilige Tagesdatum bis 17:00 Uhr. Erfolgte die Geburt nach 17:00 Uhr, wurde sie auf den nächsten Tag datiert. Der Tag der Geburt wurde als PND 0 definiert. Direkt nach der Geburt fand eine Reduktion der Anzahl der Jungtiere pro Wurf auf acht statt. Waren weniger als acht männliche Jungtiere vorhanden, so wurde die Wurfgröße mit weiblichen Tieren aufgefüllt. An PND 21 wurden die männlichen Jungtiere von ihren Müttern getrennt und in Gruppen von vier bis sieben Tieren in Standard-Makrolon®-Käfigen (Typ-IV) in einem separaten Halterraum, in dem sich keine weiblichen Ratten befanden, gehalten.

Sowohl die Zucht- als auch die Versuchstiere wurden in klimatisierten Räumen ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) gehalten. Ein Lichtprogramm regelte den Hell-Dunkel-Zyklus in 12-Stunden-Intervallen (Licht von 7:00 – 19:00 Uhr). Die Fütterung der Zuchttiere erfolgte *ad libitum* (nohrlin 10Z10, Nohrlin GmbH, Bad Salzuflen, Deutschland). Jungtiere wurden nach dem Absetzen von ihren Müttern weiterhin *ad libitum* gefüttert, bis sie ein Körpergewicht von etwa 180 g erreicht hatten. Ab diesem Zeitpunkt erfolgte eine restriktive Fütterung (12 g Haltungsfutter/Tier/Tag; nohrlin 10H10, Nohrlin GmbH, Bad Salzuflen, Deutschland), wodurch das Körpergewicht während der gesamten Versuchsdauer auf ungefähr 85% des Gewichtes, welches die Tiere bei *ad libitum* Fütterung erreichen, gehalten wurde. Alle Ratten hatten freien Zugang zu Leitungswasser, welches sich in Makrolonflaschen befand. Die Käfige wurden bei den Zuchttieren einmal wöchentlich und bei den Versuchstieren zweimal wöchentlich gereinigt.

Ab PND 21 wurden die Ratten bis zu Beginn der Verhaltensversuche an PND 70 täglich fünf Minuten gehändelt und an Caseinpellets (Dustless Precision Pellets,

BioServ, Frenchtown, USA), die in den Verhaltensversuchen als Belohnung eingesetzt wurden, gewöhnt. Alle Verhaltensversuche erfolgten während der Lichtphase zwischen 7:00 und 19:00 Uhr. Die operante Konditionierung (siehe 2.5) wurde zwischen 13:00 und 19:00 Uhr, alle anderen Verhaltensversuche zwischen 7:00 und 13:00 Uhr durchgeführt. Die Ratten wurden jeweils 30 min vor Versuchsbeginn in den Versuchsraum gebracht, um eine Erholung von dem Transport und eine Gewöhnung an den Versuchsraum zu gewährleisten. Während der Lichtphase spielte sowohl im Haltungsraum als auch in den Versuchsräumen leise ein Radio, wodurch ein konstantes Hintergrundgeräusch erzeugt wurde. Dadurch sollte eine Beeinflussung der Ratten durch plötzlich auftretende externe auditorische Reize minimiert werden.

2.2 Neonatale Läsionen des entorhinalen Cortex

Bilaterale neonatale Läsionen des EC wurden an PND 7 durch eine intracerebrale Injektion des Glu-Rezeptor-Agonisten Ibotenat (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) induziert.

2.2.1 Vorversuche

Zunächst wurden die Koordinaten für die Lage des EC bei neonatalen Ratten sowie die Ibotenat-Konzentration, welche selektive Läsionen des EC induziert, in Vorversuchen bestimmt.

In Anlehnung an Literaturdaten, die sich auf neonatale HIPPO-Läsionen bezogen [FLORES *ET AL.*, 1996], wurden neonatale Läsionen des EC zunächst mit 1 µg in 0,2 µl 0,01 M phosphatgepufferter Saline (PBS) sowie mit 1,5 µg in 0,3 µl PBS induziert. Die intracerebrale Injektion erfolgte in Anlehnung an den Hirnatlas von PAXINOS und WATSON [1998] zunächst bei folgenden stereotaktischen Koordinaten: +2,0 mm rostrocaudal (AP), ±3,5 mm oder ±4,0 mm lateral (L), 5 mm ventral (V) in Bezug zu Lambda. Eine Auswertung der Läsionen zeigte bei beiden Konzentrationen jedoch nur sehr kleine Läsionen, die zu weit rostral gelegen waren. In weiteren Versuchen wurde deshalb eine höhere Ibotenat-Konzentration eingesetzt (1,3 µg in 0,2 µl PBS) und die rostrocaudalen Koordinaten auf +1,5 mm in Bezug zu Lambda geändert. Die gut sichtbaren Läsionen befanden sich nun im dorsalen Bereich des EC, wobei jedoch Teile des angrenzenden Subiculum sowie des VH betroffen waren, während

hingegen der ventrale Bereich des EC keine Läsion aufwies. Aus diesem Grund wurden schließlich bei gleichbleibender Dosierung folgende Koordinaten in Bezug zu Lambda eingesetzt: AP +1,5 mm, L \pm 3,5 mm, V 6,0 mm. Zusätzlich wurde die Schnauze der Ratte während der Operation so weit abgesenkt, dass sich Bregma 5 mm unter Lambda befand. Da der EC durch seine stark ventrocaudale Lage schwer erreichbar ist, ermöglichte die Schrägstellung des Kopfes einen besseren Zugang zu dieser Struktur. Zusätzlich verlief dadurch der Einstichkanal innerhalb des EC, so dass eine Schädigung anderer Strukturen (VH, Subiculum) durch eventuell auftretende Diffusion des Neurotoxins entlang des Einstichkanals minimiert werden konnte. Die Auswertung der nun auftretenden Läsionen ergab eine im EC zentriert gelegene Läsion. Angrenzende Regionen waren nur geringfügig beschädigt.

Für die Herstellung der Injektionslösung wurden zunächst 5 mg Ibotenat in 470 μ l PBS gelöst. Da der pH-Wert dieser Lösung unter fünf und damit unter dem physiologischen pH von sieben lag, wurden etwa 25 μ l 1 M NaOH hinzugefügt. Anschließend wurde das Volumen mit PBS (pH 7,4) auf 500 μ l aufgefüllt. Die so hergestellte Stammlösung besaß eine Konzentration von 10 μ g/ μ l und wurde in 10 μ l Aliquoten bei -20°C aufbewahrt. Um für die intracerebrale Injektion eine Konzentration von 1,3 μ g Ibotenat in 0,2 μ l PBS zu erhalten, wurde jeweils ein Aliquot aufgetaut und mit 5 μ l PBS verdünnt.

2.2.2 Stereotaktische Läsion

Vor der Operation wurden die Ratten randomisiert in eine Läsions- (Ibotenat-Injektion; n=34), Scheinläsions- (Sham; Vehikel-Injektion; n=26) oder Kontrollgruppe (unoperiert; n=26) eingeteilt. Tiere der Läsions- und Scheinläsionsgruppe wurden durch Hypothermie anästhesiert. Dafür wurden sie zunächst in ein feuchtes Tuch gewickelt und dann für 15 – 20 Minuten in Eis gelegt. Anschließend wurden die Ratten in einem mit Ohrkränzen und einer Schnauzenklemme an neonatale Ratten angepassten Stereotakten (TSE, Bad Homburg, Deutschland) fixiert. Die Schnauzenklemme wurde hierbei soweit abgesenkt, dass Bregma 5 mm unterhalb von Lambda lag. Bregma bezeichnet den rostralen und Lambda den caudalen Kreuzungspunkt der Schädelknochennähte. Es folgte eine Inzision der Kopfhaut um die Schädeldecke freizulegen. Da die Schädeldecke bei neonatalen Ratten noch nicht vollständig verknöchert ist, konnte diese mit der Kanüle (Durchmesser: 0,63 mm) einer

Mikroliterspritze (1BR-5, 1 μ l, SGE GmbH, Darmstadt, Deutschland), durchstochen werden. Die Kanüle wurde in den EC abgesenkt und Ibotenat (1,3 μ g in 0,2 μ l PBS; Läsionsgruppe) oder PBS (0,2 μ l; Sham-Gruppe) wurde bilateral injiziert (AP +1,5; L \pm 3,5; V 6,0). Dafür wurde die Spitze der Kanüle zunächst eine Minute an der Injektionsstelle belassen. Dann wurde Ibotenat oder PBS über einen Zeitraum von drei Minuten appliziert (0,07 μ l/min). Anschließend verblieb die Injektionskanüle weitere fünf Minuten an der Injektionsstelle, um eine Diffusion in das umgebende Gewebe zu ermöglichen und ein Zurückfließen des Neurotoxins entlang des Einstichkanals zu minimieren. Abschließend wurde der Hautschnitt mit Einkomponenten-Klebstoff (SICOMET 85, Sichel-Werke GmbH, Hannover, Deutschland) verschlossen und die Ratten erhielten eine kodierte Ohrmarkierung, so dass alle Verhaltensversuche blind gegenüber der Behandlung der Ratten durchgeführt werden konnten. Die Ratten wurden auf eine elektrische Wärmeplatte (Typ SP12, MEDAX Nagel KG, Kiel, Deutschland) gelegt bis sie aufgewärmt waren und wieder ein normales Bewegungsmuster zeigten. Dann wurden sie zu ihren Müttern zurückgebracht.

2.3 Lernverhalten im 8-Arm Radial Maze

2.3.1 Aufbau des 8-Arm Radial Maze

Das räumliche Lernverhalten adulter Ratten wurde in einem 8-Arm Radial Maze (TSE, Bad Homburg, Deutschland) analysiert, welches aus hellgrauem Polyvinylchlorid (PVC) bestand. Es besaß eine octagonale zentrale Plattform mit einem Durchmesser von 48 cm und acht davon ausgehenden Armen (42,5 cm lang; 14,5 cm breit), die von grauen Seitenwänden (22,5 cm hoch) umgeben waren (Abb.15). Die Arme befanden sich in einem 45°-Winkel zueinander. Die Arme und die zentrale Plattform wurden während der Versuche mit Platten aus transparentem Plexiglas abgedeckt. Am Ende jedes Armes befand sich ein Futterschälchen (2,5 cm hoch x 4 cm Durchmesser), in das mit Hilfe eines automatischen Futterspenders als Belohnung ein 45 mg Caseinpellet gelegt werden konnte, das für die Ratten während der Versuche nicht sichtbar war. Jeder Arm konnte durch eine undurchsichtige, elektrische Falltür von der Zentralplattform abgetrennt werden, so dass die Ratten für einen bestimmten Zeitraum in den Armen oder auf der zentralen Plattform festgehalten werden konnten. Die

Versuche wurden mit einer Video Kamera (ViewCam VC 1026A, Conrad Electronic, Hirschau, Deutschland), die sich 2 m über dem Zentrum des Maze befand, auf einen sich außerhalb des Versuchsraumes befindenden Fernsehmonitor (Supercolor, Grundig) übertragen. Der Experimentator konnte so direkt nach dem Einsetzen der Ratte in das Maze den Raum verlassen, so dass das Tier völlig ungestört alleine im Versuchsraum war. In dem Versuchsraum befanden sich verschiedene visuelle Landmarken (Tür, Schränkchen, ungleichmäßige Beschaffenheit der Wand) und es herrschten konstante Lichtverhältnisse.

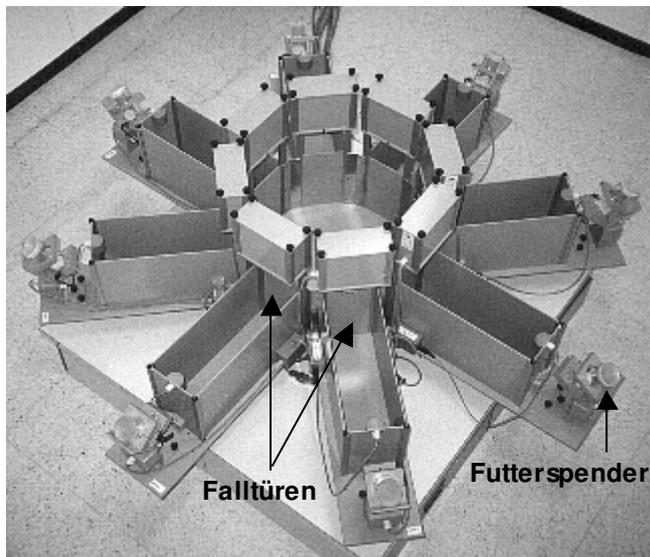


Abb.15: Abgebildet ist das 8-Arm Radial Maze, mit welchem Versuche zum räumlichen Lernen durchgeführt wurden. Erklärung siehe Text.

2.3.2 Eingewöhnung

Zur Eingewöhnung wurden die Ratten drei Tage vor Beginn des Trainings in Gruppen von vier bis sieben Tieren in das Zentrum des Maze gesetzt. Die Ratten durften das Maze zehn Minuten lang frei explorieren. Dabei wurden Caseinpellets in allen Armen, auf der zentralen Plattform sowie in den Futterschälchen des Maze verteilt. Wenn alle Pellets eingesammelt waren, wurden die Futterschälchen am Ende der Arme bis zum Ende der Eingewöhnungsphase immer wieder aufgefüllt, damit die Ratten lernen konnten, dass Belohnungen nur in den dafür vorgesehenen Futterschälchen vorhanden sind. Zusätzlich wurden die Falltüren mehrfach geschlossen und geöffnet, um die Ratten an die Bewegung der Türen und an das Geräusch des Motors zu gewöhnen.

2.3.3 Belohnte Alternation

Bei der belohnten Alternation handelt es sich um eine Standardaufgabe zur Messung des WM (ein Konstrukt zur Erklärung der Fähigkeit, Informationen über einen kurzen Zeitraum zu speichern). Dabei wurde zunächst jeder der acht Arme des Maze mit jeweils einem Caseinpellet belohnt. Zu Beginn des Versuchs waren alle Falltüren geschlossen. Jede Ratte wurde mit zufälliger Orientierung in das Zentrum des Maze gesetzt. Mit dem gleichzeitigen Öffnen aller Türen begann die Aufzeichnung der Versuchsparameter. Das Experiment war beendet, wenn die Ratte alle acht Pellets gefunden hatte oder zehn Minuten vergangen waren. Als Armeintritt wurde gewertet, wenn das Tier mit allen vier Beinen den Arm betreten hatte. Zunächst wurden die Ratten zehn Tage lang bei einem Lauf pro Tag trainiert. Anschließend wurde eine Verzögerung von 30 sec zwischen den Armeintritten eingeführt, um die Anforderung an das WM zu erhöhen. Während der Verzögerung wurden die Ratten durch Schließen der Falltüren in dem zuletzt besuchten Arm festgehalten, egal ob es sich um einen noch belohnten oder um einen bereits zuvor besuchten Arm handelte. Die Leistung der Tiere wurde weitere zehn Tage (ein Lauf pro Tag) gemessen.

Folgende Parameter wurden aufgezeichnet:

- (1) Anzahl der Arbeitsgedächtnisfehler (Wiedereintritt in einen bereits zuvor besuchten Arm; WME)
- (2) Anzahl der Perseverationsfehler (mehrfacher Eintritt in einen bereits zuvor besuchten Arm; PE)
- (3) Anzahl der Gesamtfehler (WME + PE)
- (4) Dauer bis zum Auffinden des letzten Pellets (maximal 600 sec)
- (5) Prozentuale Häufigkeit der Eintritte in die einzelnen Arme
- (6) Prozentuale Häufigkeit gelaufener Winkel zwischen aufeinanderfolgenden Armbesuchen, um das Muster der Armbesuche und damit die Explorationsstrategie zu erfassen. Dafür wurden die Werte der 90°, 135° und 180°-Winkel zusammengefasst und mit denen der 45°-Winkel verglichen.
- (7) Anzahl der Versuchstage, bis folgendes Lernkriterium erreicht wurde: mindestens 80% der Eintritte pro Tag ohne Fehler an mindestens drei aufeinanderfolgenden Tagen oder mindestens 60% Eintritte pro Tag ohne Fehler an mindestens fünf aufeinanderfolgenden Tagen

Das Maze wurde nach jedem Tier mit einem milden Desinfektionsmittel gereinigt.

2.3.4 Egozentrisches Lernen

Egozentrisches Lernen erfordert die Orientierung im Raum in Bezug auf den eigenen Körper. Bei dieser Aufgabe wurde stets der Arm, der 45° rechts des Startarmes lag, belohnt (Abb.16). Der Start- und damit auch der Zielarm wechselten zufällig von Lauf zu Lauf, so dass die Tiere keine allozentrische Strategie (Orientierung mit Hilfe distaler Landmarken) zur Lösung der Aufgabe anwenden konnten. Zu Beginn eines Laufes waren alle Falltüren geschlossen. Jede Ratte wurde in den zufällig ausgewählten Startarm gesetzt. Mit dem gleichzeitigen Öffnen aller Türen begann die Aufzeichnung der Versuchsparameter. Der Lauf war beendet, wenn die Ratte den korrekten Zielarm erreicht und das Pellet konsumiert hatte. Nach jedem Lauf wurde die Ratte in den nächsten zufällig ausgewählten Startarm gesetzt und durch Schließen der Falltüren für 30 sec in dem Arm festgehalten. Der für den nächsten Lauf relevante Zielarm wurde mit einem Caseinpellet belohnt. Das Experiment war beendet, wenn die Ratte zehn Läufe absolviert hatte oder 30 min vergangen waren. Jede Ratte wurde in zehn Läufen pro Tag an 20 Tagen getestet.

Folgende Parameter wurden aufgezeichnet:

- (1) Anzahl der Langzeitgedächtnisfehler (erster Eintritt in einen bei dieser Strategie nicht belohnten Arm; RME)
- (2) Anzahl der wiederholten Langzeitgedächtnisfehler (Wiedereintritt in einen bei dieser Strategie nicht belohnten Arm; WRME)
- (3) Anzahl der Perseverationsfehler (erster Eintritt in den Zielarm des vorherigen Laufes; PE)
- (4) Anzahl der wiederholten Perseverationsfehler (Wiedereintritt in den Zielarm des vorherigen Laufes; WPE)
- (5) Anzahl der Perseverationsfehler gesamt (PE + WPE)
- (6) Anzahl der Arbeitsgedächtnisfehler gesamt (WRME + WPE)
- (7) Zeit, die für zehn Läufe benötigt wurde

- (8) Anzahl der Versuchstage, bis folgendes Lernkriterium erreicht wurde: mindestens 80% der zehn Läufe pro Tag ohne Fehler an mindestens drei aufeinander folgenden Tagen oder mindestens 60% der zehn Läufe pro Tag ohne Fehler an mindestens fünf aufeinander folgenden Tagen.

Das Maze wurde nach jedem Tier, nicht jedoch zwischen den einzelnen Läufen pro Tier, mit einem milden Desinfektionsmittel gereinigt.

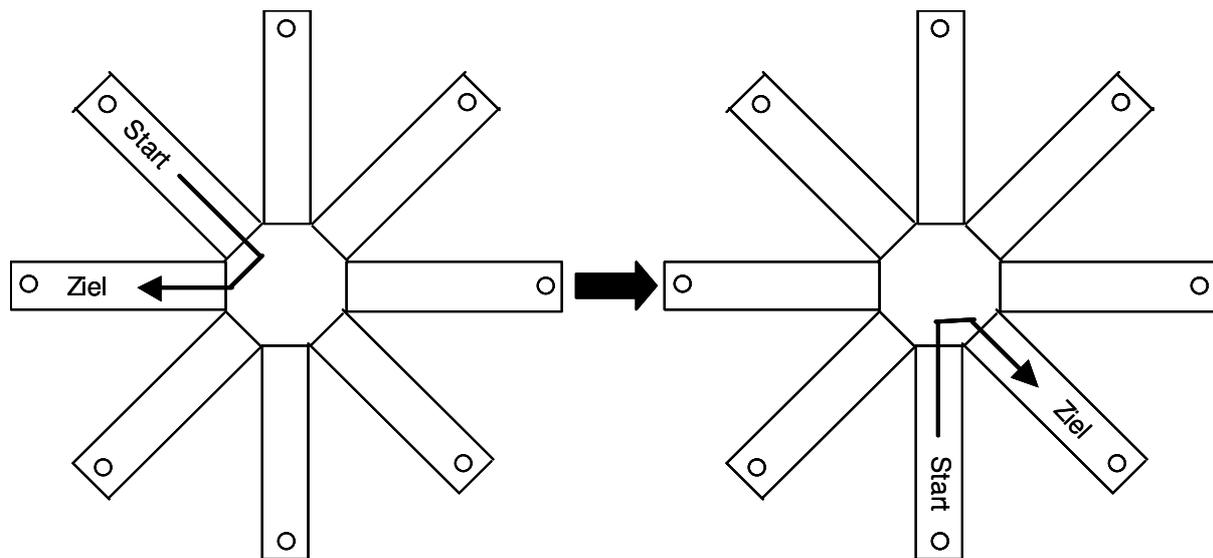


Abb.16: Schematische Darstellung der egozentrischen Lernaufgabe. Bei diesem Test mussten die Ratten ohne externe Orientierungshilfen in Relation zum eigenen Körper navigieren. Während der gesamten Versuche war stets derjenige Arm, der 45° rechts des Startarmes gelegen war, belohnt. Sowohl der Start- als auch der Zielarm wechselten zufällig von Lauf zu Lauf.

2.3.5 Allozentrisches Lernen

Allozentrisches Lernen erfordert die Orientierung im Raum anhand distaler Landmarken. Da durch die hohen Seitenwände des Radial Maze visuelle Reize, die sich außerhalb des Maze an der Wand befanden, für die Ratten nicht sichtbar waren, wurden zur Orientierung Landmarken am Ende von vier der acht Armen auf der Wand des Maze befestigt (Abb.17). Bei diesem Experiment musste jeweils einer der durch eine visuelle Landmarke markierten Zielarme von den übrigen sieben Armen aus aufgefunden werden (Abb.18). Die Aufgabe für die Tiere bestand darin, die räumlichen Relationen zwischen den Armen des Labyrinths und den visuellen Hinweisreizen aus

der Umgebung zu erlernen und zu behalten, welcher Bereich des Maze in dem vergangenen Lauf belohnt war.

Zu Beginn des Versuchs waren alle Falltüren geschlossen. Die Ratte wurde in den Startarm gesetzt, der zufällig von Lauf zu Lauf gewechselt wurde. Der durch eine Landmarke gekennzeichnete Zielarm blieb innerhalb eines Tages gleich, wurde jedoch zufällig von Tag zu Tag gewechselt. Zunächst wurde an jedem Versuchstag ein Orientierungslauf durchgeführt, in dem die Ratte die Position des belohnten Armes in Relation zu den Landmarken lernen sollte. Anschließend erfolgten zehn weitere Läufe, in denen die Gedächtnisleistung der Ratte überprüft wurde. Mit dem gleichzeitigen Öffnen aller Türen begann die Aufzeichnung der Versuchsparameter. Der Lauf war beendet, wenn die Ratte den korrekten Zielarm erreicht und das Pellet konsumiert hatte. Nach jedem Lauf wurde die Ratte in den nächsten zufällig ausgewählten Startarm gesetzt und durch Schließen der Falltüren für 30 sec in dem Arm festgehalten. Der Zielarm wurde mit einem Caseinpellet nachbelohnt. Das Experiment war beendet, wenn die Ratte die zehn Läufe absolviert hatte oder 30 min vergangen waren. Jede Ratte wurde in zehn Läufen pro Tag an 20 Tagen getestet. Die aufgezeichneten Parameter waren dieselben wie bei der egozentrischen Lernaufgabe (siehe 2.3.4). Im Unterschied zu der egozentrischen Lernaufgabe wurde jedoch als PE ein Eintritt in den Zielarm des Vortages definiert und folglich ein WPE als wiederholter Eintritt in den Zielarm des Vortages. Nach jedem Tier, nicht aber zwischen den Läufen, wurde das Maze mit einem milden Desinfektionsmittel gereinigt.

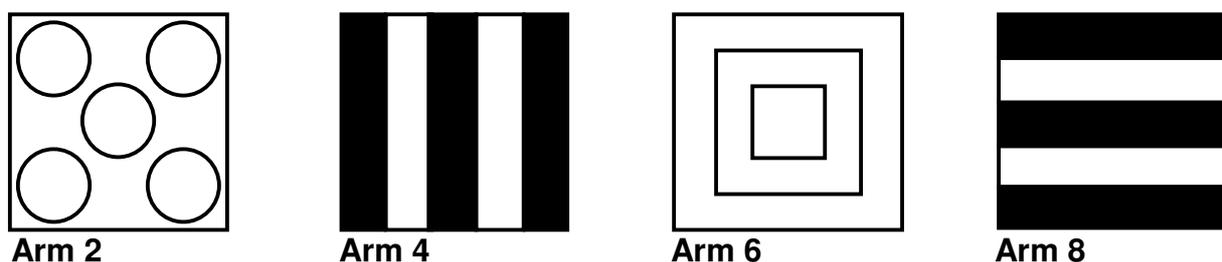


Abb.17: Abgebildet sind die Symbole, die am Ende des jeweils angegebenen Armes an der Wand des 8-Arm Radial Maze angebracht waren. Diese Landmarken dienen während der allozentrischen Lernaufgabe der Orientierung der Ratten in dem Maze.

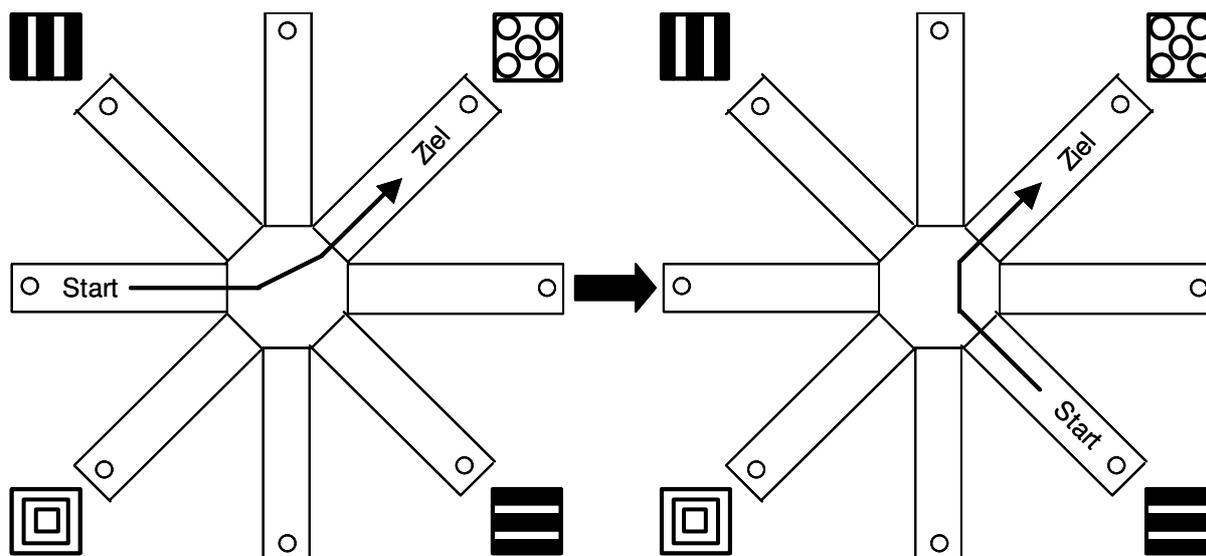


Abb.18: Schematische Darstellung der allozentrischen Lernaufgabe. Bei diesem Test waren als Orientierungshilfe vier der acht Arme durch Landmarken gekennzeichnet, deren Position während der gesamten Versuche nicht verändert wurde. Bei jedem Lauf eines Tages diente derselbe markierte Arm als Zielarm, der Startarm dagegen wechselte zufällig von Lauf zu Lauf.

2.4 Verhaltensflexibilität im Cross Maze

2.4.1 Aufbau des Cross Maze

Das Cross Maze bestand aus vier Armen, die aus 1 cm dicken, schwarzen Polyamidplatten hergestellt wurden (77 x 14 cm; Abb.19A). Sie waren in einer Höhe von 80 cm über dem Boden über eine zentrale Plattform (14 x 14 cm) miteinander verbunden und von einem 1,5 cm hohen Rand umgeben um ein Abrutschen und Herunterfallen der Ratten zu erschweren. Jeder Arm besaß ein Futterschälchen aus Metall (Durchmesser: 4 cm; Randhöhe: 1,5 cm), das in 4 cm Entfernung vom distalen Ende des Armes angebracht war (Abb.19B). Das Futter war daher für die Ratte nicht sichtbar. Das Cross Maze war in einem Versuchsraum aufgestellt, in dem zahlreiche externe visuelle Landmarken (Laboreinrichtung, graues Pappquadrat als Poster) vorhanden waren.

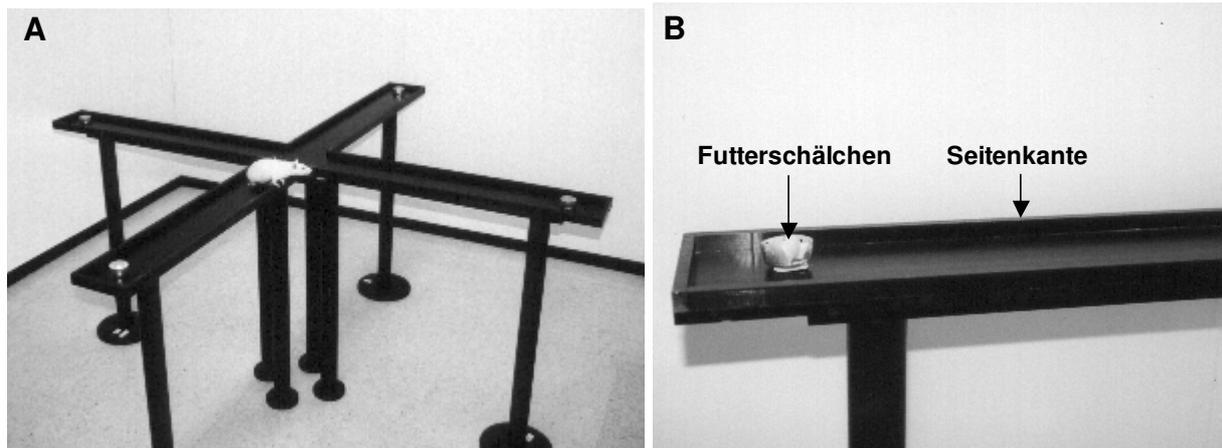


Abb.19: Abgebildet ist das Cross Maze, mit welchem die Versuche zur Verhaltensflexibilität durchgeführt wurden (A) sowie eine Nahaufnahme eines einzelnen Armes (B). Erklärung siehe Text.

2.4.2 Eingewöhnung

Die Eingewöhnung der Ratten im Cross Maze erfolgte wie bereits unter 2.3.2 beschrieben. Im Unterschied zum 8-Arm Radial Maze waren jedoch keine elektrischen Falltüren vorhanden.

2.4.3 Verhaltensflexibilität

Bei den Versuchen im Cross Maze stand die Fähigkeit der Ratten zwischen einer allozentrischen und egozentrischen Strategie zu wechseln (Verhaltensflexibilität) im Vordergrund. Um den Ratten das Erlernen der beiden Strategien zu erleichtern und damit die Voraussetzung für eine zeitlich praktikable Durchführung eines Strategiewechsels zu schaffen, wurde in diesem Test die Methodik im Vergleich zu den Versuchen im 8-Arm Radial Maze wie folgt abgeändert:

- (1) Statt der acht Arme wurden nur vier Arme benutzt, wodurch die Anzahl der möglichen Zielarme reduziert wurde.
- (2) Da die Arme nicht von einer Wand umgeben waren, waren externe Landmarken besser sichtbar.
- (3) Durch die angstauslösende Höhe des Maze wurden unüberlegte, zufällige Eintritte reduziert.

- (4) Die Ratten wurden nach einem Fehleintritt zur Wiederholung des Laufes zurück in den Startarm gesetzt. Dies erleichterte den Ratten einen Zusammenhang zwischen Start- und Zielarm zu herzustellen.
- (5) Während bei der allozentrischen Aufgabe im 8-Arm Radial Maze der Zielarm zufallsverteilt von Tag zu Tag wechselte, blieb er im Cross Maze während der gesamten Versuchszeit (Training und Tests) konstant.
- (6) Zur Steigerung des Belohnungswertes und damit der Attraktivität des Zielarmes erfolgte die Belohnung statt mit einem Pellet mit vier Pellets.

2.4.3.1 Allozentrisches Lernen

Alle Ratten wurden zunächst in einer allozentrischen Lernaufgabe darauf trainiert, immer denselben Zielarm im Cross Maze aufzusuchen, egal aus welchem Arm sie gestartet sind. Der Zielarm wurde für jede Ratte zufällig gewählt und war jeweils mit einem grauen Quadrat aus Pappe (42 x 42 cm), das sich an der Wand befand, gekennzeichnet. Für jede Ratte blieb der Zielarm während der gesamten Trainingsperiode konstant, die Lokalisation des Startarmes wechselte dagegen zufällig von Lauf zu Lauf. Zu Beginn des Trainings wurden vier Pellets in die Futterschale des Zielarmes gelegt. Die Ratte wurde in den Startarm gesetzt und durfte dann das Maze explorieren. Wenn die Ratte den korrekten Zielarm aufgesucht hatte, durfte sie die Pellets konsumieren und wurde dann für den nächsten Lauf in den zufällig gewählten nächsten Startarm gesetzt. Gleichzeitig wurde der Zielarm wiederum mit vier Pellets belohnt, wobei darauf geachtet wurde, dass die Ratte nicht sehen konnte, welcher Arm belohnt wurde. Nach einem Fehleintritt in einen nicht-belohnten Arm wurde die Ratte zurück in den Startarm gesetzt um den Lauf zu wiederholen. Dies wurde solange wiederholt, bis die Ratte den korrekten Zielarm aufgesucht hatte. Der Versuch war beendet, wenn die Ratte fünf Läufe absolviert hatte oder wenn 30 min vergangen waren. Jede Ratte wurde in fünf Läufen pro Tag bis zum Erreichen des folgenden Lernkriteriums trainiert: mindestens 80% der Läufe/Tag fehlerfrei an drei aufeinanderfolgenden Tagen oder mindestens 60% der Läufe/Tag fehlerfrei an fünf aufeinanderfolgenden Tagen. Als Armeintritt wurde gewertet, wenn die Ratte mit allen vier Beinen die Mitte des Armes erreicht hatte.

Folgende Parameter wurden aufgezeichnet:

- (1) Anzahl Langzeitgedächtnisfehler (erster Eintritt in einen unbelohnten Arm ohne PE [siehe Punkt 3]; RME)
- (2) Anzahl der wiederholten Langzeitgedächtnisfehler (Wiedereintritt in einen unbelohnten Arm ohne PE; WRME)
- (3) Anzahl der Perseverationsfehler (Anwenden der zuvor gelernten Strategie; PE)
- (4) Anzahl der wiederholten Perseverationsfehler (wiederholtes Anwenden der zuvor gelernten Strategie; WPE)
- (5) Anzahl der Arbeitsgedächtnisfehler gesamt (WRME + WPE)
- (6) Zeit, die für fünf Läufe benötigt wurde
- (7) Anzahl der Versuchstage bis zum Erreichen des Kriteriums

Das Maze wurde nach jedem Tier, nicht jedoch zwischen den einzelnen Läufen pro Tier, mit einem milden Desinfektionsmittel gereinigt.

2.4.3.2 Egozentrisches Lernen

Nach Erreichen des Kriteriums in der allozentrischen Aufgabe wurden die Ratten in einer egozentrischen Lernaufgabe wiederum bis zum Erreichen des hier festgesetzten Kriteriums trainiert. Nachdem die Tiere zuvor darauf trainiert wurden, sich anhand visueller Landmarken zu orientieren (allozentrische Strategie), sollte nun eine Orientierung in Bezug auf den eigenen Körper stattfinden (egozentrische Strategie). Die Ratten mussten also zur Lösung dieser neuen Aufgabe ihre Verhaltensstrategie ändern. Bei der egozentrischen Strategie wurde jeweils der 90° rechts vom Startarm liegende Arm als korrekter Zielarm mit vier Caseinpellets belohnt. Der Start- und damit auch der Zielarm wechselten zufällig von Lauf zu Lauf. Ein Lauf begann jeweils mit dem Einsetzen der Ratte in den Startarm und war beendet, wenn die Ratte den korrekten Zielarm aufgesucht und die Pellets konsumiert hatte. Daraufhin wurde sie für den nächsten Lauf in den zufällig ausgewählten nächsten Startarm gesetzt. Gleichzeitig wurde der daraus resultierende Zielarm wiederum mit vier Pellets belohnt. Wenn die Ratte einen nicht-belohnten Arm aufsuchte, wurde sie zurück in den Startarm gesetzt um den Lauf zu wiederholen. Dies wurde solange wiederholt, bis die Ratte den korrekten Zielarm aufgesucht hatte. Daraufhin wurde die Ratte in den nächsten Startarm gesetzt und der entsprechende Zielarm wurde belohnt. Wie auch während des allozentrischen Trainings wurden fünf Läufe pro Tag durchgeführt und

der Versuch war beendet, wenn alle fünf Läufe durchgeführt wurden oder 30 min vergangen waren. Die aufgezeichneten Parameter waren dieselben wie bei der allozentrischen Strategie (siehe 2.4.3.1).

Nach Erreichen des Kriteriums sollten die Ratten zur Überprüfung der Fähigkeit zwischen den gelernten Strategien zu wechseln zunächst wieder die zu Beginn gelernte allozentrische Strategie anwenden und dann, nach Erreichen des festgelegten Kriteriums, wieder in die egozentrische Strategie wechseln.

2.5 Motivation in einem *progressive ratio* Test der operanten Konditionierung

2.5.1 Apparatur zur Messung des operanten Verhaltens

Für die Durchführung des PR Tests wurden zwei Computer- überwachte operante Kammern (27,5 x 27,5 x 29 cm; Operant Behavior System, Version 1.73; TSE, Bad Homburg, Deutschland) eingesetzt (Abb.20A). Die Wände jeder Kammer bestanden aus hellgrauem PVC, der Boden war dunkelgrau und die Frontklappe bestand aus durchsichtigem Plexiglas. Die Kammern waren mit je zwei Hebeln (3,5 x 2,0 cm) ausgestattet, die sich in einem Abstand von 15 cm voneinander 5,5 cm über dem Boden befanden. Zwölf cm über jedem Hebel waren drei Lämpchen (rot, grün, weiß) angebracht, wobei das weiße Lämpchen bei einem korrekten Hebeldruck auf den rechten Hebel aufleuchtete. Der linke Hebel war während der Versuche inaktiviert. Zwischen den beiden Hebeln befand sich eine Futterschale, in die bei einem korrekten Hebeldruck mit Hilfe eines automatischen Futterspenders ein Caseinpellet transportiert wurde. Vor der Futterschale war eine transparente Klappe (5,0 x 5,0 cm) befestigt, welche die Ratte mit ihrer Nase aufstoßen musste, um an die Pellets zu gelangen. Zusätzlich war ein Hauslicht vorhanden, welches jedoch während der Versuche ausgeschaltet war (Abb.20B).

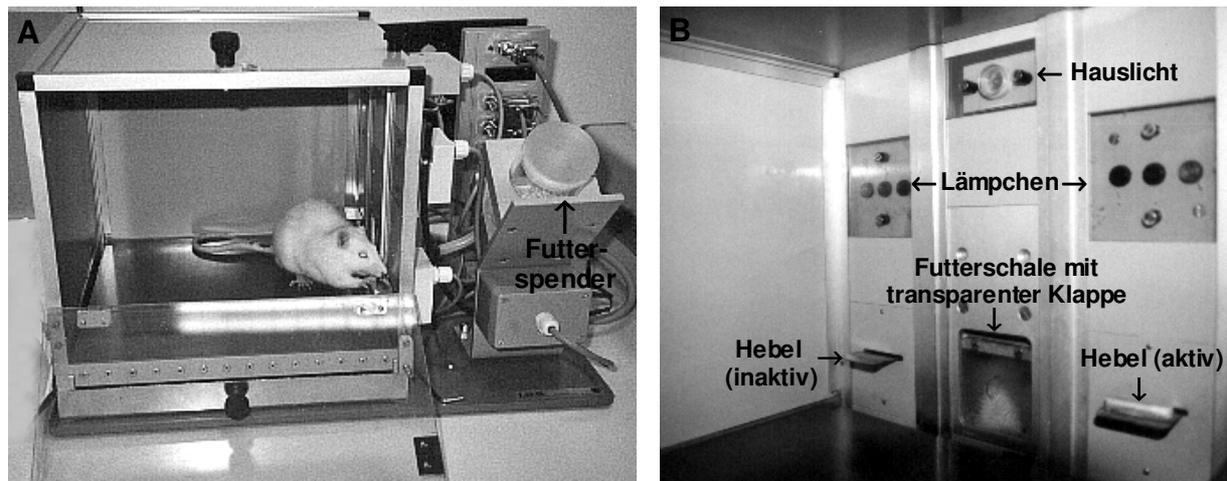


Abb.20: Abgebildet ist die für die operante Konditionierung eingesetzte Kammer (A) sowie eine Nahaufnahme der Innenausstattung (B). Erklärung siehe Text.

2.5.2 *Progressive ratio Test*

Vor Beginn des Trainings wurde jede Ratte für 30 min an die operante Kammer sowie das Geräusch des Futterspenders gewöhnt und darauf trainiert, die Klappe der Futterschale aufzustoßen um ein Caseinpellet einzusammeln (*shaping*). Dazu wurden zunächst mehrere Pellets in die Futterschale gelegt. Die Klappe wurde manuell mehrfach geöffnet und geschlossen, so dass die Ratte die Futterschale mit den Pellets finden konnte. Gleichzeitig wurde der Futterspender aktiviert um eine Assoziation zwischen den Pellets und dem Geräusch des Futterspenders herzustellen. Bereits nach kurzer Zeit waren alle Ratten in der Lage die Klappe selbständig zu öffnen. Ab dem folgenden Tag wurden die Ratten einmal täglich drei Tage lang darauf trainiert, den rechten Hebel der Kammer zu drücken um ein Pellet in einem *continuous reinforcement* (CRF) Modus (jeder Hebeldruck wird mit einem Pellet belohnt) zu erhalten (Abb.21). Um die Attraktivität des Hebels zu steigern wurde dieser zunächst mit in Wasser aufgelösten Caseinpellets bestrichen. Außerdem half der Experimentator zunächst bei zu schwachem Druck der Ratte den Hebel vollständig herunterzudrücken, so dass der Futterspender aktiviert und ein Pellet in die Futterschale abgegeben wurde. Dies wurde solange wiederholt bis die Ratte selbständig in der Lage war den Hebel zu drücken (in der Regel bereits innerhalb der ersten Trainingseinheit). Jede Trainingseinheit umfasste 30 min und erfolgte für jede Ratte immer in derselben Box. Einen Tag nach der letzten Trainingseinheit wurde ein PR Test durchgeführt (30 min). Die Anzahl der für eine Belohnung erforderlichen

Hebeldrücke wurde basierend auf der Formel $5 \cdot e^{0,2n} - 5$ alle 2 min kontinuierlich erhöht, wobei n die jeweils aktuelle Phase des Tests darstellt [MOBINI *ET AL.*, 2000]. Es ergibt sich für die instrumentelle Anforderung an die Ratte folgender exponentieller Verlauf: 1, 2, 4, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 32 32. Da die Software des „Operant Behavior System“ nur zehn unterschiedliche Phasen abspeichern kann, blieb die Anforderung an die Ratte in den Phasen 10 – 15 konstant.

Folgende Parameter wurden aufgezeichnet:

- (1) Anzahl der Hebeldrücke während der 30-minütigen Trainingsphase am letzten Trainingstag
- (2) Kumulative Hebeldruckrate während des PR Tests in zwei-Minuten-Intervallen
- (3) Zeitpunkt, an dem die Ratten den *breakpoint* erreichen. Der *breakpoint* wurde definiert als die erste Phase in der die Anzahl der Hebeldrücke mindestens 50% im Vergleich zu der vorherigen Phase abnimmt, ohne in der darauffolgenden Phase erneut um mindestens 100% anzusteigen.

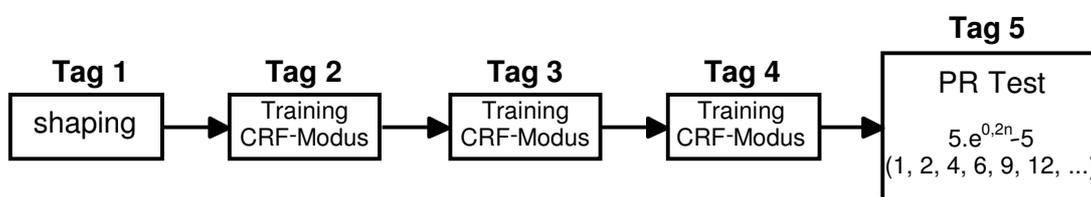


Abb.21: Zeitlicher Verlauf des Trainings und des PR Tests

2.5.3 Futter-Präferenz Test

Etwa drei Wochen nach Abschluss des PR Tests wurde mit allen Tieren ein Futter-Präferenz Test durchgeführt, um einen Läsionseffekt auf die Futter-Präferenz auszuschließen. Die Ratten wurden einzeln in Standard-Makrolon®-Käfige (Typ-III) gesetzt und hatten freien Zugang zu jeweils 20 g Caseinpellets und 20 g Zuchtfutter (Energiegehalt jeweils 3,6 kcal/g). Die Menge der konsumierten Pellets und des konsumierten Zuchtfutters wurde nach einer zehn-minütigen Testperiode gewogen.

2.6 Lokomotorische Aktivität in der Aktivitätsbox

2.6.1 Apparatur zur Messung der lokomotorischen Aktivität

Die lokomotorische Aktivität wurde in drei Photocell-Boxen (ActiMot, TSE, Bad Homburg, Deutschland) gemessen, die aus durchsichtigem Plexiglas bestanden (45 x 45 x 44 cm, Abb.22). Der Boden jeder Box bestand aus hellgrauem PVC. Zwischen den Boxen befanden sich Pappwände, um einen Sichtkontakt zwischen den Ratten und damit eine gegenseitige Beeinflussung der Tiere zu verhindern. Jede Box war zur Messung der horizontalen Aktivität mit einem Raster von 16 x 16 parallelen photoelektrischen Lichtschranken ausgestattet, die in einem Abstand von 2,8 cm voneinander 3 cm über dem Boden der Box angebracht waren. Zusätzlich waren Lichtschranken entsprechend der Größe der Tiere entweder 8 cm (an PND 35) oder 13 cm (an PND 56 und bei adulten Ratten) über dem Boden vorhanden, mit deren Hilfe vertikale Aktivität (Aufrichtverhalten) erfasst werden konnte. Unterbrechungen der Lichtschranken wurden als Aktivität über die Zeit registriert und in fünf-Minuten-Intervallen von der zugehörigen Software des Kontrollsystems (System-TSE ActiMot, Version 05.08) aufgezeichnet.



Abb.22: Dargestellt ist eine der drei Photocell-Boxen, mit deren Hilfe die lokomotorische Aktivität gemessen wurde. Erklärung siehe Text.

2.6.2 Lokomotorische Aktivität

Zu Beginn der Messung wurde die Ratte in das Zentrum der Aktivitätsbox platziert. Die Aktivität wurde 35 min lang aufgezeichnet.

Folgende Parameter wurden ausgewertet:

- (1) Gelaufene Distanz gesamt sowie in fünf-Minuten-Blöcken [m]
- (2) Aktivität gesamt sowie in fünf-Minuten-Blöcken [min]
- (3) Häufigkeit des Aufrichtens gesamt sowie in fünf-Minuten-Blöcken
- (4) Zeit, die die Ratten in der Mitte der Box verbracht haben gesamt sowie in fünf-Minuten-Blöcken [sec]

2.7 Sensorimotorische Informationsverarbeitung

2.7.1 Apparatur zur Messung der Präpulsinhibition der akustisch ausgelösten Schreckreaktion

Zur Messung der PPI der ASR wurde ein Startle Response System (TSE, Bad Homburg, Deutschland) eingesetzt. Das System bestand aus zwei Startle-Boxen, einer Steuereinheit und einem Computer mit Steuer- und Auswertungssoftware (TSE Startle Response Software, Version 2.00 und 2.03). Jede Box bestand aus einer durch Schaumstoff schallgedämmten Kammer aus undurchsichtigem, schwarzen Plexiglas (37 x 42 x 40 cm; Abb.23). An der Kammerdecke war ein Hauslicht vorhanden, welches während der Versuche ausgeschaltet war. Akustische Stimuli wurden über ein Lautsprechersystem präsentiert, das links und rechts in 4 cm Entfernung neben der Ratte angebracht war. Während der Versuche befanden sich die Ratten in jeweils einem schalldurchlässigen Drahtkäfig (24,5 x 9 x 10 cm), der auf eine bewegungsempfindliche Messplattform (piezoelektrischer Akzelerometer) gestellt wurde. Bewegungen der Ratte verursachten Veränderungen des Spannungs-Outputs des Akzelerometers, die proportional zur Bewegungsstärke waren. Diese Veränderungen wurden für weitere Analysen über einen Analog-Digital-Wandler (A/D Konverter) zu dem Computer übertragen.

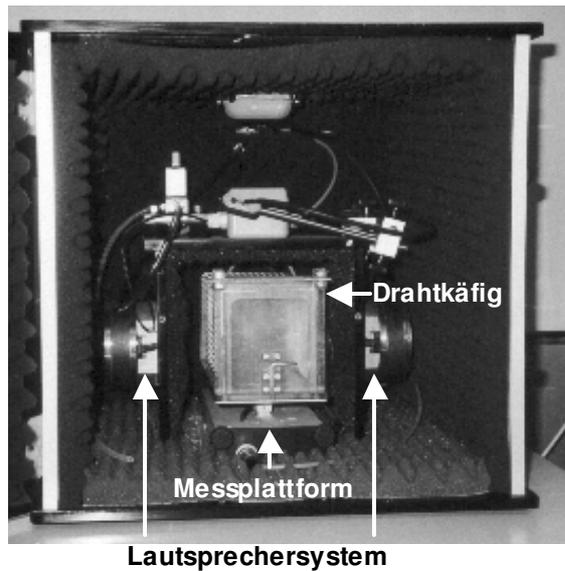


Abb.23: Abgebildet ist die zur Messung der Präpulsinhibition der akustisch ausgelösten Schreckreaktion eingesetzte Startle-Box von innen. Erklärung siehe Text.

2.7.2 Präpulsinhibition der akustisch ausgelösten Schreckreaktion

Die Messung der PPI der ASR begann mit einer vier-minütigen Akklimatisationsphase bei einem Hintergrundrauschen von 60 dB (weißes Rauschen). Als Abschluss der Akklimatisationsphase wurden fünf aufeinanderfolgende Schreckreize mit einer Intensität von 100 dB SPL (*sound pressure level*), die eine Dauer von 20 ms (ohne An- und Abstiegsflanken) aufwiesen, präsentiert. Das Interstimulus-Intervall betrug zehn sec. Nach der Akklimatisationsphase begann das Experiment, welches aus sieben verschiedenen Trial-Typen bestand, die den Tieren jeweils zehnmal randomisiert mit einem Intertrial Intervall von 20 – 30 sec präsentiert wurden:

- (1) Schreckreiz (Breitbandrauschen mit 100 dB SPL und einer Dauer von 20 ms)
- (2, 3) Präpuls (10 kHz Ton mit 68 oder 72 dB SPL und 20 ms Dauer)
- (4, 5, 6) Präpuls (10 kHz Ton mit 64, 68 oder 72 dB SPL und 20 ms Dauer) gefolgt von einem Schreckreiz 100 ms nach dem Präpuls-Onset
- (7) kein Stimulus

Die Intensität des Hintergrundrauschens betrug während des gesamten Experiments 60 dB SPL.

Da die Messapparatur und die Software geändert wurden, konnten diese Messparameter in einem späteren Stadium der Doktorarbeit nicht aufrechterhalten werden. Durch Austauschen der Startle Response Software Version 2.00 durch

Version 2.03 mussten die Startle- und Präpulsintensitäten neu ermittelt werden. Die Intensität des Startlereizes betrug dann 105 dB, die Intensität der Präpulse 72 und 80 dB.

Als Maß für die PPI diente die prozentuale Abnahme der Reaktionsamplitude nach Präsentation des Schreckreizes im Vergleich zu der Reaktionsamplitude nach vorheriger Präsentation des Präpulses:

$$100 \times (\text{Schreckreiz} - [\text{Schreckreiz} + \text{Präpuls}]) / \text{Schreckreiz}$$

2.8 Histologie

2.8.1 Gehirnpräparation und Anfertigung von Gewebeschnitten

Nach Beenden der Verhaltensexperimente wurden die Ratten zur Perfusion mit Chloralhydrat (720 mg/kg, Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) tief narkotisiert. Anschließend wurden sie auf dem Rücken liegend fixiert. Der Brustkorb wurde mit einer Schere eröffnet und das Herz freigelegt. Dann wurde durch die linke Herzkammer eine Knopfkanüle bis in die Aorta geschoben und der rechte Vorhof eröffnet, wodurch ein Abfließen des Blutes und der Perfusionslösung aus dem Körperkreislauf ermöglicht wurde. Die Kanüle war über einen Dreiwegehahn mit zwei Behältern verbunden, von denen einer mit 0,01 M PBS (pH 7,4) und der andere mit Fixanslösung (4% Paraformaldehyd in 0,1 M Phosphatpuffer [PB]; Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Deutschland) gefüllt war. Beide Behälter befanden sich 1 m über dem Tier. Zunächst erfolgte durch Schwerkraftperfusion eine Spülung mit PBS, um das Blut aus dem Körperkreislauf zu entfernen. Dann wurde zur Fixation mit 250 ml 4%igem Paraformaldehyd (pH 7,4; 4°C) perfundiert. Anschließend wurde die Schädeldecke vorsichtig eröffnet, das Gehirn entnommen und zur Kryoprotektion mindestens drei Tage in einer 0,1 M phosphatgepufferten 30%igen Saccharose-Lösung aufbewahrt.

Nach dem Absinken der Gehirne wurden mit Hilfe eines Gefriermikrotoms (Jung CM 3000, Leica Instruments GmbH, Nussloch, Deutschland) in sechs Serien Coronalschnitte (Schnittdicke: 40 µm) von +2,2 mm bis -8,3 mm ausgehend von Bregma angefertigt, die in 0,1 M PB aufgefangen wurden. Die Schnitte der jeweils

ersten sowie vierten Serie wurden zusammengefasst und die Nissl-Substanz mit Thionin gefärbt (Abstand der Schnitte 120 µm, siehe 2.8.2). Von den verbleibenden Serien wurde jeweils eine mit Goldchlorid (siehe 2.8.3) sowie PV (siehe 2.8.4) gefärbt. Der Abstand der Schnitte bei diesen Färbungen betrug 240 µm. Die beiden letzten Serien dienten als Ersatzserien und wurde nach Abschluss der Auswertungen verworfen.

Bei allen Tieren erfolgte eine qualitative Auswertung der Läsionsgröße anhand der Thioninschnitte. Die quantitative Auswertung der Läsionsgröße, der Myelinisierungsstärke (Goldchlorid) sowie der PVr-Zellen erfolgte bei den Tieren der Versuchsgruppe I (siehe 2.10.2/Tab.3).

2.8.2 Thionin-Färbung

Die angefertigten Schnitte wurden aus einer Gelatine-Chromalaun-Lösung (Tab.2A) auf entfettete Objektträger aufgezogen. Nach dem Trocknen erfolgte durch eine absteigende Alkoholreihe eine Rehydratation der Schnitte. Hierzu wurden die Objektträger jeweils drei Minuten in 100%iges, 96%iges, 70%iges sowie 50%iges Ethanol und dann in Aqua dest. gestellt. Danach erfolgte durch eine wässrige Thioninlösung (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland; Tab.2A), denen die Schnitte 70 – 90 sec ausgesetzt waren, die Färbung der Nissl-Substanz in den Neuronen und Gliazellen. Zur Entwässerung wurden die Schnitte anschließend durch eine aufsteigende Alkoholreihe gezogen (Konzentrationen und Dauer entsprechend der absteigenden Alkoholreihe) und in Terpeneol und Roti®-Histol (Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland) fixiert. Abschließend wurden die Schnitte mit einem Deckgläschen und Entellan® (Merck, Darmstadt, Deutschland) eingedeckt.

2.8.3 Goldchlorid-Färbung

Zum Nachweis von Myelin wurden die Schnitte aus einer Gelatine-Chromalaun-Lösung (Tab.2A) auf entfettete Objektträger aufgezogen und nach dem Trocknen zwei bis vier Stunden mit einer 0,2%igen Goldchlorid-Lösung (pH 6,8 – 7; tetrachloroaurate-trihydrate; Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland; Tab.2B) gefärbt. Die Inkubation war beendet, wenn CA1 – CA3 des HIPP eine makroskopisch deutlich sichtbare braun-rote Färbung aufwiesen. Die Schnitte wurden dann in Aqua dest. gespült und für fünf Minuten in einer 2,5%igen Natriumthiosulfat-Lösung (Merck,

Darmstadt, Deutschland; Tab.2B) fixiert. Abschließend wurden die Schnitte 30 min unter fließendem Leitungswasser und anschließend nochmals kurz in Aqua dest. gespült. Die Schnitte wurden dann in einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert, in Terpeneol und Roti®-Histol fixiert und mit Entellan® eingedeckt.

2.8.4 Immunhistochemie: Parvalbumin

Um GABAerge Interneurone sichtbar zu machen, wurde eine Schnittserie immunhistochemisch mit einem Antikörper (AK) gegen PV gefärbt. Die „Free-Floating“ Schnitte wurden dreimal für jeweils fünf Minuten in jeweils 5 ml Tris-gepufferter Saline (TBS, pH 7,6; Tab.2C) gewaschen (alle weiteren Waschschrirte erfolgten ebenfalls dreimal für jeweils fünf Minuten in jeweils 5 ml TBS). Anschließend wurden sie 30 min in 5 ml TBS unter Zusatz von 75 µl Wasserstoffperoxid (H₂O₂; Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) vorinkubiert, um die endogene Peroxidase-Aktivität zu hemmen. Die Schnitte wurden wiederum gewaschen und dann 60 min in 4 ml Blocking Solution (Tab.2C) inkubiert, um die Hintergrundfärbung zu reduzieren. Es folgte die Inkubation in dem primären AK (monoklonal Anti-Parvalbumin; Maus IgG1 Isotyp; clone PA-235, Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) bei einer Verdünnung von 1:2000 in Carrier (Tab.2C) für 20 Stunden bei 4°C. Nach der Inkubation wurden die Schnitte gewaschen und daraufhin eine Stunde bei Raumtemperatur in dem sekundären AK (Kaninchen-anti-Maus IgG, biotinyliert; DAKO A/S, Dänemark) bei einer Verdünnung von 1:500 in Carrier inkubiert. Nach dem erneuten Waschen der Schnitte wurden diese in Streptavidin-Meerrettichperoxidase (1:375, DAKO A/S, Dänemark) für eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Die Schnitte wurden wiederum gewaschen und dann 15 min in einer 3,3'-Diaminobenzidin-Lösung (DAB) in Tris/Nickel (Tab.2C) inkubiert. Dann wurde 1 µl H₂O₂ pro 4 ml DAB-Lösung hinzugefügt und es folgte eine weitere fünf-minütige Inkubation in deren Verlauf es zu einer Oxidation des DAB mit Niederschlagbildung kam. Um die Farbreaktion abubrechen wurden die Schnitte abschließend nochmals gewaschen, dann von anterior nach posterior sortiert und schließlich aus einer Gelatine-Chromalaun-Lösung (Tab.2A) auf entfettete Objektträger aufgezogen. Nach dem Trocknen wurden die Schnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert, in Terpeneol und Roti®-Histol fixiert und mit Entellan® eingedeckt.

Tab.2: Ansatz der bei der Histologie eingesetzten Lösungen

A Thioninfärbung		
Thionin	864 ml 100 ml 36 ml 1,25 g	Aqua dest. 1 M Essigsäure 1 M Natronlauge Thionin
Gelatine-Chromalaun	500 ml 3,5 g 0,35 g etwas	Aqua dest. Gelatine Kaliumchrom(III)sulfat Thymol
B Goldchloridfärbung		
Goldchlorid	500 ml 4,5 g 1 g	0,02 M Phosphatpuffer Natriumchlorid Goldchlorid
Natrium-Thiosulfat	250 ml 6,25 g	Aqua dest. Natriumthiosulfat
C Parvalbumin-Immunhistochemie		
TBS	1 l 9 g 6,057 g	Aqua dest. Natriumchlorid 0,05m Tris-Puffer
Carrier	100 ml 1,5 ml 1 ml 1 g	TBS 20% Triton X-100 Kaninchen-Serum Rinderserumalbumin
Blocking Solution	4,5 ml 0,5 ml 100 mg	Carrier Kaninchen-Serum Rinderserumalbumin
Tris/Nickel	500 ml 1,5 g	TBS Nickelammoniumsulfat
DAB	30 µl 4 ml	Ansatz (=3,3 mg 3,3'-Diamino- benzidin x 4 HCl) Tris/Nickel-Lösung

2.8.5 Lokalisation der Läsionen und Bestimmung des Volumens des entorhinalen Cortex

Die Lokalisation der Läsionen erfolgte anhand des Atlas von PAXINOS und WATSON (1998) im Thioninschnitt mit Hilfe eines Lichtmikroskops (Axioskop 2 mot., Carl Zeiss, Göttingen, Deutschland) bei 25-facher Vergrößerung. Volumetrische Messungen wurden mit Hilfe eines Bildanalyse-Systems, bestehend aus einer Kamera (RT Slider Spot, VisiTron Systems GmbH, Puchheim, Deutschland) und einer Bildanalyse-Software (MetaMorph, Version 4.6., Universal Imaging Corp., Downington, PA 19335 USA) durchgeführt. Das mikroskopische Bild wurde zunächst mit Hilfe der Kamera digitalisiert und auf einen Computer übertragen. Die Auswertung der Läsionsgröße erfolgte mit Hilfe der Software des Bildanalyse-Systems.

Zunächst wurde der EC anhand des Atlas von PAXINOS und WATSON (1998) in einen lateralen und einen medialen Bereich unterteilt, wobei LEA rostral-lateral von MEA gelegen ist. Dorsolateral ist LEA von dem rhinalen Sulcus und dem perirhinalen Cortex begrenzt. MEA nimmt innerhalb des EC eine caudomediale Position ein und wird lateral von LEA und dorsal vom Parasubiculum begrenzt. (Abb.24). Als Anhaltspunkt für die Lokalisation der Läsion diente die corticale Amygdala, die ab -6,3 mm posterior zu Bregma nicht mehr sichtbar ist. Der Schnitt, auf dem die Bezugsstruktur zuletzt sichtbar war (-6,0 mm von Bregma) sowie die Schnitte, auf denen eine Läsion erkennbar war, wurden ermittelt. Durch Auszählen der dazwischen liegenden Schnitte konnte mit Hilfe des bekannten Abstandes zwischen den einzelnen Schnitten (120 µm) die Lokalisation der Läsion bestimmt werden.

Die Fläche des EC, sowie des LEA und des MEA wurde auf jedem Schnitt ausgehend von der Position 6,3 mm posterior zu Bregma anhand von sieben Schnitten bilateral in caudaler Richtung ausgemessen. Für die Unterteilung in LEA und MEA wurde MEA zunächst durch einen 15°-Winkel ausgehend vom Subiculum abgeteilt (-6,3 mm). Bei -6,8 mm von Bregma wurde der Winkel auf 20° und ab -7,3 mm auf 70° vergrößert (Abb.24, linke Hälfte). Für die Bestimmung des Volumens wurde jeder zweite der angefertigten Schnitte ausgemessen. Durch Kenntnis der Schnittdicke (40 µm) und damit des Abstandes zwischen den ausgemessenen Schnitten (240 µm, da nur jeder zweite Schnitt ausgemessen wurde und der Abstand der Schnitte innerhalb einer Serie 120 µm betrug) konnte das Volumen (Vol) des EC und seiner Teilgebiete nach folgender Formel bestimmt werden:

$\text{Vol} = (\frac{1}{2} \text{Fläche}_1 + \text{Fläche}_2 + \text{Fläche}_3 + \dots + \frac{1}{2} \text{Fläche}_n) \times \text{Abstand zwischen den Schnitten}$

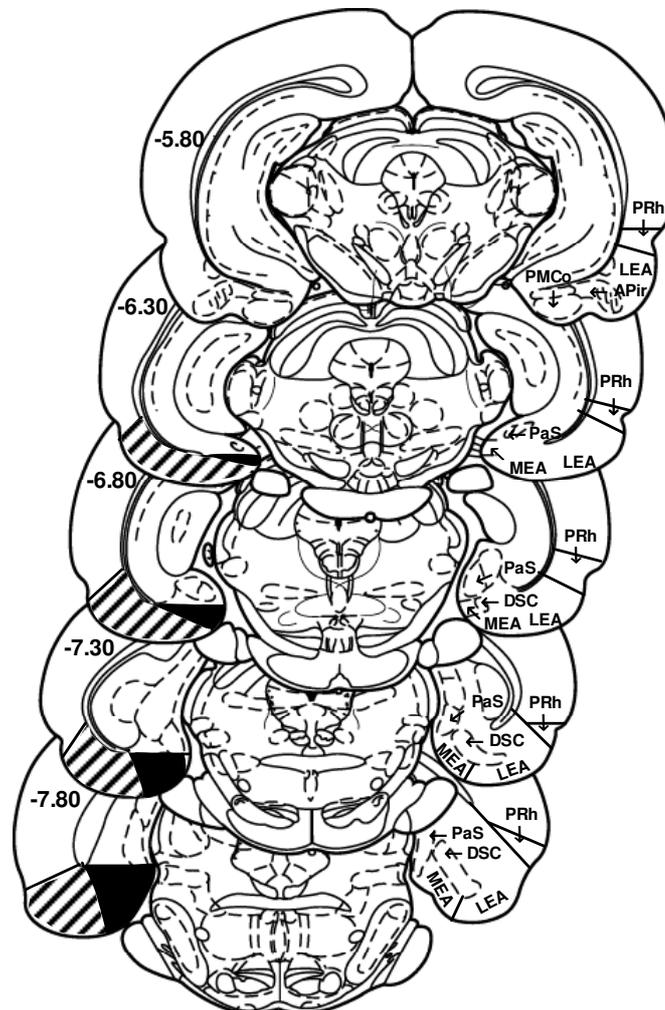
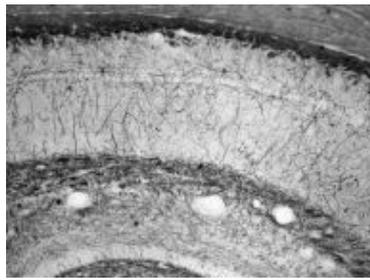


Abb.24: Schematische Darstellung der Lage des medialen und lateralen Areals des entorhinalen Cortex. Abgebildet sind Coronschnitte nach PAXINOS und WATSON [1998], deren Lage in mm von Bregma jeweils angegeben ist. Innerhalb des entorhinalen Cortex nimmt das laterale entorhinale Areal (LEA) eine rostrolaterale Position ein und grenzt dorsolateral an den perirhinalen Cortex. Das mediale entorhinale Areal (MEA) ist caudomedial gelegen und grenzt lateral an LEA und dorsomedial an das Parasubiculum (rechte Hälfte). Auf der linken Hälfte ist jeweils die für die Messung des Volumens vorgenommene Unterteilung des entorhinalen Cortex in LEA (quergestreift) und MEA (schwarz) eingezeichnet.

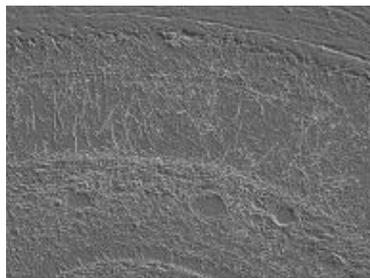
Abkürzungen: APir – amygdalopiriformes Gebiet; DSC – Lamina dissecans; LEA – laterales entorhinales Gebiet; MEA – mediales entorhinales Gebiet; PaS – Parasubiculum; PMCo – Nucleus der posteriomedialen corticalen Amygdala; PRh – perirhinaler Cortex

2.8.6 Messung der Myelinisierungsstärke

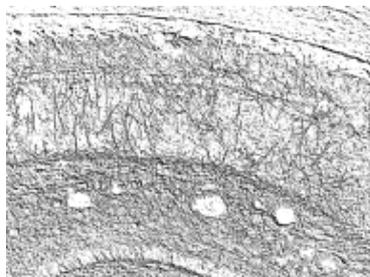
Die Myelinisierung wurde bei 100-facher Vergrößerung mit Hilfe des oben beschriebenen Bildanalyse-Systems (siehe 2.8.5) im Stratum lacunosum moleculare, Stratum radiatum und Stratum oriens des HIPP sowie im basolateralen (BLA) und lateralen (LA) Kern der Amygdala gemessen. Die Methodik ist in Abb.25 dargestellt. Zusätzlich wurden die Fläche und das Volumen der ausgemessenen Regionen bestimmt (siehe 2.8.5). Mit der Messung im HIPP wurde bei $-3,3$ mm relativ zu Bregma begonnen. Als Bezugsstruktur für die Lokalisation des auszumessenden Bereiches diente die CA1 – CA3-Region des dorsalen HIPP wobei die CA1- und CA2-Region ab $-2,3$ mm von Bregma erstmals sichtbar sind. Mit Hilfe des bekannten Abstandes zwischen den einzelnen Schnitten ($240 \mu\text{m}$) konnten die Schnitte für die Messung der Faserdichte ermittelt werden. Die Amygdala wurde beginnend von $2,3$ mm posterior von Bregma ausgemessen. Als Anhaltspunkt für die Lokalisation diente hier der Nucleus intercalaris, der direkt an die Amygdala angrenzt. Er kommt auf Coronal-schnitten bei $-1,8$ mm zum Vorschein, besitzt bei $-2,1$ mm einen länglichen Querschnitt und teilt sich bei $-2,3$ mm in 2 Teile (Abb.26). Die Messung erfolgte sowohl für den HIPP als auch für die Amygdala jeweils an drei aufeinanderfolgenden Schnitten/Tier mit einem Abstand von jeweils $240 \mu\text{m}$ zwischen den Schnitten.



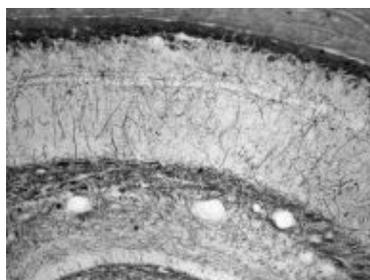
Mit einer digitalen Kamera (Spot RT Slyder) wird zunächst der gewünschte Bereich des histologischen Präparates als Schwarz-Weiß Aufnahme digitalisiert und in das Bildanalyseprogramm (MetaMorph) übertragen. Hierbei wird jeder Graustufe auf einer Skala ein bestimmter Zahlenwert von 0 (schwarz) bis 4096 (weiß) zugeordnet



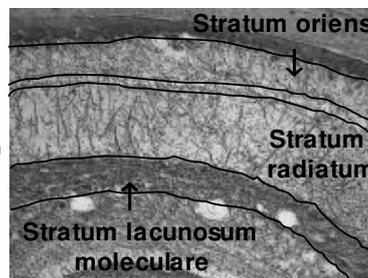
Die Pixel, die durch Goldchlorid markierte Fasern repräsentieren, zeichnen sich durch abrupte Übergänge der Graustufenintensitäten gegenüber benachbarten Pixeln aus. Jedes Pixel sowie seine unmittelbar benachbarten Pixel werden nach einer bestimmten Formel multipliziert, wobei der zentral gelegene Pixel das stärkste Gewicht bekommt. Dadurch werden die Fasern noch stärker hervorgehoben, so dass sich deren Werte innerhalb der Graustufenskala stark abheben und automatisiert markiert werden können.



Die markierten Werte werden nun als binäres Bild in eine Schwarz-Weiß Matrize überführt. Diese Matrize wird anschließend auf das Originalbild addiert, so dass herausgerechneten Fasern über den Fasern des Originalbildes liegen. Dadurch ist eine Kontrolle möglich, ob tatsächlich die Fasern selektiv hervorgehoben wurden.



+



Die Region, in der die Myelinisierung gemessen werden soll, wird nun auf dem Bild mit den hervorgehobenen Fasern markiert und anschließend auf das binäre Bild übertragen. Die Myelinisierung in % sowie die Fläche der Region in μm^2 für den jeweils markierten Bereich wird automatisiert gemessen.

Abb.25: Methode zur Bestimmung der Myelinisierung im Goldchlorid-Schnitt.

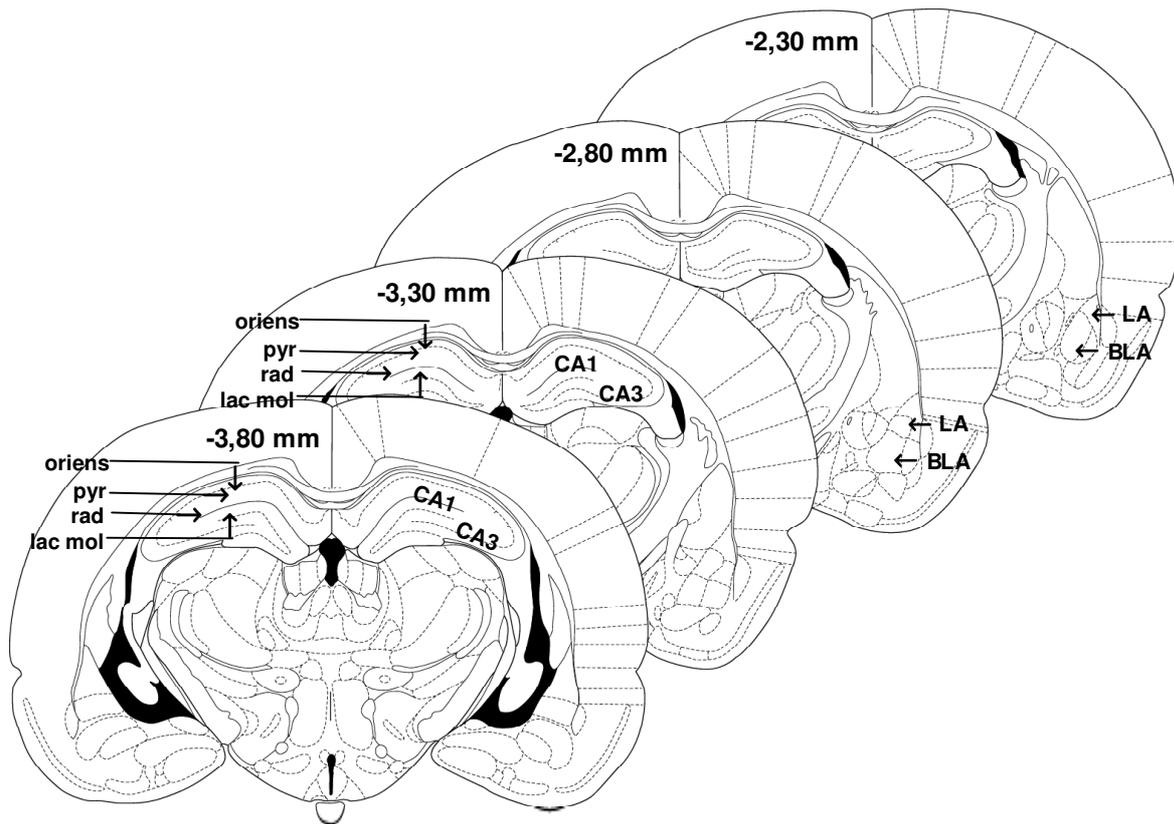


Abb.26: Coronalschnitte durch das Rattengehirn nach PAXINOS und WATSON [1998], deren Lage in mm von Bregma jeweils angegeben ist. Speziell bezeichnet sind die Hirnregionen, die zur histologischen Auswertung herangezogen wurden.

Abkürzungen: BLA – basolaterale Amygdala; CA1 – CA1-Region des Hippocampus; CA3 – CA3-Region des Hippocampus; LA – laterale Amygdala; lac mol – Stratum lacunosum moleculare; oriens – Stratum oriens; pyr – Stratum pyramidale; rad – Stratum radiatum

2.8.7 Zählung der Parvalbumin-immunreaktiven Interneurone

Für die Zählung der PVr-Interneurone wurde das bereits oben beschriebene Bildanalyzesystem (siehe 2.8.5) eingesetzt. Mit Hilfe der dazugehörigen Kamera wurde ein Live-Bild der jeweils auszuzählenden Region erstellt. PVr-Interneurone wurden dann bei 400-facher Vergrößerung in der gesamten Region beider Hemisphären ausgezählt. Eine stereologische Zählmethode war hier nicht möglich, da die Interneuronendichte sehr gering war und sich die Zellen im histologischen Schnitt in einer Ebene befanden. Deshalb wurden die PVr-Interneurone nicht nur in einem kleinen Teilbereich sondern jeweils in der gesamten Region ausgezählt. Dabei wurde jedes Neuron, das sich bei der Fokussierung der Schnitte scharf stellen ließ, farbig markiert, so dass Doppelzählungen und Auslassungen minimiert wurden. Gefärbte Zellen wurden in der Pyramidenzellschicht (Stratum pyramidale; pyr) der CA1- und

CA3-Region des HIPP sowie in der BLA und LA ausgezählt (Abb.26). Mit der Zählung der PVr-Interneurone im HIPP wurde wie auch bei der Messung der Myelinisierungsstärke bei $-3,3$ mm relativ zu Bregma begonnen. Die Amygdala wurde wiederum beginnend von $2,3$ mm posterior von Bregma ausgezählt. Die Zählung erfolgte sowohl für den HIPP als auch für die Amygdala jeweils an drei aufeinanderfolgenden Schnitten/Tier mit einem Abstand von jeweils $240 \mu\text{m}$ zwischen den Schnitten.

Im Anschluss wurde die Fläche, in der die Interneurone ausgezählt wurden, ausgemessen und das Volumen (siehe 2.8.5) sowie die Interneuronen-Dichte in Interneurone/ mm^3 ermittelt.

2.9 Statistische Versuchsauswertung

Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe der EDV-Programme Sigma-Stat 2.0 und SPSS 11.5 (Statcon, Witzhausen, Deutschland) unter Windows durchgeführt. Alle Parameter wurden als Mittelwert \pm Standardfehler (S.E.M.) angegeben. Alle statistischen Tests wurden zweiseitig durchgeführt und eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ als signifikant betrachtet.

2.9.1 Verhaltensversuche

Der Einfluss neonataler Läsionen auf das Verhalten in den verschiedenen Paradigmen wurde mittels Varianzanalysen (analysis of variance, ANOVA) statistisch ausgewertet. Vergleiche zwischen den drei Läsionsgruppen wurden mit Hilfe einer einfaktoriellen ANOVA durchgeführt (one-way ANOVA). Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen wurden post hoc mit einem Tukey t -Test weiter ausgewertet. Die Auswertung wiederholter Messungen über die Zeit, nach Substanzgabe oder bei unterschiedlichen Präpulsintensitäten erfolgte anhand einer zweifaktoriellen ANOVA für wiederholte Messungen (two-way RM ANOVA), ebenfalls gefolgt von einem Tukey t -Test für multiple Vergleiche. Waren mehr als zwei Faktoren vorhanden (Läsionsstatus, Präpulsintensität, Substanzgabe), wurde eine dreifaktorielle ANOVA (three-way ANOVA) durchgeführt, gefolgt von einer einfaktoriellen ANOVA oder einem t -Test.

2.9.2 Histologische Untersuchungen

Zunächst wurde ein Vergleich der Mittelwerte zwischen den beiden Hirnhälften innerhalb der Tiergruppen durchgeführt, um festzustellen, ob Unterschiede zwischen beiden Hemisphären bestanden. Dies geschah mittels eines *t*-Tests für verbundene Stichproben. Da sich bei keiner Behandlungsgruppe signifikanten Unterschiede zwischen linker und rechter Hemisphäre ergaben, wurden die Werte beider Hirnhälften zusammengefasst. Die statistische Auswertung der Unterschiede zwischen den Tiergruppen erfolgte dann durch eine einfaktorielle ANOVA, gefolgt von einem Tukey *t*-Test für multiple Vergleiche.

2.10 Versuchsabläufe

2.10.1 Substanzen

2.10.1.1 Apomorphin

Der DA-Rezeptor-Agonist APO (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) wurde jeweils kurz vor Gebrauch frisch in 0,1% Ascorbinsäure (Asc; Merck, Darmstadt, Deutschland) gelöst. Für die Messung der Effekte einer akuten APO-Applikation (siehe 2.10.3) auf die lokomotorische Aktivität adulter Ratten wurde eine Lösung mit 0,5 mg APO in 1 ml 0,1% Asc und für die Messung der Effekte auf die PPI der ASR eine Lösung mit 2 mg APO in 1 ml 0,1% Asc eingesetzt. Hierfür wurden 2,5 mg bzw. 10 mg APO und 5 mg Asc in 5 ml Aqua dest. gelöst. Da die Injektionslösung lichtempfindlich ist, wurde das Gefäß mit Aluminiumfolie umwickelt und bis zum Gebrauch im Kühlschrank aufbewahrt.

2.10.1.2 Dizocilpin

Zur Messung der Effekte einer hochdosierten chronischen sowie einer niedrigdosierten akuten Behandlung wurde Dizocilpin (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) in Saline gelöst. Für die Herstellung der Stammlösung wurden 25 mg Dizocilpin in 25 ml Saline gelöst (1 mg/ml). Diese Stammlösung wurde in 1 ml Aliquoten bei -20°C aufbewahrt. Um für die chronische Behandlung der Ratten (siehe 2.10.4) eine Lösung mit 0,5 mg Dizocilpin in 1 ml Saline zu erhalten, wurde jeweils ein Aliquot aufgetaut und mit 1 ml Saline verdünnt. Für die Messung der akuten Effekte einer Dizocilpin-Behandlung (siehe 2.10.4) auf die PPI der ASR wurde eine Lösung mit 0,15 mg Dizocilpin in 1 ml Saline eingesetzt. Hierfür wurden 1 ml der Stammlösung mit 5,67 ml Saline verdünnt.

2.10.2 Versuchsgruppen und Zeitplan

Zur Durchführung der Verhaltensversuche wurden die Ratten in drei Gruppen aufgeteilt (Versuchsgruppe [VG] I, II und III; Tab.3). Bei allen Ratten wurde die lokomotorische Aktivität an PND 35, PND 56 und bei adulten Ratten gemessen. Zusätzlich wurde bei allen adulten Tieren ein PR Test durchgeführt und die PPI der ASR bestimmt. Räumliches Lernen bei einer belohnten Alternation im 8-Arm Radial Maze wurde mit den Tieren der VG I durchgeführt. Ratten der VG II erlernten im 8-Arm Radial Maze eine egozentrische Strategie, während die Tiere der VG III in einer allozentrischen Lernaufgabe trainiert wurden. Zusätzlich wurden die Effekte einer akuten Behandlung mit APO auf die lokomotorische Aktivität (VG II) sowie die PPI der ASR (VG III) untersucht (siehe 2.10.3). Abschließend wurde bei den Ratten der VG II und III die Fähigkeit zwischen zwei Lernstrategien zu wechseln und zwar mit und ohne chronischer Dizocilpin Behandlung gemessen und zusätzlich die Effekte dieser Behandlung auf die lokomotorische Aktivität sowie die PPI der ASR analysiert (siehe 2.10.4). Nach Beenden der Verhaltensversuche wurden alle Ratten perfundiert und die Gehirne histologisch aufgearbeitet.

Tab.3: Übersicht über den Versuchsplan für die Versuchsgruppen I-III

PND	Versuchsgruppe I	Versuchsgruppe II	Versuchsgruppe III
	Ibotenat-Läsion: n=11 Scheinläsion: n=8 Kontrolle: n=8	Ibotenat-Läsion: n=10 Scheinläsion: n=8 Kontrolle: n=9	Ibotenat-Läsion: n=13 Scheinläsion: n=10 Kontrolle: n=9
0	Geburt; Reduktion der Jungtiere auf 8 pro Wurf (siehe 2.1)		
7	Neonatale Läsion des entorhinalen Cortex (siehe 2.2)		
21	Absetzen der Jungtiere (siehe 2.1)		
35	Messung der lokomotorischen Aktivität in der Aktivitätsbox (siehe 2.6.2)		
56	Messung der lokomotorischen Aktivität in der Aktivitätsbox (siehe 2.6.2)		
ab 70	Belohnte Alternation im 8-Arm Radial Maze (siehe 2.3.3)	Egozentrisches Lernen im 8-Arm Radial Maze (siehe 2.3.4)	Allozentrisches Lernen im 8-Arm Radial Maze (siehe 2.3.5)
ab 130	Breakpoint-Bestimmung in einem <i>progressive ratio</i> Test der operanten Konditionierung (siehe 2.5.2)		
ab 160	Messung der lokomotorischen Aktivität in der Aktivitätsbox (siehe 2.6.2)		
ab 170	Bestimmung der Präpulsinhibition (PPI) der akustisch ausgelösten Schreckreaktion (ASR) (siehe 2.7.2)		
ab 200	Perfusion, Gehirnentnahme und histologische Aufarbeitung (siehe 2.8)	Systemische Applikation von Apomorphin (0,5 mg/kg, s.c.) Messung der lokomotorischen Aktivität in der Aktivitätsbox (siehe 2.10.3)	Systemische Applikation von Apomorphin (2 mg/kg, s.c.) Bestimmung der PPI der ASR (siehe 2.10.3)
ab 350		Pharmakologische Studie mit Dizocilpin: <ul style="list-style-type: none"> - Verhaltensflexibilität im Cross-Maze vor Dizocilpin (siehe 2.4.3) - Bestimmung der PPI der ASR (siehe 2.10.4) - Systemische Applikation von Dizocilpin (0,5 mg/kg s.c., 2x tgl., 7 Tage) (siehe 2.10.4) - Verhaltensflexibilität im Cross-Maze nach Dizocilpin (siehe 2.4.3) - Messung der lokomotorischen Aktivität (siehe 2.10.4) - Bestimmung der PPI der ASR (siehe 2.10.4) 	
Ab 500		Perfusion, Gehirnentnahme und histologische Aufarbeitung (siehe 2.8)	

2.10.3 Verhalten adulter Ratten nach akuter Apomorphin-Behandlung

Der Einfluss einer akuten APO Behandlung auf die lokomotorische Aktivität wurde bei der VG II gemessen (Tab.3). Dafür wurde jede Ratte zunächst in einem 35-minütigen Test an die Aktivitätsbox gewöhnt. Nach dieser Adaptationsphase wurde jeder Ratte als Vehikel 0,1% Asc (1 ml/kg, s.c.) injiziert und die Lokomotion weitere 35 min aufgezeichnet. Anschließend wurde den Ratten APO appliziert (0,5 mg/kg, s.c.). Das Verhalten wurde dann weitere 120 min aufgezeichnet. Die Dauer des Tests wurde in Vorversuchen ermittelt, die ergaben, dass Veränderungen der Lokomotion, die durch APO mit dieser Dosierung induziert wurden, nicht länger als 120 min andauern, so dass die Lokomotion nach dieser Zeit das Ausgangsniveau wieder erreicht hatte. Die Auswertung der Versuchsparameter (siehe 2.6.2) erfolgte in fünf-Minuten-Blöcken.

Die PPI wurde bei der VG III nach akuter Injektion von APO bestimmt (Tab.3). Hierfür wurde am ersten Tag die basale PPI gemessen (keine Substanz). Am dritten Tag wurden alle Ratten mit Vehikel (0,1% Asc; 1 ml/kg, s.c.) und am fünften Tag mit APO (2 mg/kg, s.c.) behandelt. Die Akklimationsphase begann jeweils direkt nach der Injektion. Die Intensität des Startlereizes betrug während dieser Experimente 105 dB, die Intensität der Präpulse 72 und 80 dB (siehe 2.7.2).

2.10.4 Verhalten adulter Ratten nach chronischer Dizocilpin-Behandlung

Der Einfluss einer hochdosierten chronischen Dizocilpin Behandlung auf die Verhaltensflexibilität im Cross Maze (Fähigkeit zwischen verschiedenen Strategien zu wechseln), die sensorimotorische Informationsverarbeitung (PPI) sowie die lokomotorische Aktivität wurde bei den VG II und III untersucht (Tab.3). Der zeitliche Ablauf der Versuche ist in Abb.27 dargestellt.

Für die chronische Dizocilpin Behandlung der Ratten wurden diese in eine Vehikel- (Saline) und eine Substanz-Gruppe (Dizocilpin) eingeteilt. Die Einteilung erfolgte zufällig unter Berücksichtigung der im Cross Maze während des Trainings erbrachten Leistung (siehe 2.4.3), so dass keine Unterschiede zwischen diesen beiden Gruppen innerhalb der Läsionsgruppen (Ibotenatläsion, Scheinläsion, Kontrolle) auftraten. Die Applikation von Dizocilpin (0,5 mg/kg, s.c.) erfolgte zweimal täglich in einem Abstand von etwa zehn Stunden an sieben aufeinanderfolgenden Tagen. Als Vehikel wurde Saline (1 ml/kg) injiziert. Während der sieben Behandlungstage wurden keine Verhaltenstests durchgeführt. Nach der letzten

Injektion wurden weitere sieben Tage keine Versuche durchgeführt, um akute Effekte der Substanz auf das Verhalten in späteren Versuchen ausschließen zu können („Washout“ Periode; Abb.27).

Die Ratten wurden zunächst im Cross Maze darauf trainiert bis zum Erreichen eines vorgegebenen Kriteriums eine allozentrische (siehe 2.4.3.1) und anschließend eine egozentrische Lernaufgabe (siehe 2.4.3.2) zu lösen. Daraufhin wurde die Fähigkeit der Ratten zwischen den gelernten Strategien zu wechseln (Verhaltensflexibilität) gemessen. Hierfür sollten die Ratten nach Erreichen des Lernkriteriums bei der egozentrischen Lernaufgabe wieder die zu Beginn gelernte allozentrische Strategie anwenden und dann wieder zu der egozentrischen Strategie wechseln. Anschließend wurde die PPI der ASR bei allen Tieren bestimmt (siehe 2.7.2). Einen Tag danach begann die chronische Behandlung der Ratten mit Dizocilpin. Sieben Tage nach der letzten Injektion wurde der Einfluss dieser Behandlung auf die Verhaltensflexibilität gemessen. Dabei wurde den Ratten zunächst eine allozentrischen Aufgabe präsentiert, um sich nach der zweiwöchigen Pause wieder an das Maze und die Aufgabenstellung zu gewöhnen. Zusätzlich stellte dies bereits einen Wechsel zu der direkt vor der Behandlung durchgeführten egozentrischen Strategie dar. Es folgte ein Wechsel zu einer egozentrischen und abschließend nochmals zu einer allozentrischen Strategie. Nach Abschluss der Verhaltensversuche im Cross Maze wurde zusätzlich die lokomotorische Aktivität gemessen (siehe 2.6.2). Bei dieser Gruppe erfolgte die Auswertung der Parameter als Gesamtwerte über die 35-minütige Testperiode. Anschließend erfolgte die Bestimmung der PPI um den Einfluss der hochdosierten chronischen Dizocilpin-Gabe auf die PPI der ASR zu untersuchen. Abschließend sollte der Einfluss der hochdosierten chronischen Behandlung mit Dizocilpin auf eine einmalige niedrigdosierte Gabe von Dizocilpin beobachtet werden. Dafür wurde allen Ratten zwei Tage nach der Messung der basalen PPI Saline (1 ml/kg) injiziert. Nach weiteren zwei Tagen erhielten alle Ratten eine niedrige Dosis Dizocilpin (0,15 mg/kg, s.c.). Die Ratten wurden nach der Injektion von Dizocilpin bzw. Saline jeweils sofort in die Startle Box gesetzt. Die Intensität des Startlereizes betrug während dieser Experimente 105 dB, die Intensität der Präpulse 72 und 80 dB (siehe 2.7.2).

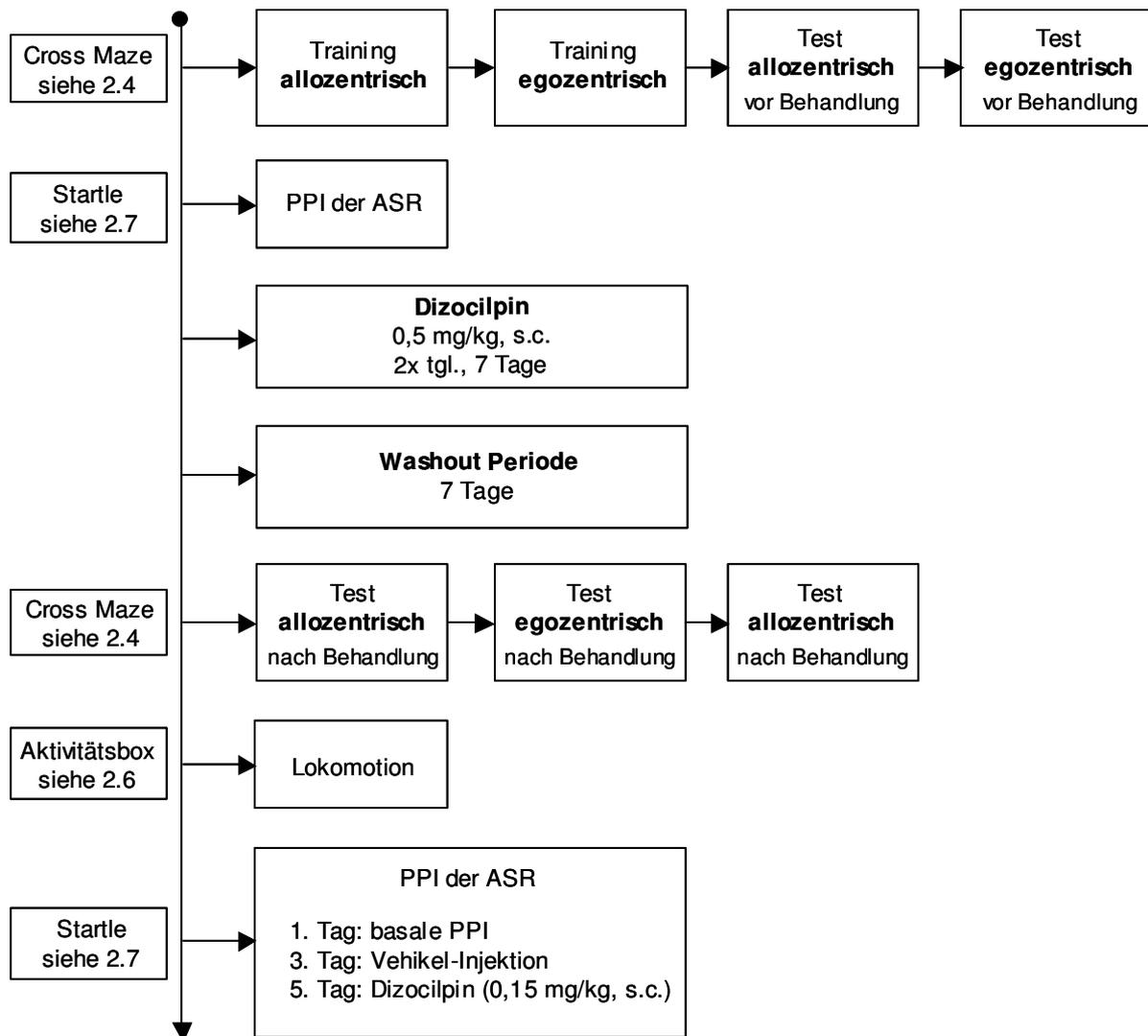


Abb.27: Übersicht über den Versuchsablauf zur Messung der Effekte einer chronischen Behandlung mit Dizocilpin auf das Verhalten adulter Ratten, die eine neonatale Läsion des entorhinalen Cortex erhalten haben.

3 ERGEBNISSE

3.1 Histologie

3.1.1 Lokalisation der Läsionen und Volumenbestimmung des entorhinalen Cortex

Die Läsionen waren zwei Tage nach der bilateralen Ibotonat-Infusion durch Gliose und den Verlust von Neuronen charakterisiert (Abb.28B₁). Die Läsionen adulter Tiere wiesen keine Gliose auf. Hier konnte eine deutliche bilaterale Einstülpung des EC beobachtet werden (Abb.28B₂), die weder bei scheinläsionierten noch bei naiven Kontrollratten auftrat (Abb.28B₃₋₄). Sowohl die mediale als auch die laterale Untereinheit des EC war durch die Läsion betroffen. An den EC angrenzende Regionen waren nur marginal beeinträchtigt (< 10%). Die Läsionen erstreckten sich über eine Länge von etwa 2 mm zwischen –5,80 und –7,80 mm caudal von Bregma. Abb.28A zeigt die jeweils größte und kleinste Läsion abgebildet auf Coronalen Schnitten des Rattengehirns nach PAXINOS und WATSON [1998].

Es wurden nur diejenigen Ratten in die Auswertung einbezogen, welche eine beidseitige Ibotonat-induzierte Läsion des EC hatten. Für die endgültige Auswertung konnten von den insgesamt 34 läsionierten Ratten 28 Tiere verwendet werden. Im Folgenden werden Ratten, die eine neonatale Ibotonat-Läsion erhalten haben als „läsionierte Ratten“ und Ratten mit einer Scheinläsion als „Sham Ratten“ bezeichnet.

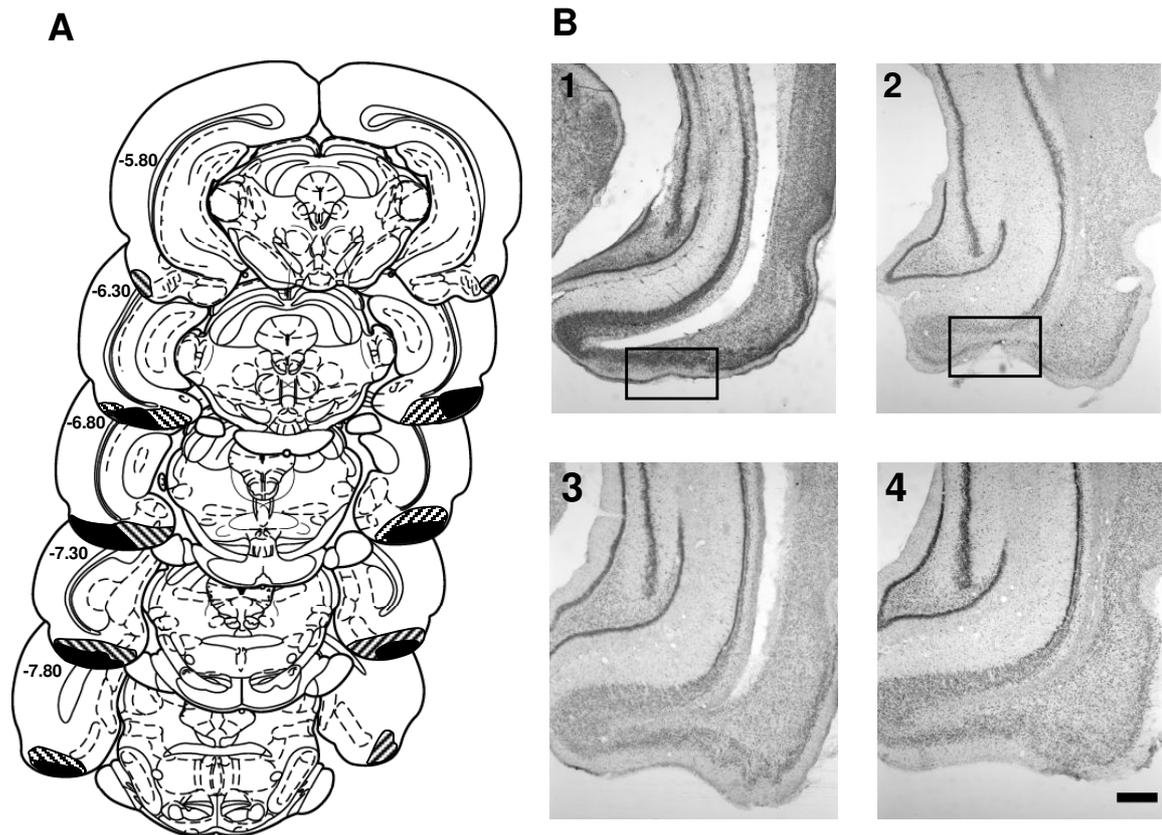


Abb.28: Lokalisation und Ausmaß bilateraler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex (EC). Die maximale (schwarze+schrattierte Fläche) und minimale (schwarze Fläche) Ausdehnung der Läsionen wurde auf Coronalen Schnitte nach PAXINOS und WATSON [1998] projiziert, deren Lage in mm von Bregma jeweils angegeben ist (A). Die Läsionen erfassten in anteriorer-posteriorer Richtung große Teile des EC auf einer Länge von ungefähr 2 mm (-5,80 bis -7,80 mm von Bregma). Die Abbildungen B₁₋₄ zeigen histologische Aufnahmen coronaler Gehirnschnitte des rechten EC einer Ibotenat-läsionierten (B_{1,2}), scheinläsionierten (B₃) und Kontrollratte (B₄) zwei Tage nach Ibotenat-Infusion (B₁) sowie bei adulten Tieren (B₂₋₄). Ibotenat bewirkte eine Gliose zwei Tage nach der Injektion sowie eine Reduktion des EC bei adulten Ratten. Bei scheinläsionierten und Kontrolltieren war der EC unverändert. Kalibrierbalken: 500µm

Bei der quantitativen Auswertung des EC Volumens traten innerhalb der Gruppen keine signifikanten Unterschiede zwischen der rechten und linken Hirnhälfte auf (alle Gruppen: $p > 0,259$; gepaarter t -Test; Tab.4). Für den Vergleich zwischen den Gruppen wurden deshalb für die weitere Auswertung die Volumina beider Hemisphären zusammengefasst. Das Volumen des gesamten EC sowie seiner Teilgebiete LEA und MEA war bei läsionierten Ratten im Vergleich zu Sham und Kontrollratten reduziert (EC gesamt: $F_{2,24}=8,951$, $p=0,001$; LEA: $F_{2,24}=8,757$, $p=0,002$; MEA: $F_{2,24}=6,731$, $p=0,005$; one-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test $p < 0,05$; Abb.29).

Tab.4: Volumen des entorhinalen Cortex (EC) sowie des lateralen (LEA) und medialen (MEA) Arealen in der rechten und linken Hemisphäre

Läsionsgruppe	Tierzahl	Volumen (mm ³)					
		EC rechts	EC links	LEA rechts	LEA links	MEA rechts	MEA links
Läsion	9	3,42±0,19	3,68±0,26	3,16±0,17	3,42±0,26	0,26±0,03	0,27±0,03
Sham	8	4,70±0,36	4,86±0,30	4,35±0,32	4,50±0,28	0,37±0,05	0,36±0,04
Kontrolle	8	4,92±0,31	5,12±0,24	4,54±0,28	4,67±0,24	0,41±0,04	0,36±0,04

Daten sind Mittelwerte ± S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion), scheinläsionierten (Sham) und Kontrollratten (Kontrolle) der jeweils angegebenen Tierzahl. Innerhalb der Gruppen bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen der linken und rechten Hirnhälfte.

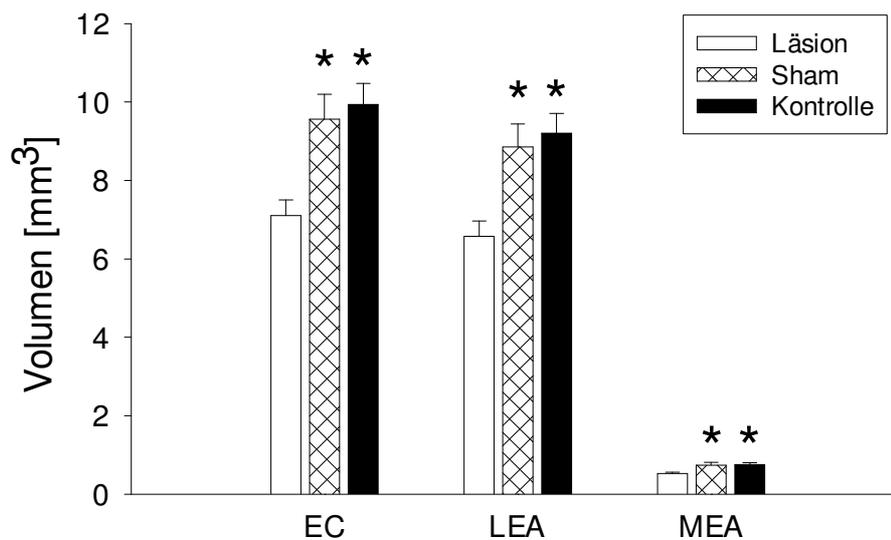


Abb.29: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex (EC) auf das Gesamtvolumen sowie auf das Volumen des lateralen (LEA) sowie medialen (MEA) Arealen. Daten sind Mittelwerte + S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion; n=9; weiße Balken), scheinläsionierten (Sham; n=8; karierte Balken) und Kontrollratten (Kontrolle; n=8; schwarze Balken). Die dargestellten Volumina in mm³ sind die Summe aus linkem und rechtem Volumen. Signifikante Unterschiede zu Ibotenat-läsionierten Ratte sind durch Sterne gekennzeichnet (*p<0,05; one-way ANOVA, post hoc Tukey t-Test).

3.1.2 Messung der Myelinisierungsstärke

Die Myelinisierung wurde im Stratum lacunosum moleculare (lac mol), im Stratum radiatum (rad) und im Stratum oriens (oriens) des HIPP sowie in der BLA und der angrenzenden LA bei neun läsierten, acht Sham und acht Kontrollratten an jeweils drei aufeinanderfolgenden Schnitten/Tier ausgemessen.

Zunächst wurde das Volumen der ausgewählten Hirnregionen in beiden Hemisphären bestimmt. Es traten innerhalb der Gruppen bei keiner der ausgemessenen Regionen signifikante Unterschiede zwischen der rechten und linken Hirnhälfte auf (alle Gruppen: $p > 0,101$; gepaarter t -Test; Tab.5). Für den Vergleich zwischen den Gruppen wurden daher die Volumina beider Hemisphären zusammengefasst. Es traten keine signifikanten Unterschiede zwischen läsierten, Sham und Kontrollratten hinsichtlich der Volumina auf (alle Regionen: $F < 2,840$, $p > 0,080$; one-way ANOVA).

Tab.5: Volumen des Stratum lacunosum moleculare (lac mol), Stratum radiatum (rad) und Stratum oriens (oriens) des Hippocampus sowie der basolateralen (BLA) und lateralen Amygdala (LA) in der rechten und linken Hemisphäre

Läsions- gruppe	Tier- zahl	Volumen (mm ³)									
		lac mol rechts	lac mol links	rad rechts	rad links	oriens rechts	oriens links	BLA rechts	BLA links	LA rechts	LA links
Läsion	9	0,13 ±0,01	0,12 ±0,01	0,45 ±0,01	0,46 ±0,01	0,22 ±0,03	0,28 ±0,05	0,26 ±0,01	0,27 ±0,02	0,04 ±0,004	0,04 ±0,003
Sham	8	0,14 ±0,01	0,13 ±0,01	0,47 ±0,02	0,45 ±0,02	0,21 ±0,01	0,20 ±0,01	0,27 ±0,01	0,24 ±0,02	0,04 ±0,005	0,04 ±0,005
Kontrolle	8	0,14 ±0,005	0,14 ±0,01	0,47 ±0,02	0,49 ±0,02	0,22 ±0,01	0,22 ±0,02	0,26 ±0,02	0,24 ±0,02	0,03 ±0,003	0,04 ±0,005

Daten sind Mittelwerte \pm S.E.M. von Ibotenat-läsierten (Läsion), scheinläsierten (Sham) und Kontrollratten (Kontrolle) der jeweils angegebenen Tierzahl. Es bestanden in keiner Region signifikante Unterschiede zwischen den Läsionsgruppen sowie zwischen der rechten und linken Hirnhälfte innerhalb der Gruppen.

Bei der Auswertung der Myelinisierung traten in keiner der ausgewerteten Regionen signifikante Unterschiede zwischen rechter und linker Hirnhälfte innerhalb der Gruppen auf (alle Gruppen: $p > 0,074$; gepaarter t -Test; Tab.6). Für die weitere Auswertung zwischen den Gruppen wurden deshalb die Werte für beide Hemisphären jeder Region zusammengefasst.

Tab.6: Myelinisierung im Stratum lacunosum moleculare (lac mol), Stratum radiatum (rad) und Stratum oriens (oriens) des Hippocampus sowie in der basolateralen (BLA) und lateralen Amygdala (LA) in der rechten und linken Hemisphäre

Läsions- gruppe	Tier- zahl	Myelinisierung (%)									
		lac mol rechts	lac mol links	rad rechts	rad links	oriens rechts	oriens links	BLA rechts	BLA links	LA rechts	LA links
Läsion	9	18,81 ±1,81	18,10 ±2,11	9,78 ±1,89	8,27 ±1,95	12,72 ±1,38	11,00 ±2,00	15,15 ±3,27	12,72 ±3,02	14,70 ±3,55	13,86 ±2,76
Sham	8	31,97 ±1,25	30,67 ±1,27	21,32 ±1,53	21,97 ±2,38	24,96 ±1,66	23,84 ±2,01	26,47 ±2,85	23,92 ±3,50	27,36 ±3,75	23,21 ±4,16
Kontrolle	8	31,22 ±1,60	32,76 ±1,30	27,55 ±2,22	28,28 ±2,26	27,57 ±2,27	28,46 ±1,74	27,74 ±1,34	25,24 ±2,45	25,90 ±1,84	23,76 ±2,64

Daten sind Mittelwerte \pm S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion), scheinläsionierten (Sham) und Kontrollratten (Kontrolle) der jeweils angegebenen Tierzahl. Innerhalb der Gruppen bestanden in keiner Region signifikante Unterschiede zwischen der rechten und linken Hirnhälfte.

Bei der Auswertung der Myelinisierung ergab sich ein Läsionseffekt in allen ausgemessenen Regionen (lac mol: $F_{2,24}=28,458$, $p < 0,001$; rad: $F_{2,24}=25,696$, $p < 0,001$; oriens: $F_{2,24}=23,511$, $p < 0,001$; BLA: $F_{2,24}=6,617$, $p = 0,006$; LA: $F_{2,24}=4,422$, $p = 0,024$; one-way ANOVA). Ein post hoc Test zeigte, dass läsionierte Ratten im Vergleich zu Sham und Kontrollratten in allen Regionen eine signifikante Reduktion der Myelinscheide aufwiesen ($p < 0,05$; Abb.30). Abb.31/32 zeigen repräsentative histologische Bilder der ausgemessenen Hirnregionen bei jeweils einem läsionierten Tier, einem Sham und einem Kontrolltier.

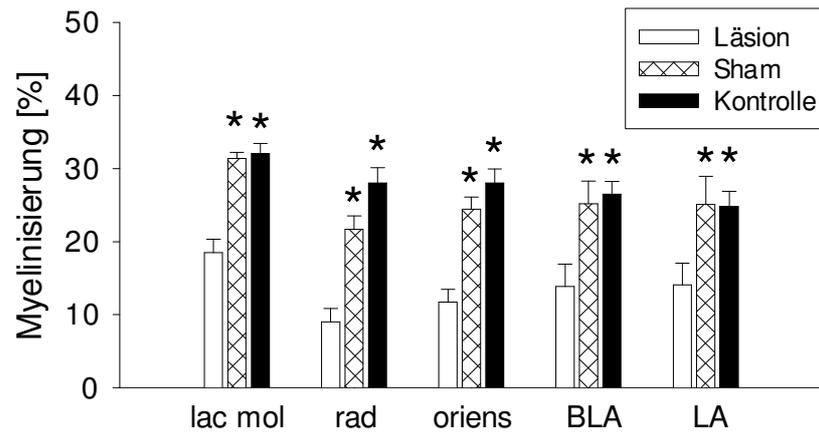
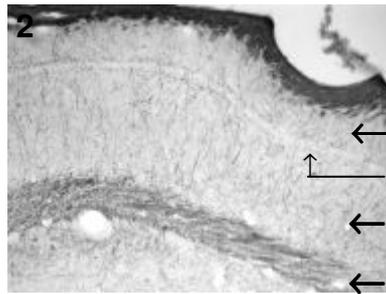
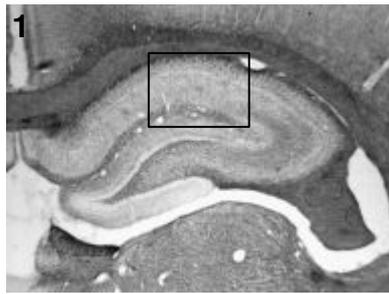
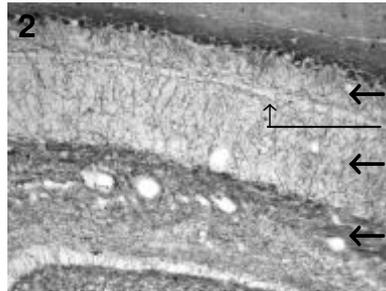


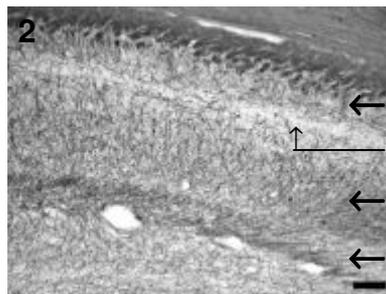
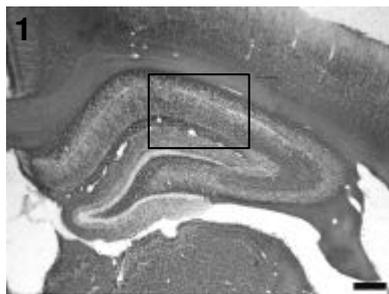
Abb.30: Myelinisierung im Stratum lacunosum moleculare (lac mol), Stratum radiatum (rad) und Stratum oriens (oriens) des Hippocampus sowie in der basolateralen (BLA) und lateralen Amygdala (LA). Daten sind Mittelwerte \pm S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion, n=9, weiße Balken), scheinläsionierten (Sham, n=8, karierte Balken) und Kontrollratten (Kontrolle, n=8, schwarze Balken). Signifikante Unterschiede zu Ibotenat-läsionierten Ratten sind durch Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$; one-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test).

A Läsion

← Stratum oriens
 ↑ Stratum pyramidale
 ← Stratum radiatum
 ← Stratum lacunosum moleculare

B Sham

← Stratum oriens
 ↑ Stratum pyramidale
 ← Stratum radiatum
 ← Stratum lacunosum moleculare

C Kontrolle

← Stratum oriens
 ↑ Stratum pyramidale
 ← Stratum radiatum
 ← Stratum lacunosum moleculare

Abb.31: Histologische Darstellungen myelinisierter Fasern im rechten Hippocampus jeweils einer Ibotenat-läsionierten (Läsion; A), scheinläsionierten (Sham; B) und Kontrollratte (Kontrolle; C). Dargestellt sind coronale Gehirnschnitte des dorsalen Hippocampus in der Ebene 3,5 mm posterior von Bregma (A₁/B₁/C₁). A₂/B₂/C₂ sind Vergrößerungen aus dem jeweils in A₁/B₁/C₁ markierten Bereich. Beim Vergleich der Aufnahmen zeigte sich im Stratum lacunosum moleculare, im Stratum radiatum und im Stratum oriens eine Reduktion der Myelinscheide bei Ibotenat-läsionierten Ratten im Vergleich zu scheinläsionierten und Kontrollratten.

Kalibrierbalken: A₁/B₁/C₁: 400 µm; A₂/B₂/C₂: 100 µm

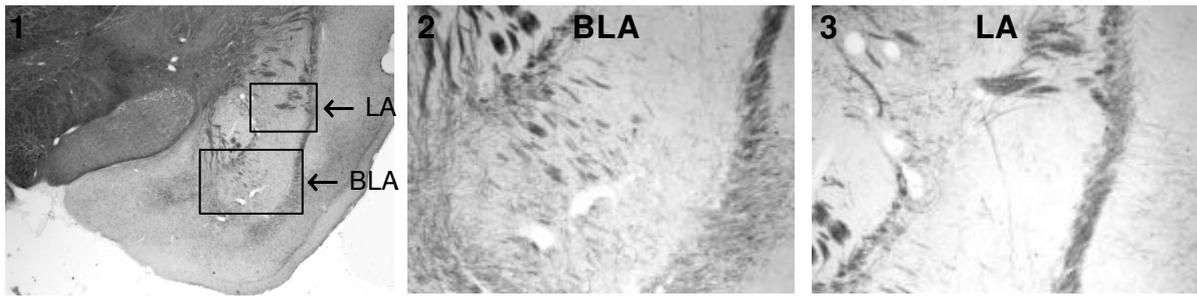
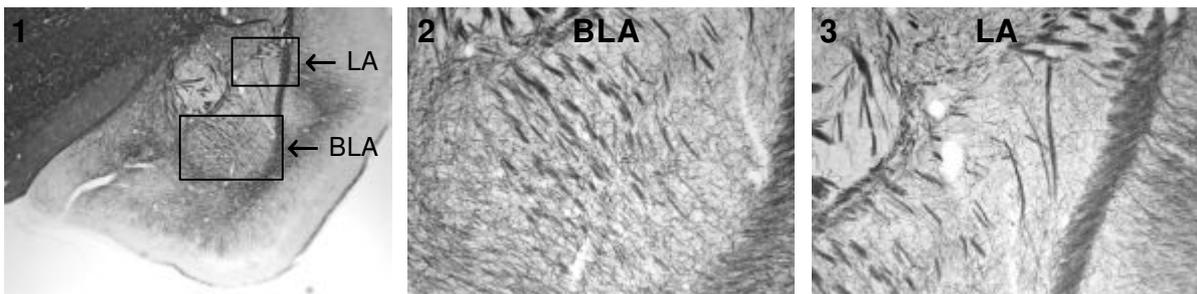
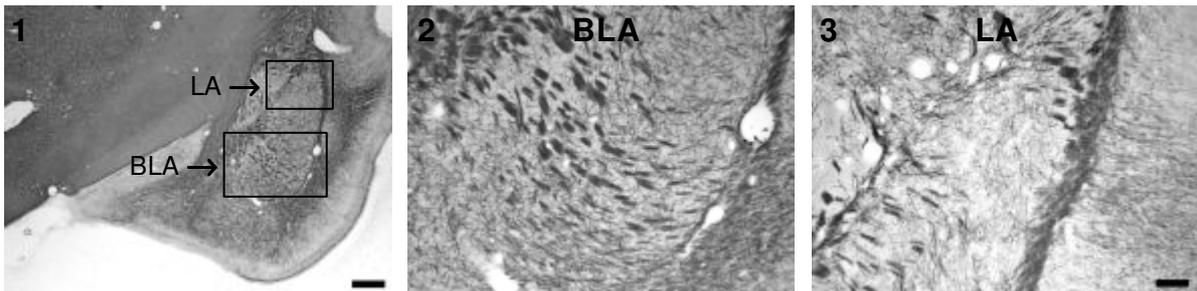
A Läsion**B Sham****C Kontrolle**

Abb.32: Histologische Darstellungen myelinisierter Fasern in der rechten Amygdala jeweils einer Ibotenat-läsionierten (Läsion; A), scheinläsionierten (Sham; B) und Kontrollratte (Kontrolle; C). Dargestellt sind coronale Gehirnschnitte der Amygdala in der Ebene 2,8 mm posterior von Bregma ($A_1/B_1/C_1$). $A_{2-3}/B_{2-3}/C_{2-3}$ sind Vergrößerungen aus den jeweils in $A_1/B_1/C_1$ markierten Bereichen der basolateralen (BLA; $A_2/B_2/C_2$) und lateralen Amygdala (LA; $A_3/B_3/C_3$). Beim Vergleich der Aufnahmen zeigte sich in beiden Regionen eine Reduktion der Myelinscheide bei Ibotenat-läsionierten Ratten im Vergleich zu scheinläsionierten und Kontrollratten.

Kalibrierbalken: $A_1/B_1/C_1$: 400 μm ; $A_{2-3}/B_{2-3}/C_{2-3}$: 100 μm

3.1.3 Zählung der Parvalbumin-immunreaktiven Interneurone

PVr-Interneurone wurden in der Pyramidenzellschicht der Regionen CA1 und CA3 des HIPP sowie in der BLA und der angrenzenden LA bei neun läsionierten, acht Sham und acht Kontrollratten an jeweils drei aufeinanderfolgenden Schnitten/Tier ausgezählt.

Zunächst wurde das Volumen der ausgewählten Hirnregionen in beiden Hemisphären der Läsionsgruppen bestimmt. Es traten innerhalb der Gruppen bei keiner der ausgemessenen Regionen signifikante Unterschiede zwischen der rechten und linken Hirnhälfte auf (alle Gruppen: $p > 0,120$; gepaarter t -Test; Tab.7). Für den Vergleich zwischen den Gruppen wurden daher die Volumina beider Hemisphären zusammengefasst. Es traten keine signifikanten Unterschiede zwischen läsionierten, Sham und Kontrollratten hinsichtlich der Volumina der CA1- und CA3-Region sowie der BLA und LA auf (alle Regionen: $F < 1,230$, $p > 0,312$; one-way ANOVA).

Tab.7: Volumen der CA1- und CA3-Region des Hippocampus sowie der basolateralen (BLA) und lateralen Amygdala (LA) in der rechten und linken Hemisphäre

Läsions- gruppe	Tier- zahl	Volumen (mm ³)							
		CA1 rechts	CA1 links	CA3 rechts	CA3 links	BLA rechts	BLA links	LA rechts	LA links
Läsion	9	0,12 ±0,01	0,11 ±0,01	0,10 ±0,003	0,10 ±0,01	0,23 ±0,02	0,24 ±0,02	0,05 ±0,02	0,06 ±0,02
Sham	8	0,12 ±0,004	0,12 ±0,01	0,10 ±0,01	0,12 ±0,01	0,26 ±0,01	0,24 ±0,02	0,05 ±0,002	0,05 ±0,006
Kontrolle	8	0,12 ±0,01	0,12 ±0,01	0,11 ±0,01	0,11 ±0,01	0,23 ±0,02	0,23 ±0,02	0,04 ±0,004	0,05 ±0,007

Daten sind Mittelwerte \pm S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion), scheinläsionierten (Sham) und Kontrollratten (Kontrolle) der jeweils angegebenen Tierzahl. Es bestanden in keiner Region signifikante Unterschiede zwischen den Läsionsgruppen sowie zwischen der rechten und linken Hirnhälfte innerhalb der Gruppen.

Nach Zählung der PVr-Interneurone konnte mit Hilfe des zuvor ausgemessenen Volumens die Interneuronendichte bestimmt werden. Beim Vergleich der Mittelwerte der PVr-Interneuronendichte (Interneurone/mm³) traten in keiner der ausgewerteten Regionen signifikante Unterschiede zwischen rechter und linker Hirnhälfte innerhalb der Gruppen auf (alle Gruppen: $p > 0,139$; gepaarter t -Test; Tab.8). Für die weitere Auswertung wurden deshalb die Werte für beide Hemisphären jeder Region zusammengefasst.

Tab.8: Dichte Parvalbumin-immunreaktiver (PVr) Interneurone in der CA1- und CA3-Region des Hippocampus sowie in der basolateralen (BLA) und lateralen Amygdala (LA) in der rechten und linken Hemisphäre

Läsions- gruppe	Tier- zahl	PVr-Interneuronendichte (Interneurone/mm ³)							
		CA1 rechts	CA1 links	CA3 rechts	CA3 links	BLA rechts	BLA links	LA rechts	LA links
Läsion	9	587,92 ±46,08	594,81 ±39,42	696,97 ±61,92	697,56 ±63,19	332,10 ±35,62	331,93 ±39,38	245,25 ±37,38	247,96 ±36,35
Sham	8	926,76 ±53,71	1027,97 ±106,74	753,58 ±32,33	735,57 ±45,10	423,94 ±27,67	411,13 ±33,19	345,43 ±19,55	281,26 ±43,93
Kontrolle	8	960,89 ±94,98	945,38 ±75,45	884,34 ±138,21	843,95 ±89,40	466,56 ±62,36	520,41 ±51,67	310,14 ±53,62	307,91 ±57,69

Daten sind Mittelwerte \pm S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion), scheinläsionierten (Sham) und Kontrollratten (Kontrolle) der jeweils angegebenen Tierzahl. Innerhalb der Gruppen bestanden in keiner Region signifikante Unterschiede zwischen der rechten und linken Hirnhälfte.

Bei der Auswertung der PVr-Interneuronendichte ergab sich ein Läsionseffekt in der CA1-Region des Hippocampus sowie in der BLA (CA1: $F_{2,24}=13,018$, $p < 0,001$; BLA: $F_{2,24}=4,265$, $p=0,027$; one-way ANOVA), nicht jedoch in der CA3-Region und der LA (CA3: $F_{2,24}=1,357$, $p=0,278$; LA: $F_{2,24}=2,001$, $p=0,159$; one-way ANOVA). Ein post hoc Test zeigte, dass läsionierte Ratten in der CA1-Region und der BLA eine signifikant geringere PVr-Interneuronendichte aufwiesen als Kontrollratten ($p < 0,05$). In der CA1-Region trat zusätzlich eine Reduktion gegenüber Sham Ratten auf ($p < 0,05$; Abb.33). Abb.34/35 zeigen repräsentative histologische Bilder der ausgezählten Hirnregionen bei jeweils einem läsionierten Tier, einem Sham und einem Kontrolltier.

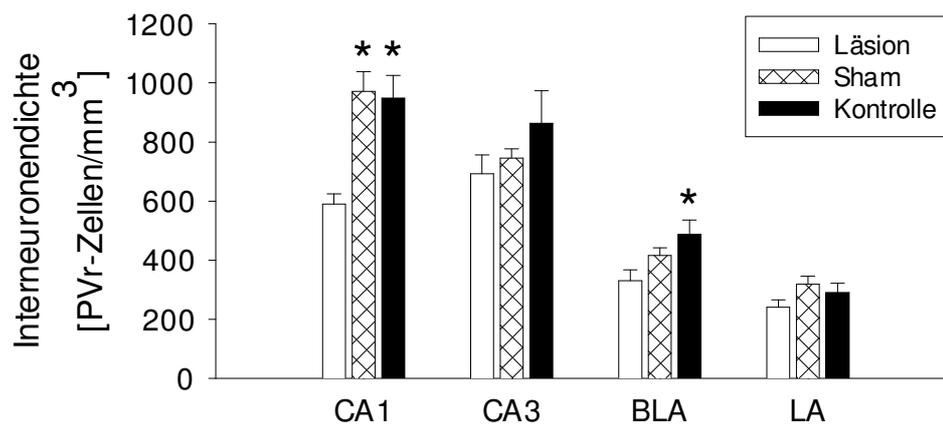


Abb.33: Dichte der Parvalbumin-immunreaktiven (PVR)-Interneurone in der CA1- und CA3-Region des Hippocampus sowie in der basolateralen (BLA) und lateralen Amygdala (LA). Daten sind Mittelwerte + S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion, n=9, weiße Balken), scheinläsionierten (Sham, n=8, karierte Balken) und Kontrollratten (Kontrolle, n=8, schwarze Balken). Signifikante Unterschiede zu Ibotenat-läsionierten Ratten sind durch Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$; one-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test).

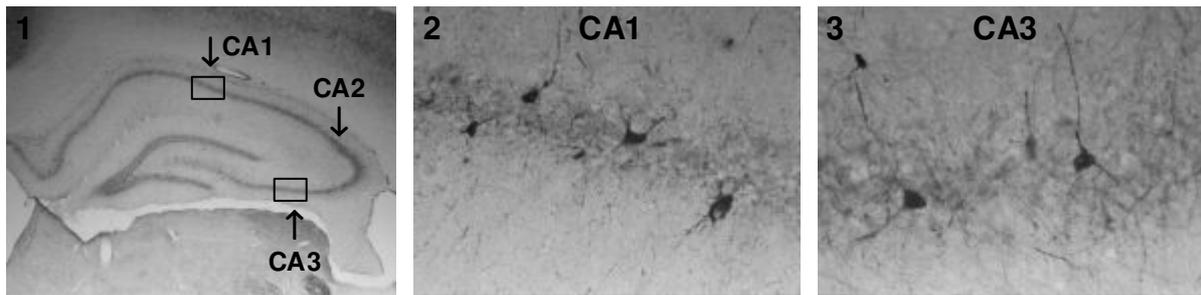
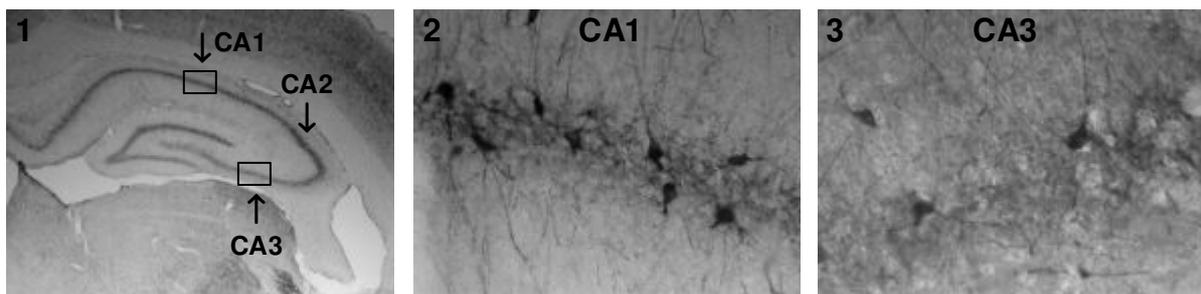
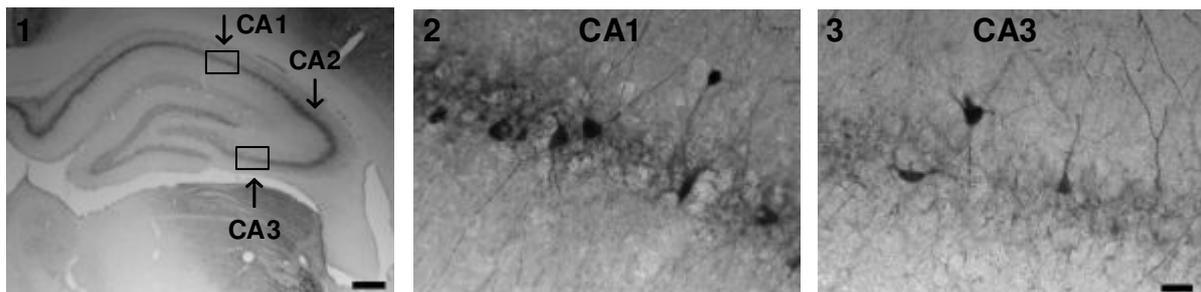
A Läsion**B Sham****C Kontrolle**

Abb.34: Histologische Darstellungen von Parvalbumin-immunreaktiven (PVR)-Interneuronen im rechten Hippocampus jeweils einer Ibotenat-läsionierten (Läsion; A), scheinläsionierten (Sham; B) und Kontrollratte (Kontrolle; C). Dargestellt sind coronale Gehirnschnitte des dorsalen Hippocampus in der Ebene 3,5 mm posterior von Bregma ($A_1/B_1/C_1$). $A_{2-3}/B_{2-3}/C_{2-3}$ sind Vergrößerungen aus den jeweils in $A_1/B_1/C_1$ markierten Bereichen der CA1- ($A_2/B_2/C_2$) und CA3- ($A_3/B_3/C_3$) Region des Hippocampus. Beim Vergleich der Aufnahmen zeigte sich in der CA1-, nicht jedoch in der CA3-Region des Hippocampus eine reduzierte Dichte der PVR-Interneurone bei Ibotenat-läsionierten Ratten im Vergleich zu scheinläsionierten und Kontrollratten.

Kalibrierbalken: $A_1/B_1/C_1$: 400 μm ; $A_{2-3}/B_{2-3}/C_{2-3}$: 25 μm

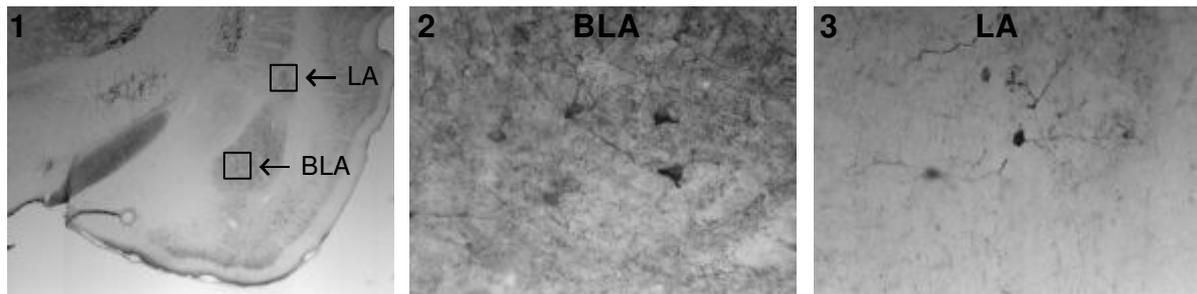
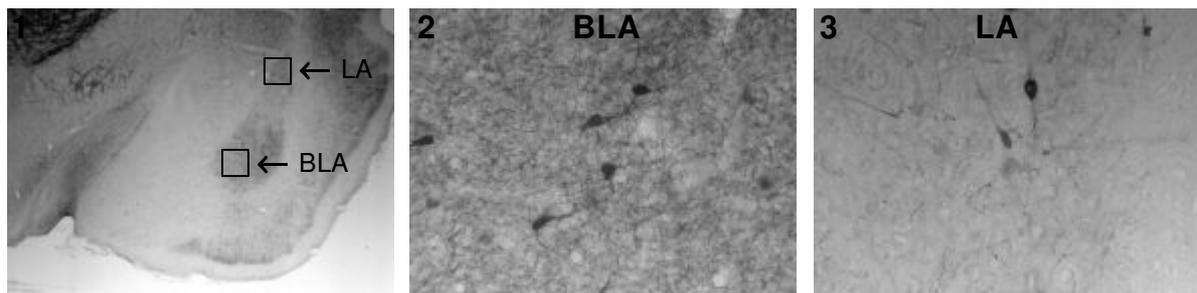
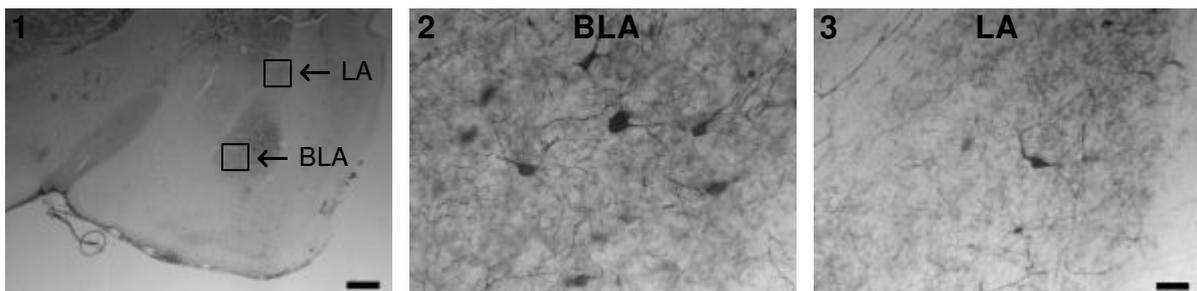
A Läsion**B Sham****C Kontrolle**

Abb.35: Histologische Darstellungen von Parvalbumin-immunreaktiven (PVR)-Interneuronen in der rechten Amygdala jeweils einer Ibotenat-läsionierten (Läsion; A), scheinläsionierten (Sham; B) und Kontrollratte (Kontrolle; C). Dargestellt sind coronale Gehirnschnitte der Amygdala in der Ebene 2,8 mm posterior von Bregma (A₁/B₁/C₁). A₂₋₃/B₂₋₃/C₂₋₃ sind Vergrößerungen aus den jeweils in A₁/B₁/C₁ markierten Bereichen der basolateralen (BLA; A₂/B₂/C₂) und lateralen Amygdala (LA; A₃/B₃/C₃). Beim Vergleichen der Aufnahmen zeigte sich in der BLA, nicht jedoch in der LA eine reduzierte Dichte der PVR-Interneurone bei Ibotenat-läsionierten Ratten im Vergleich zu Kontrollratten.
Kalibrierbalken: A₁/B₁/C₁: 400 µm; A₂₋₃/B₂₋₃/C₂₋₃: 25 µm

3.2 Lernverhalten im 8-Arm Radial Maze

3.2.1 Belohnte Alternation

Während der belohnten Alternation ohne zeitliche Verzögerung, die bei den Tieren der VG I durchgeführt wurde, traten bei keinem der aufgezeichneten Parameter signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen auf. Nach Einfügen einer Verzögerung von 30 sec zwischen den Armeintritten war die Leistung bei läsierten Ratten im Vergleich zu Kontrollratten jedoch reduziert.

Die Auswertung der Daten der belohnten Alternation ohne Verzögerung mittels one-way ANOVA ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen läsierten, Sham und Kontrollratten hinsichtlich der Anzahl der Tage bis zum Erreichen des Lernkriteriums sowie der Zeit, die für die Lösung der Aufgabe benötigt wurde (Tab.9). Die Anzahl der Gesamtfehler, WME und PE an den zehn Versuchstagen insgesamt war ebenfalls bei allen Gruppen ähnlich (alle Parameter: $F < 1,404$, $p > 0,267$; Abb.36). Nach dem Einfügen einer zeitlichen Verzögerung von 30 sec zwischen den einzelnen Armeintritten erhöhte sich die Zeit, die zur Lösung der Aufgabe benötigt wurde, bei den läsierten Ratten im Vergleich zu Kontrollratten ($F_{2,24} = 5,172$, $p = 0,014$; one-way ANOVA, post-hoc Tukey t -Test $p < 0,05$; Tab.9). Zusätzlich zeigten läsierte Ratten signifikant mehr Gesamtfehler an den zehn Versuchstagen als Kontrollen ($F_{2,24} = 4,098$; $p = 0,031$; one-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test $p < 0,05$). Da sich die Anzahl der WME zwischen den Gruppen nicht signifikant unterschied ($F_{2,24} = 2,487$, $p = 0,106$), war dieser Anstieg hauptsächlich auf eine Erhöhung der PE zurückzuführen ($F_{2,24} = 6,077$; $p = 0,008$; one-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test $p < 0,05$; Abb.36). Es traten jedoch auch nach Einfügen einer Verzögerung keine signifikanten Unterschiede zwischen den Läsiierungsgruppen hinsichtlich der Anzahl der Tage, die benötigt wurde, um das Lernkriterium zu erreichen auf ($F_{2,24} = 1,793$, $p = 0,190$; one-way ANOVA; Tab.9). Bei keinem Parameter konnten signifikante Unterschiede zwischen Sham und Kontrollratten sowie zwischen läsierten und Sham Ratten beobachtet werden ($p > 0,05$).

Tab.9: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf das räumliche Lernen im 8-Arm Radial Maze während einer belohnten Alternationsaufgabe mit und ohne zeitlicher Verzögerung

Parameter	Verzögerung: 0 sec			Verzögerung: 30 sec		
	Läsion n=9	Sham n=8	Kontrolle n=8	Läsion n=9	Sham n=8	Kontrolle n=8
Kriterium [Tage]	5,22±0,40	6,50±1,30	4,63±0,42	7,33±1,47	6,13±0,58	4,63±0,53
Zeit [min]	15,98±2,34	17,68±7,43	13,98±2,37	61,61±9,04*	59,21±7,11	50,55±5,13

Daten sind Mittelwerte ± S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion), scheinläsionierten (Sham) und Kontrollratten (Kontrolle) der jeweils angegebenen Tierzahl. Dargestellt ist die Anzahl der Tage bis zum Erreichen des Lernkriteriums sowie die Zeit, die insgesamt zur Lösung der Aufgabe benötigt wurde. Signifikante Unterschiede zwischen Ibotenat-läsionierten und Kontrollratten sind durch Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$; one-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test).

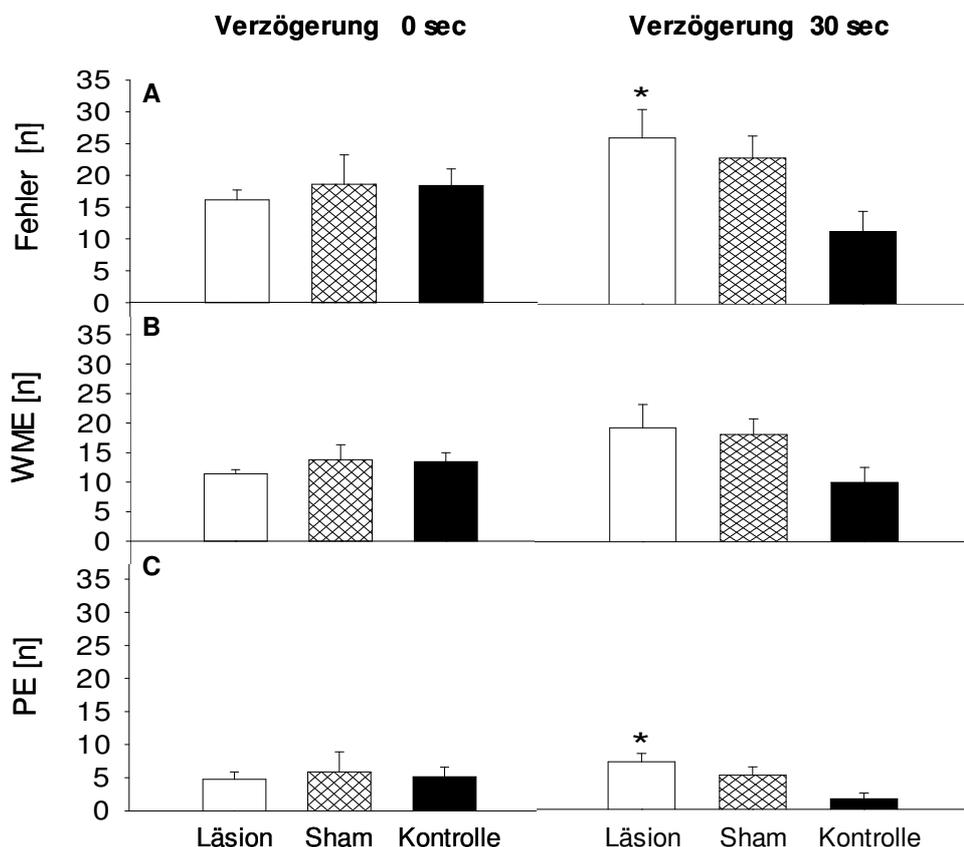


Abb.36: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf das räumliche Lernen im 8-Arm Radial Maze während einer belohnten Alternationsaufgabe mit und ohne zeitlicher Verzögerung. Daten sind Mittelwerte + S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion; n=9; weiße Balken), scheinläsionierten (Sham; n=8; karierte Balken) und Kontrollratten (Kontrolle; n=8; schwarze Balken). Dargestellt ist die Anzahl der Gesamtfehler (Fehler; A), Arbeitsgedächtnisfehler (WME; B) und Perseverationsfehler (PE; C). Signifikante Unterschiede zwischen Ibotenat-läsionierten und Kontrollratten sind durch Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$; one-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test).

Für die Auswertung der prozentualen Häufigkeit der gelaufenen Winkel zwischen den Armbesuchen wurden die Werte der 90°, 135° und 180° Winkel zusammengefasst und mit denen der 45°-Winkel verglichen, um die Explorationsstrategie zu erfassen (egozentrisch [45°-Winkel] versus allozentrisch [andere Winkel]). Alle Ratten bevorzugten unabhängig von der Verzögerung jeweils den benachbarten Arm, also 45°-Winkel.

Eine two-way ANOVA ergab einen signifikanten Effekt für den Faktor Winkel (ohne Verzögerung: $F_{1,49}=724,122$, $p<0,001$; mit Verzögerung: $F_{1,49}=315,657$, $p<0,001$), nicht jedoch für den Faktor Läsion (ohne Verzögerung: $F_{2,49}=0,396$, $p=0,678$; mit Verzögerung: $F_{2,49}=0,384$, $p=0,685$) oder die Interaktion zwischen diesen beiden Faktoren (ohne Verzögerung: $F_{2,49}=0,331$, $p=0,727$; mit Verzögerung: $F_{2,49}=1,314$, $p=0,289$). Eine post hoc Analyse zeigte, dass sowohl bei läsionierten als auch bei Sham und Kontrollratten bevorzugt 45° Winkel auftraten ($p<0,05$; Abb.37A).

Zusätzlich wurden bei allen Gruppen alle Arme des Maze mit gleicher Häufigkeit aufgesucht, so dass keine Bevorzugung einzelner Arme zu beobachten war. Die Auswertung mit einer two-way ANOVA ergab weder einen signifikanten Unterschied für die Faktoren Arme (ohne Verzögerung: $F_{7,199}=1,446$, $p=0,191$; mit Verzögerung: $F_{7,199}=1,497$, $p=0,172$) und Läsion (ohne Verzögerung: $F_{2,199}=0,110$, $p=0,896$; mit Verzögerung: $F_{2,199}=0,089$, $p=0,916$) noch für die Interaktion zwischen diesen Faktoren (ohne Verzögerung: $F_{14,199}=1,067$, $p=0,392$; mit Verzögerung: $F_{14,199}=0,764$, $p=0,707$; Abb.37B).

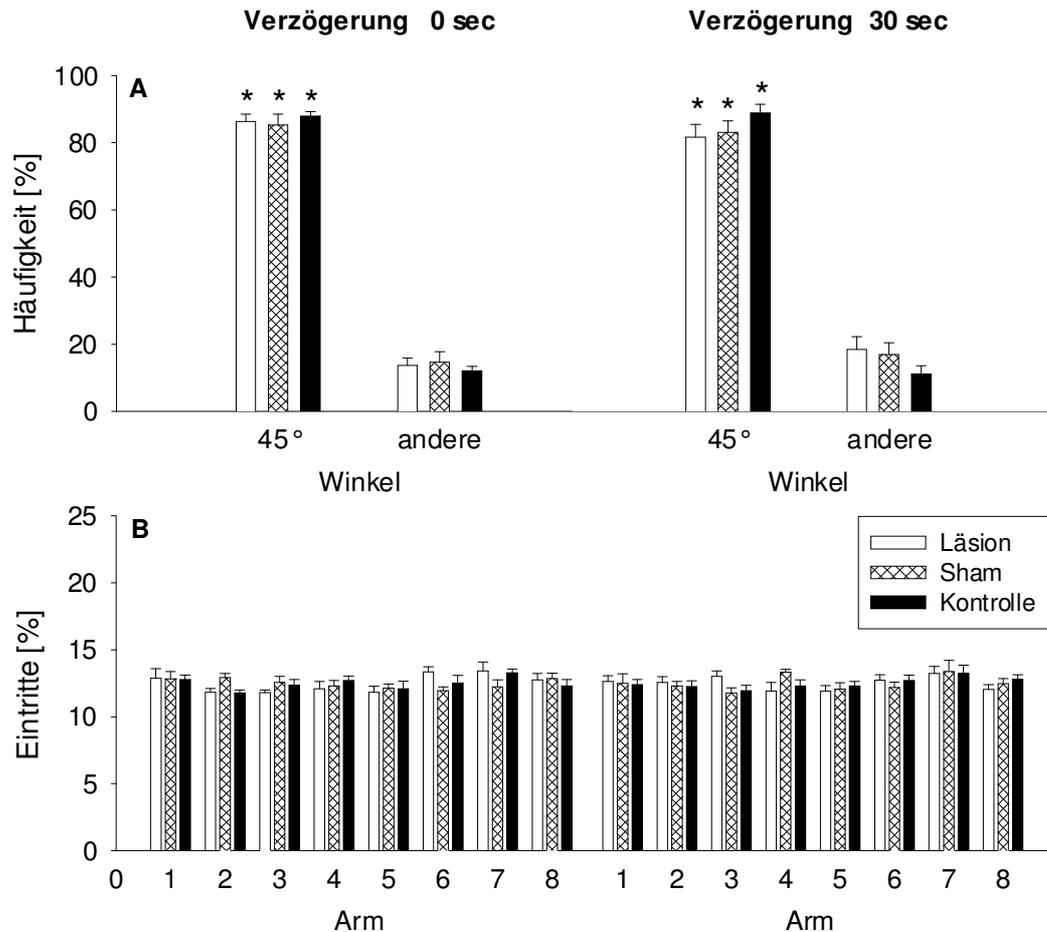


Abb.37: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf die angewendete Strategie im 8-Arm Radial Maze während einer belohnten Alternationsaufgabe mit und ohne zeitlicher Verzögerung. Daten sind Mittelwerte + S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion, n=9, weiße Balken), scheinläsionierten (Sham, n=8, karierte Balken) und Kontrollratten (Kontrolle, n=8, schwarze Balken). Dargestellt ist die prozentuale Häufigkeit gelaufener Winkel zwischen den Armbesuchen (A) sowie die prozentuale Häufigkeit der Eintritte in die einzelnen Arme des 8-Arm Radial-Maze (B). Signifikante Unterschiede zwischen den Winkeln sind durch Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$; two-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test).

3.2.2 Egozentrisches Lernen

Während der egozentrischen Lernaufgabe, die mit den Tieren der VG II durchgeführt wurde, war bei läsionierten Ratten im Vergleich zu Sham und Kontrollratten die WM-, nicht aber die RM-Leistung reduziert. Eine one-way ANOVA ergab einen signifikanten Läsionseffekt hinsichtlich der Anzahl der WRME ($F_{2,25}=6,569$, $p=0,006$), WPE ($F_{2,25}=5,530$, $p=0,011$) und WRME+WPE ($F_{2,25}=7,377$, $p=0,003$) sowie der Zeit, die zur Lösung der Aufgabe benötigt wurde ($F_{2,25}=4,477$, $p=0,023$). Eine post hoc Analyse zeigte, dass läsionierte Tiere signifikant mehr WRME, WPE und

WRME+WPE machten als Sham und Kontrollratten ($p < 0,05$; Abb.38). Zusätzlich benötigten läsionierte Ratten dafür signifikant mehr Zeit als Kontrollratten ($p < 0,05$) und tendenziell mehr Zeit als Sham Ratten ($p = 0,08$; Tab.10). Neonatale Läsionen hatten jedoch keinen Einfluss auf die Anzahl der Tage bis zum Erreichen des Kriteriums sowie auf die Anzahl der RME, PE und PE+WPE (alle Parameter: $F < 1,342$, $p > 0,281$; one-way ANOVA; Abb.38/Tab.10).

Tab.10: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf das Erlernen einer egozentrischen Strategie im 8-Arm Radial Maze

Parameter	Läsion n=9	Sham n=8	Kontrolle n=9
Kriterium [Tage]	12,67±2,10	11,88±1,25	9,22±1,14
Zeit [min]	200,49±5,94*	182,34±6,33	178,81±4,41

Daten sind Mittelwerte \pm S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion), scheinläsionierten (Sham) und Kontrollratten (Kontrolle) der jeweils angegebenen Tierzahl. Dargestellt ist die Anzahl der Tage bis zum Erreichen des Lernkriteriums sowie die Zeit, die insgesamt zur Lösung der Aufgabe benötigt wurde. Signifikante Unterschiede zwischen Ibotenat-läsionierten und Kontrollratten sind durch Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$; one-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test).

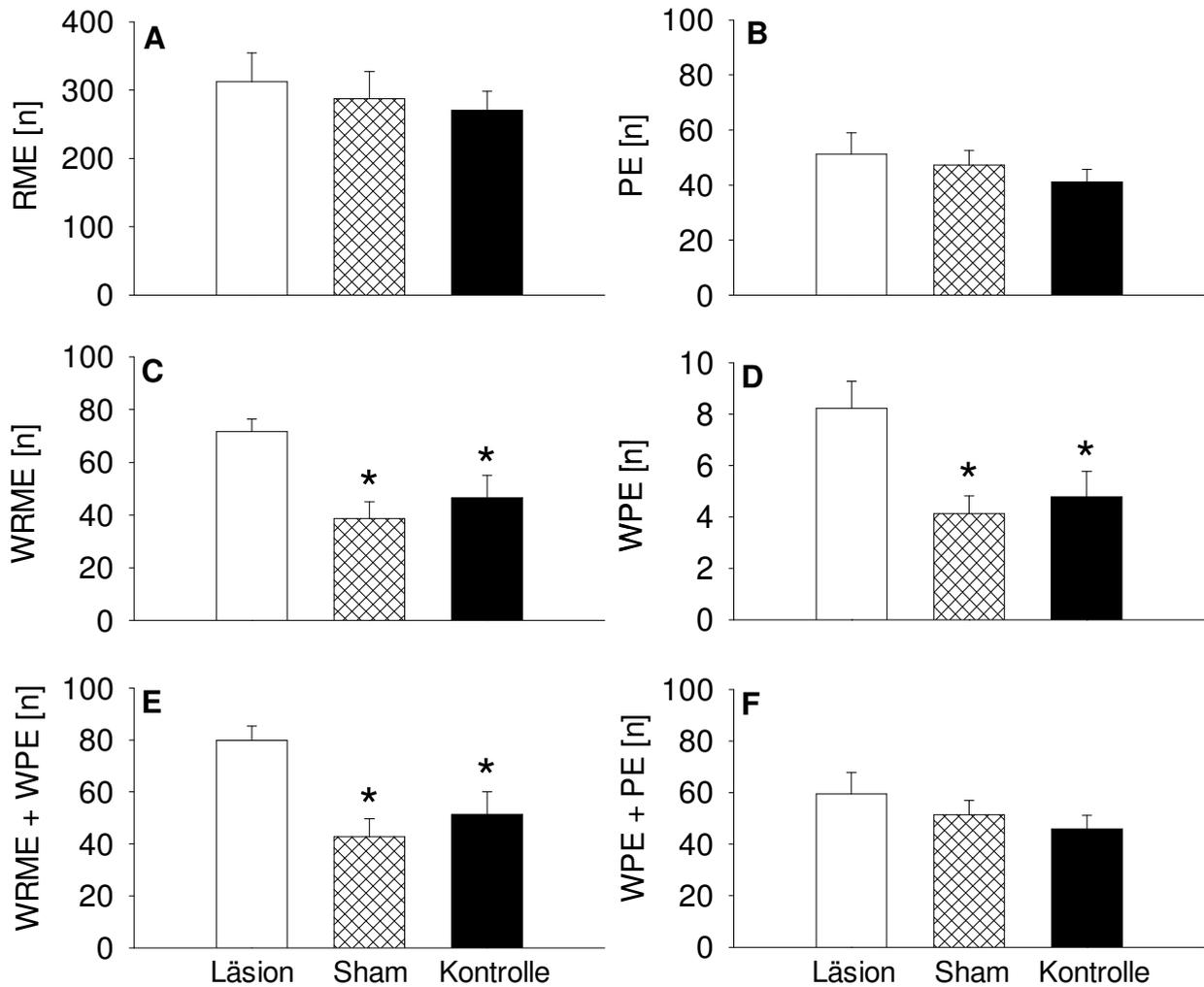


Abb.38: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf das Erlernen einer egozentrischen Strategie im 8-Arm Radial Maze. Daten sind Mittelwerte + S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion, n=9, weiße Balken), scheinläsionierten (Sham, n=8, karierte Balken) und Kontrollratten (Kontrolle, n=9, schwarze Balken). Dargestellt ist die Anzahl der Langzeitgedächtnisfehler (RME; A), Perseverationsfehler (PE; B), wiederholten Langzeitgedächtnis- (WRME; C) und Perseverationsfehler (WPE; D), sowie der Summe aus WRME und WPE (E) und aus WPE und PE (F). Signifikante Unterschiede zu Ibotenat-läsionierten Ratten sind durch Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$, one-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test).

3.2.3 Allozentrisches Lernen

Bei der allozentrischen Orientierung, die mit den Tieren der VG III durchgeführt wurde, hatten neonatale Läsionen des EC ebenfalls einen Einfluss auf die WM-Leistung während das RM nicht betroffen war. Eine one-way ANOVA ergab einen Läsionseffekt hinsichtlich der Anzahl der WRME ($F_{2,28}=5,456$, $p=0,011$), WPE ($F_{2,28}=3,712$, $p=0,038$) und WRME+WPE ($F_{2,28}=5,549$, $p=0,010$) sowie der Zeit, die zur Lösung der Aufgabe benötigt wurde ($F_{2,28}=6,936$, $p=0,004$). Eine post hoc Analyse zeigte, dass läsionierte Tiere signifikant mehr WPE als Kontrollratten und signifikant mehr WRME und WRME+WPE als Sham und Kontrollratten machten ($p<0,05$; Abb.39). Zusätzlich benötigten läsionierte Ratten zur Lösung der Aufgabe signifikant mehr Zeit als Sham und Kontrollratten ($p<0,05$; Tab.11). Neonatale Läsionen hatten jedoch keinen Einfluss auf die Anzahl der Tage bis zum Erreichen des Kriteriums sowie die Anzahl der RME, PE und PE+WPE (alle Parameter: $F<2,159$, $p>0,136$; one-way ANOVA; Tab.11/Abb.39).

Tab.11: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf das Erlernen einer allozentrischen Strategie im 8-Arm Radial Maze

Parameter	Läsion n=10	Sham n=10	Kontrolle n=9
Kriterium [Tage]	15,60±1,98	14,20±1,97	16,33±1,51
Zeit [min]	193,52±7,33	175,30±4,06*	166,23±2,96*

Daten sind Mittelwerte ± S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion), scheinläsionierten (Sham) und Kontrollratten (Kontrolle) der jeweils angegebenen Tierzahl. Dargestellt ist die Anzahl der Tage bis zum Erreichen des Lernkriteriums sowie die Zeit, die insgesamt zur Lösung der Aufgabe benötigt wurde. Signifikante Unterschiede zu Ibotenat-läsionierten Ratten sind durch Sterne gekennzeichnet (* $p<0,05$; one-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test).

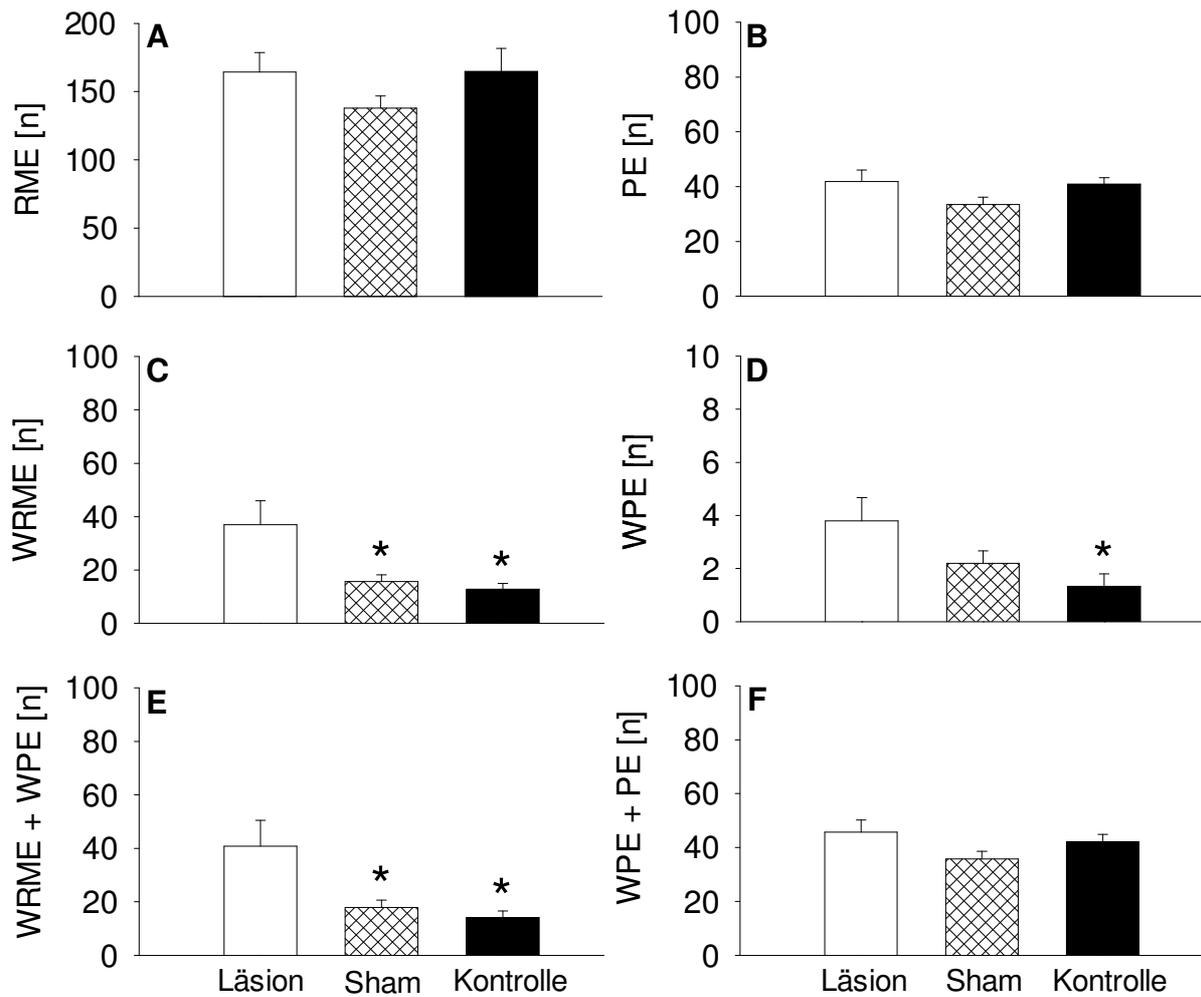


Abb.39: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf das Erlernen einer allozentrischen Strategie im 8-Arm Radial Maze. Daten sind Mittelwerte + S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion, n=10, weiße Balken), scheinläsionierten (Sham, n=10, karierte Balken) und Kontrollratten (Kontrolle, n=9, schwarze Balken). Dargestellt ist die Anzahl der Langzeitgedächtnisfehler (RME; A), Perseverationsfehler (PE; B), wiederholten Langzeitgedächtnis- (WRME; C) und Perseverationsfehler (WPE; D), sowie der Summe aus WRME und WPE (E) und aus WPE und PE (F). Signifikante Unterschiede zu Ibotenat-läsionierten Ratten sind durch Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$, one-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test).

3.3 Motivation in einem *progressive ratio* Test der operanten Konditionierung

3.3.1 *Progressive ratio* Test

Der PR Test wurde mit den VG I – III durchgeführt. Zunächst erfolgte die Auswertung für die einzelnen VG. Da bei allen VG ähnliche Behandlungseffekte auftraten, wurden die Daten anschließend zusammengefasst.

Während des Trainings waren alle Ratten gleichermaßen in der Lage das Hebeldrücken zu erlernen. Ein Vergleich der Anzahl der Hebeldrücke am letzten Trainingstag ergab weder bei VG I, II und III noch nach Zusammenfassen der drei VG einen signifikanten Unterschied zwischen läsionierten, Sham und Kontrollratten (alle VG: $F < 2,338$, $p > 0,115$; one-way ANOVA; Tab.12).

Tab.12: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf die Anzahl der Hebeldrücke am letzten Trainingstag einer operanten Konditionierung

	Versuchsgruppe I			Versuchsgruppe II			Versuchsgruppe III			Versuchsgruppen I – III		
	Läsion n=9	Sham n=8	Kontr n=8	Läsion n=9	Sham n=8	Kontr n=9	Läsion n=10	Sham n=10	Kontr n=9	Läsion n=28	Sham n=26	Kontr n=26
Hebel- drücke	293,7 ±12,9	327,4 ±17,1	338,4 ±16,1	352,0 ±24,7	354,6 ±19,6	356,7 ±26,8	346,9 ±27,2	370,1 ±26,8	347,9 ±20,0	331,4 ±13,7	352,2 ±13,0	348,0 ±12,2

Daten sind Mittelwerte \pm S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion), scheinläsionierten (Sham) und Kontrollratten (Kontr) der jeweils angegebenen Tierzahl. Dargestellt sind die Daten der Versuchsgruppen I, II und III sowie die zusammengefassten Daten der Versuchsgruppen I – III. Es traten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Läsionsgruppen auf.

Während des PR Tests wiesen die läsierten Ratten eine deutlich schlechtere Leistung als die Sham und Kontrollratten auf. Dies war durch eine Reduktion des *breakpoint* sowie der kumulativen Hebeldruckrate charakterisiert. Eine one-way ANOVA ergab hinsichtlich des *breakpoint* bei allen VG einen signifikanten Unterschied zwischen den Läsionsgruppen (VG I: $F_{2,24}=6,829$, $p=0,005$; VG II: $F_{2,25}=10,969$, $p<0,001$; VG III: $F_{2,28}=4,673$, $p=0,018$; VG I – III: $F_{2,79}=21,511$, $p<0,001$). Ein post hoc Test zeigte, dass bei allen VG eine signifikante Reduktion des *breakpoint* bei läsierten Ratten im Vergleich Kontrollratten auftrat ($p<0,05$). Bei den VG II und III sowie bei den zusammengefassten Daten der VG I – III trat zusätzlich eine signifikante Reduktion gegenüber Sham Ratten auf ($p<0,05$), während sich bei der VG I lediglich eine Tendenz zu einer Reduktion zeigte ($p=0,067$; Abb.40).

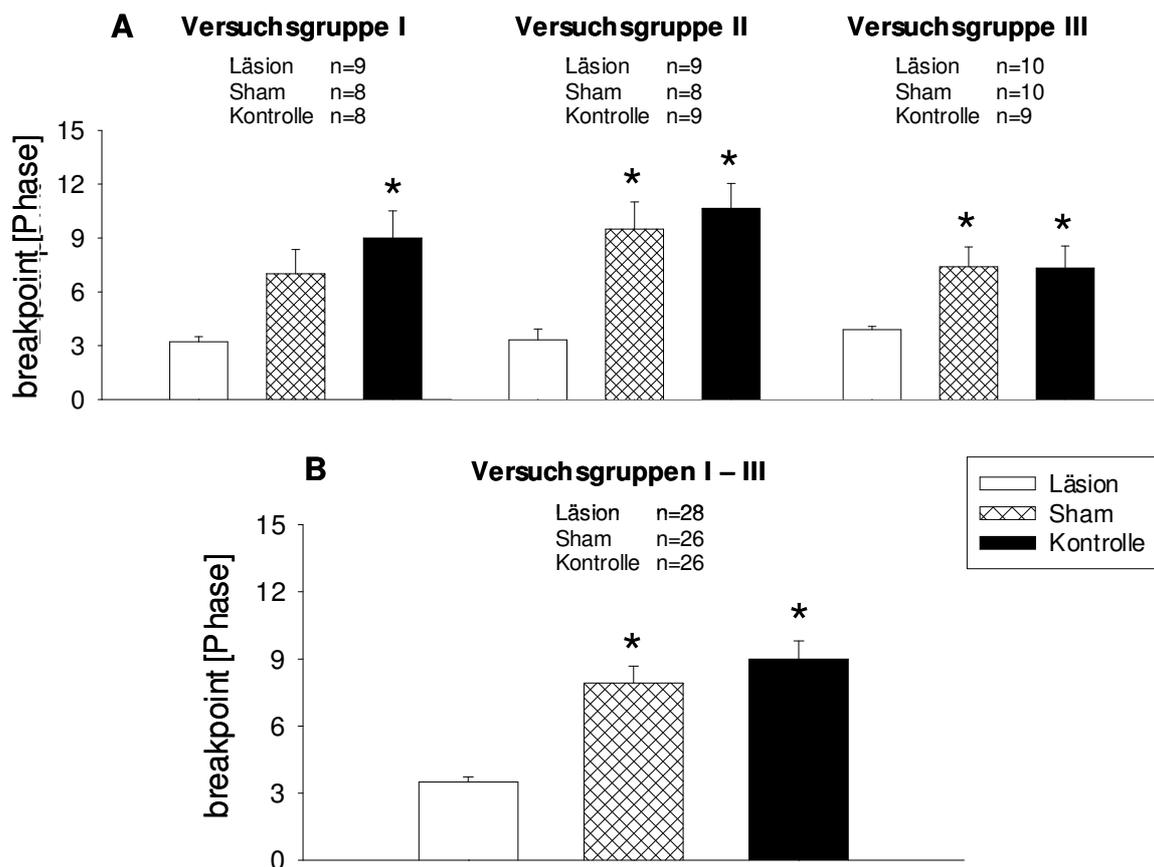


Abb.40: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf den *breakpoint* in einem *progressive ratio* Test. Alle Daten sind Mittelwerte + S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion; weiße Balken), scheinläsionierten (Sham; karierte Balken) und Kontrollratten (Kontrolle; schwarze Balken) der jeweils angegebenen Tierzahl. Teilabbildung A zeigt Daten der Versuchsgruppen I, II und III, Teilabbildung B zeigt die zusammengefassten Daten der Versuchsgruppen I – III. Signifikante Unterschiede zu Ibotenat-läsionierten Ratten sind durch Sterne gekennzeichnet (* $p<0,05$; one-way ANOVA, post hoc Tukey *t*-Test).

Desweiteren trat bei allen VG in Abhängigkeit von der jeweiligen Phase des Tests ein signifikanter Unterschied zwischen den Läsionsgruppen hinsichtlich der kumulativen Hebeldruckrate auf. Eine two-way ANOVA ergab einen signifikanten Effekt für die Faktoren Läsion (VG I: $F_{2,374}=7,999$; $p=0,002$; VG II: $F_{2,389}=4,502$, $p=0,022$; VG III: $F_{2,434}=4,630$, $p=0,009$; VG I – III: $F_{2,1199}=16,793$, $p<0,001$), und Phase (VG I: $F_{14,374}=97,809$; $p<0,001$; VG II: $F_{14,389}=63,601$, $p<0,001$; VG III: $F_{14,434}=110,707$, $p<0,001$; VG I – III: $F_{14,1199}=254,928$, $p<0,001$) sowie für die Interaktion zwischen diesen Faktoren (VG I: $F_{28,374}=6,712$; $p<0,001$; VG II: $F_{28,389}=3,739$, $p<0,001$; VG III: $F_{28,434}=2,874$, $p<0,001$; VG I – III: $F_{28,1199}=11,588$, $p<0,001$). Eine post hoc Analyse ergab bei läsierten Ratten der VG I eine signifikante Reduktion der kumulativen Hebeldruckrate gegenüber Kontrollratten ab Phase sechs des Tests und zusätzlich gegenüber Sham Ratten ab Phase acht. Bei der VG II trat eine Reduktion im Vergleich zu Kontrollratten ab Phase neun und im Vergleich zu Sham Ratten ab Phase 13 auf. Läsierte Ratten der VG III zeigten ab Phase sieben signifikant weniger Hebeldrücke als Kontrollratten und ab Phase 12 weniger als Sham Ratten. Nach Zusammenfassen der VG traten signifikante Unterschiede zwischen läsierten und Kontrollratten ab Phase fünf und zwischen läsierten und Sham Ratten ab Phase sechs auf. Zusätzlich war die kumulative Hebeldruckrate bei Sham Ratten im Vergleich zu Kontrollen in Phase 12, 13 und 15 reduziert ($p<0,05$; Abb.41).

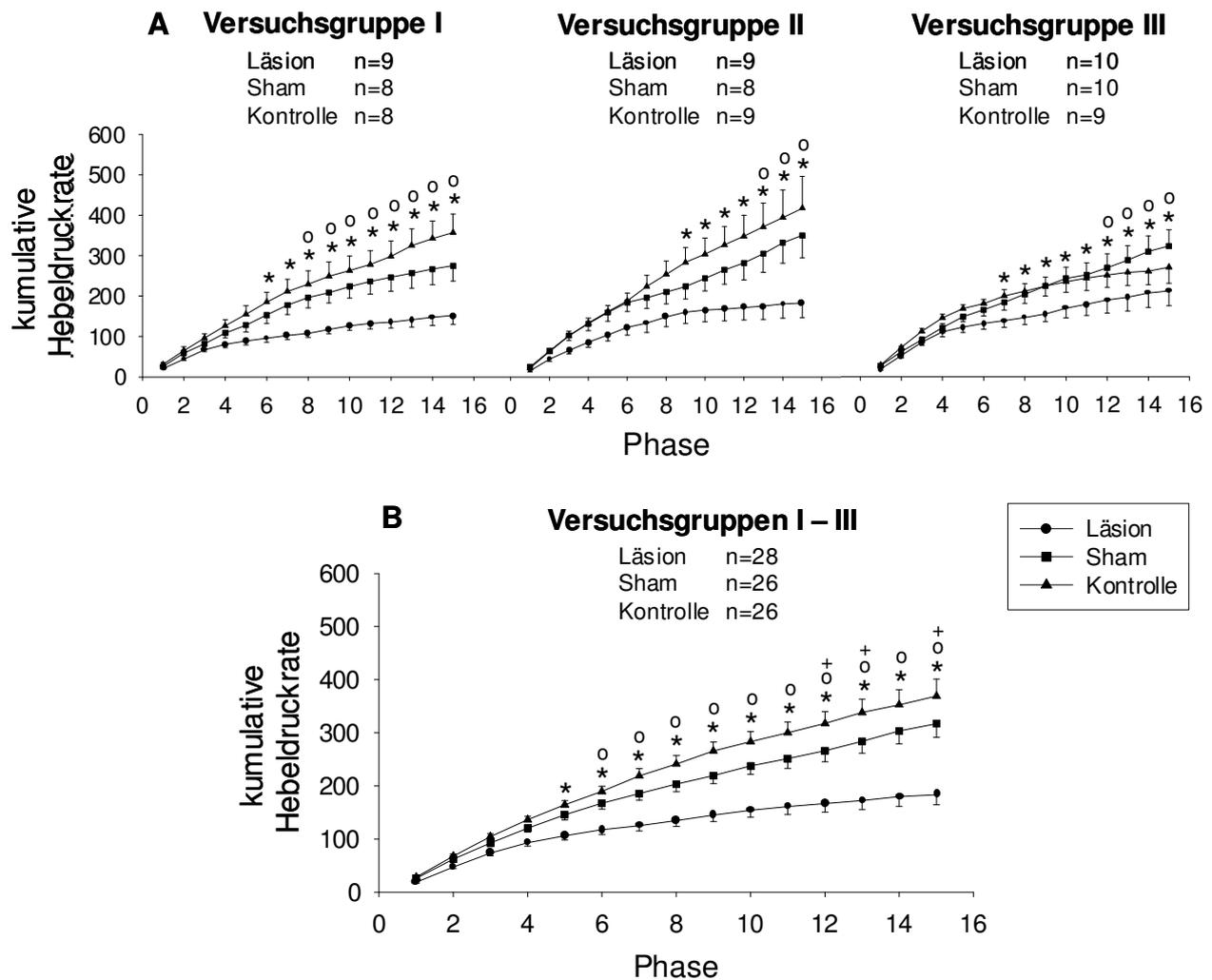


Abb.41: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf die kumulative Hebeldruckrate in einem *progressive ratio* Test. Daten sind Mittelwerte \pm S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion; Kreise), scheinläsionierten (Sham; Quadrate) und Kontrollratten (Kontrolle; Dreiecke) der jeweils angegebenen Tierzahl. Teilabbildung A zeigt Daten der Versuchsgruppen I, II und III, Teilabbildung B zeigt die zusammengefasste Daten der Versuchsgruppen I – III. Signifikante Unterschiede zwischen Ibotenat-läsionierten und Kontrollratten sind durch Sterne gekennzeichnet (*), Unterschiede zwischen Ibotenat-läsionierten und scheinläsionierten Ratten durch Kreise (°) und Unterschiede zwischen scheinläsionierten und Kontrollratten durch Kreuze (+) ($p < 0,05$; two-way ANOVA, post hoc Tukey *t*-Test).

3.3.2 Futter-Präferenz Test

Nach Abschluss des PR Tests wurde die Futter-Präferenz aller Tiere bestimmt. Neonatale Läsionen des EC hatten keinen Einfluss auf die Futter-Präferenz. Alle Tiere bevorzugten die Caseinpellets. Eine two-way ANOVA ergab einen signifikanten Effekt für den Faktor Futter (VG I: $F_{1,49}=71,579$, $p < 0,001$; VG II: $F_{1,51}=95,981$, $p < 0,001$; VG III: $F_{1,57}=199,151$, $p < 0,001$; VG I – III: $F_{1,159}=330,603$, $p < 0,001$), jedoch

nicht für den Faktor Läsion (alle VG: $F < 0,729$, $p > 0,492$) oder die Interaktion zwischen diesen Faktoren (alle VG: $F < 0,920$, $p > 0,403$). Eine post hoc Analyse zeigte, dass der Caseinpelletkonsum im Vergleich zum Laborfutterkonsum erhöht war ($p < 0,05$; Abb.42). Hinsichtlich des Gesamtfutterkonsums gab es ebenfalls bei keiner VG Unterschiede zwischen läsierten, Sham und Kontrollratten (alle VG: $F < 0,709$, $p > 0,501$; one-way ANOVA; Abb.42).

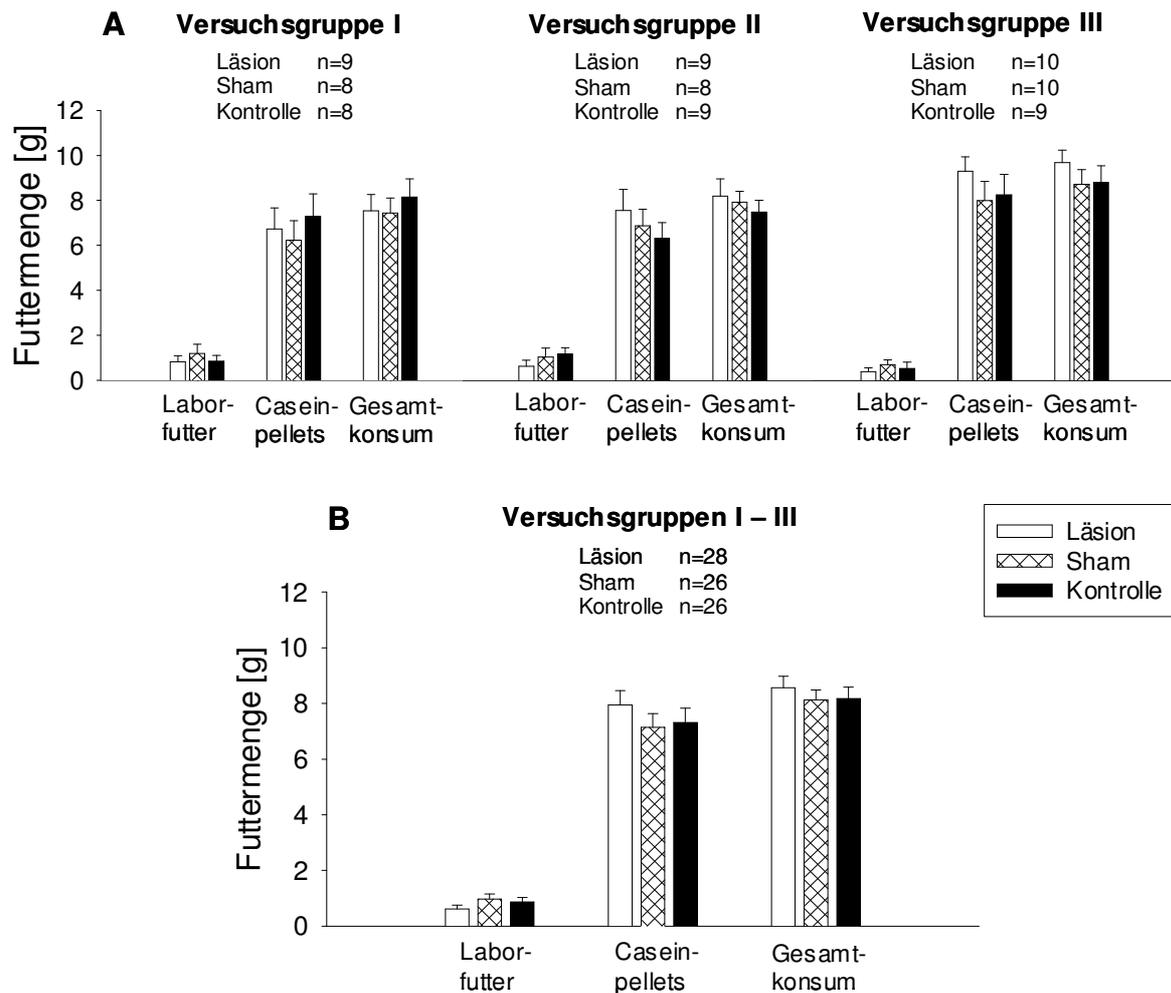


Abb.42: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf die Futter-Präferenz. Alle Daten sind Mittelwerte + S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion; weiße Balken), scheinläsionierten (Sham; karierte Balken) und Kontrollratten (Kontrolle; schwarze Balken) der jeweils angegebenen Tierzahl. Teilabbildung A zeigt Daten der Versuchsgruppen I, II und III, Teilabbildung B zeigt die zusammengefassten Daten der Versuchsgruppen I – III. Neonatale Läsionen hatten keinen Einfluss auf die Futter-Präferenz und den Gesamtfutterkonsum.

3.4 Lokomotorische Aktivität in der Aktivitätsbox

3.4.1 Lokomotorische Aktivität in verschiedenen Entwicklungsstadien

Die lokomotorische Aktivität wurde bei den VG I – III gemessen. Zunächst erfolgte die Auswertung für die einzelnen VG. Da bei allen VG ähnliche Behandlungseffekte auftraten, wurden anschließend die Daten zusammengefasst.

Neonatale Ibotenat-induzierte Läsionen hatten bei keiner VG einen Einfluss auf die lokomotorische Aktivität. Weder an PND 35, noch an PND 56 oder bei adulten Ratten zeigte sich ein Unterschied zwischen läsierten, Sham und Kontrollratten. Die Lokomotion stieg jedoch bei allen Ratten mit zunehmendem Alter an. Eine two-way ANOVA ergab einen signifikanten Unterschied für den Faktor Alter hinsichtlich des zurückgelegten Weges, der Aktivität und der Häufigkeit des Aufrichtens (VG I_{Weg}: $F_{2,74}=27,208$, $p<0,001$; VG II_{Weg}: $F_{2,77}=7,309$, $p=0,002$; VG III_{Weg}: $F_{2,86}=18,456$, $p<0,001$; VG I – III_{Weg}: $F_{2,239}=47,003$, $p<0,001$; VG I_{Aktivität}: $F_{2,74}=25,554$, $p<0,001$; VG II_{Aktivität}: $F_{2,77}=3,573$, $p=0,036$; VG III_{Aktivität}: $F_{2,86}=15,933$, $p<0,001$; VG I – III_{Aktivität}: $F_{2,239}=26,656$, $p<0,001$; VG I_{Aufrichten}: $F_{2,74}=10,889$, $p<0,001$; VG II_{Aufrichten}: $F_{2,77}=3,920$, $p=0,027$; VG III_{Aufrichten}: $F_{2,86}=10,625$, $p<0,001$; VG I – III_{Aufrichten}: $F_{2,239}=12,216$, $p<0,001$). Die Zeit, die in der Mitte der Aktivitätsbox verbracht wurde, war in den verschiedenen Entwicklungsstadien bei VG I, III und VG I – III signifikant unterschiedlich (VG I: $F_{2,74}=5,876$, $p=0,005$; VG III: $F_{2,86}=4,553$, $p=0,015$; VG I – III: $F_{2,239}=6,313$, $p=0,002$), nicht jedoch bei VG II ($F_{2,77}=2,013$, $p=0,145$). Bei keinem der Parameter ergab die two-way ANOVA einen signifikanten Effekt für den Faktor Läsion (alle VG und Parameter: $F<3,066$, $p>0,052$) und die Interaktion zwischen den Faktoren Alter und Läsion (alle VG und Parameter: $F<1,937$, $p>0,107$). Lediglich bei Adulten war die Zeit, die in der Mitte der Aktivitätsbox verbracht wurde, bei läsierten Ratten im Vergleich zu Sham und Kontrollratten tendenziell erhöht ($p=0,052$). Eine post hoc Analyse zeigte einen Anstieg der lokomotorischen Aktivität bei adulten Ratten im Vergleich zu präpubertären und jung-adulten Ratten ($p<0,05$; Abb.43/Tab.13).

Tab.13: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf die lokomotorische Aktivität an postnatal Tag 35 (PND 35), postnatal Tag 56 (PND 56) und bei adulten Ratten

Parameter	Tag	Versuchsgruppe I			Versuchsgruppe II			Versuchsgruppe III		
		Läsion n=9	Sham n=8	Kontr n=8	Läsion n=9	Sham n=8	Kontr n=9	Läsion n=10	Sham n=10	Kontr n=9
A Weg [m]	PND35	65,04 ±6,35	80,83 ±14,40	92,43 ±16,27	107,49 ±7,58	120,04 ±12,65	93,03 ±12,52	98,43 ±5,79	90,46 ±10,41	103,87 ±13,73
	PND56	85,43 ±16,67	109,98 ±14,86	109,26 ±20,67	103,40 ±21,00	119,49 ±6,10	111,93 ±10,07	98,24 ±9,65	85,86 ±10,05	96,82 ±14,03
	Adult	179,07 ±27,36* ^o	187,23 ±10,87* ^o	165,05 ±17,31* ^o	159,14 ±9,53* ^o	127,83 ±4,73* ^o	140,16 ±11,26* ^o	142,46 ±14,01* ^o	141,11 ±12,24* ^o	137,54 ±14,72* ^o
B Aktivität [min]	PND35	4,07 ±0,35	5,07 ±0,82	5,64 ±0,84	7,15 ±0,44	7,58 ±0,85	6,24 ±0,74	6,59 ±0,53	5,95 ±0,73	6,57 ±0,69
	PND56	5,01 ±0,70	6,10 ±0,69	5,83 ±0,77	6,27 ±0,65	6,27 ±1,07	5,62 ±0,52	5,59 ±0,46 ⁺	4,68 ±0,57 ⁺	5,00 ±0,74 ⁺
	Adult	7,86 ±0,64* ^o	9,16 ±0,38* ^o	7,85 ±0,75* ^o	7,65 ±0,29	6,29 ±0,19	6,99 ±0,42	7,30 ±0,47*	7,23 ±0,49*	6,97 ±0,52*
C Aufrichten [n]	PND35	36,22 ±6,50	62,00 ±15,75	65,75 ±12,57	87,89 ±10,27	99,50 ±11,72	79,56 ±16,34	76,30 ±5,10	70,20 ±14,80	77,00 ±12,20
	PND56	63,11 ±18,38	74,00 ±12,29	78,38 ±19,27	64,22 ±11,63 ⁺	73,25 ±6,95 ⁺	51,22 ±8,23 ⁺	46,20 ±8,49 ⁺	35,90 ±6,60 ⁺	45,89 ±9,98 ⁺
	Adult	112,33 ±15,69 ^o	116,00 ±15,18 ^o	111,75 ±23,47 ^o	94,44 ±12,75	70,63 ±8,86	77,22 ±11,16	78,4 ±15,03*	65,80 ±9,26*	79,33 ±14,82*
D Zeit in der Mitte [sec]	PND35	20,89 ±5,45	17,00 ±5,70	15,75 ±4,77	29,11 ±4,82	28,50 ±9,49	34,67 ±12,82	33,60 ±7,20	30,30 ±7,73	46,44 ±16,44
	PND56	40,67 ±16,22	51,00 ±17,11	19,50 ±11,04	41,22 ±17,54	32,63 ±16,14	31,00 ±14,30	30,90 ±18,59	11,00 ±3,55	34,56 ±18,59
	Adult	121,56 ±67,38* ^o	73,75 ±20,19* ^o	50,88 ±10,68* ^o	144,67 ±74,42	27,63 ±3,89	47,22 ±12,86	75,9 ±31,18*	39,00 ±13,33*	42,78 ±9,67*

Daten sind Mittelwerte \pm S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion), scheinläsionierten (Sham) und Kontrollratten (Kontr) der jeweils angegebenen Tierzahl. Dargestellt ist die gelaufene Gesamtdistanz (Weg; A), die Aktivität (B), die Häufigkeit des Aufrichtens (C) sowie die Zeit, die in der Mitte der Aktivitätsbox verbracht wurde (D), der Versuchsgruppen I, II und III. Signifikante Unterschiede zwischen PND 35 und Adult sind durch Sterne gekennzeichnet (*), Unterschiede zwischen PND 56 und Adult durch Kreise (^o) und Unterschiede zwischen PND 35 und PND 56 durch Kreuze (⁺p<0,05 two-way ANOVA, post hoc Tukey t-Test).

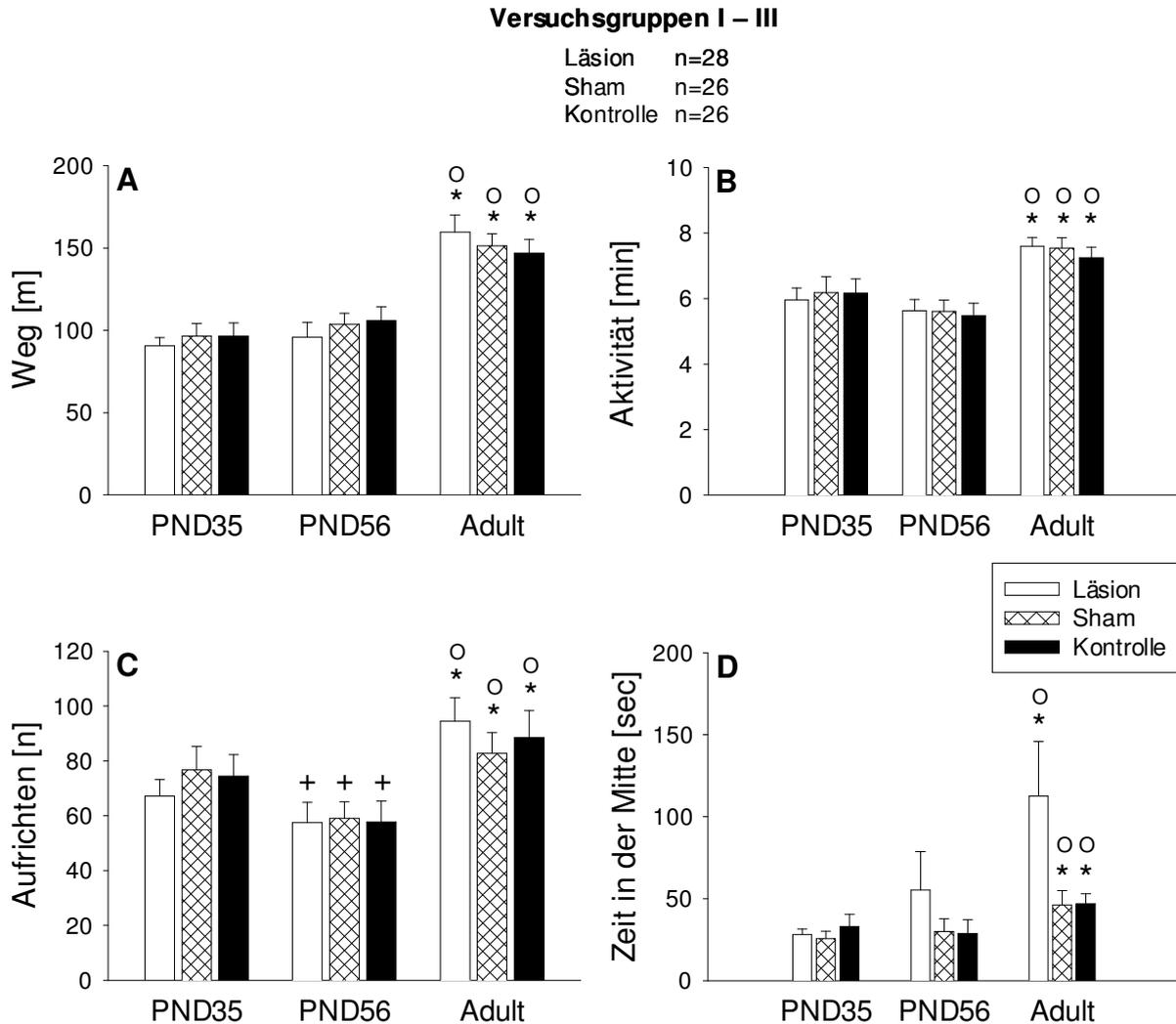


Abb.43: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf die lokomotorische Aktivität an postnatal Tag 35 (PND 35), postnatal Tag 56 (PND 56) und bei adulten Ratten. Daten sind Mittelwerte + S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion, weiße Balken), scheinläsionierten (Sham, karierte Balken) und Kontrollratten (Kontrolle, schwarze Balken) der jeweils angegebenen Tierzahl. Dargestellt ist die gelaufene Gesamtdistanz (Weg; A), die Aktivität (B), die Häufigkeit des Aufrichtens (C) sowie die Zeit, die in der Mitte der Aktivitätsbox verbracht wurde (D), der zusammengefassten Daten der Versuchsgruppen I – III. Signifikante Unterschiede zwischen PND 35 und Adult sind durch Sterne gekennzeichnet (*), Unterschiede zwischen PND 56 und Adult durch Kreise (°) und Unterschiede zwischen PND 35 und PND 56 durch Kreuze (+ $p < 0,05$; two-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test).

3.4.2 Lokomotorische Aktivität nach Apomorphin

Die lokomotorische Aktivität vor und nach akuter Gabe von APO wurde bei den Tieren der VG II gemessen. Während der Habituation sowie nach Vehikel-Injektion (Asc) traten bei keinem der aufgezeichneten Parameter signifikante Unterschiede zwischen läsierten, Sham und Kontrollratten auf. APO induzierte einen Anstieg der lokomotorischen Aktivität, der bei den läsierten Ratten besonders stark ausgeprägt war. Eine two-way ANOVA ergab bei allen Parametern einen signifikanten Effekt für den Faktor Behandlung (Habituation/Vehikel-Behandlung/APO-Behandlung; Weg: $F_{37,987}=42,152$, $p<0,001$; Aktivität: $F_{37,987}=64,488$, $p<0,001$; Aufrichten: $F_{37,987}=21,190$, $p<0,001$; Zeit: $F_{37,987}=16,267$, $p<0,001$). Die Auswertung der Gesamtdistanz und der Aktivität, nicht aber die der Häufigkeit des Aufrichtens und die der Zeit, die in der Mitte der Aktivitätsbox verbracht wurde, ergab zusätzlich eine signifikante Interaktion zwischen den Faktoren Behandlung und Läsion (Weg: $F_{74,987}=1,858$, $p<0,001$; Aktivität: $F_{74,987}=1,784$, $p<0,001$; Aufrichten: $F_{74,987}=0,908$, $p=0,695$; Zeit: $F_{74,987}=0,448$, $p=1,000$). Die ANOVA zeigte bei keinem der Parameter einen signifikanten Unterschied für den Faktor Läsion (alle Parameter: $F<1,796$, $p>0,188$). Ein folgender post hoc Test ergab, dass die gelaufene Gesamtdistanz, die Aktivität und die Zeit, die in der Mitte der Aktivitätsbox verbracht wurde, nach APO-Injektion im Vergleich zu Vehikel-Injektion und der Habituationsphase erhöht war ($p<0,05$). Im Gegensatz dazu reduzierte sich das zu Beginn der Habituation auftretende Aufrichtverhalten im Verlauf des Versuches kontinuierlich bei allen Gruppen und wurde auch durch APO nicht erneut gesteigert. Die gelaufenen Gesamtdistanz sowie die Aktivität war bei läsierten Ratten nach der Behandlung mit APO höher als bei Sham und Kontrollratten ($p<0,05$; Abb.44).

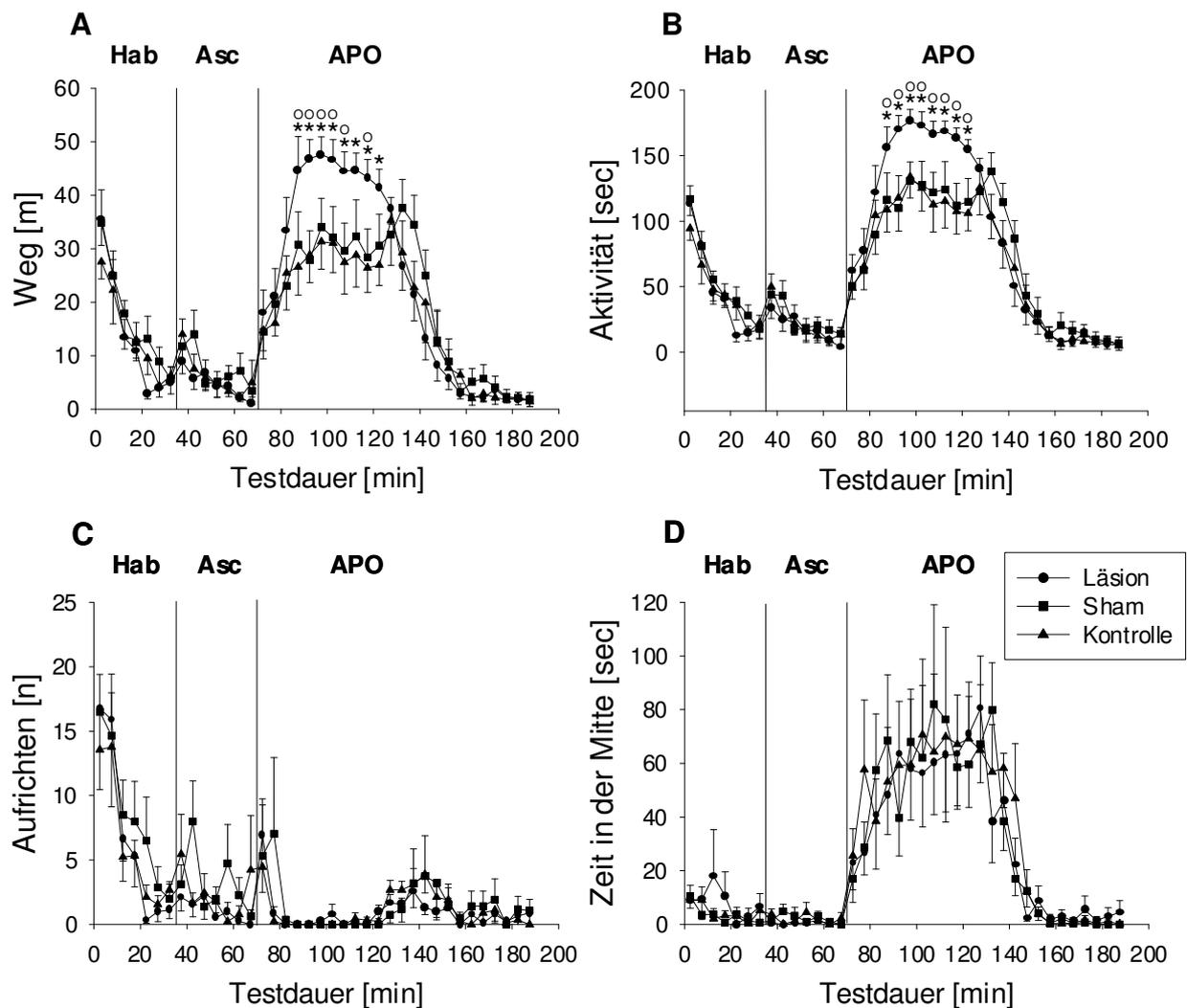


Abb.44: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf die lokomotorische Aktivität während der Habituation (Hab, keine Substanz), nach Vehikel-Injektion (Asc, 1 ml/kg) und nach Apomorphin Behandlung (APO, 0,5 mg/kg). Daten sind Mittelwerte \pm S.E.M von Ibotenat-läsionierten (Läsion, n=9, Kreise), scheinläsionierten (Sham, n=8, Quadrate) und Kontrollratten (Kontrolle, n=9, Dreiecke). Dargestellt ist die gelaufene Gesamtdistanz (Weg; A), die Aktivität (B), die Häufigkeit des Aufrichtens (C) sowie die Zeit, die in der Mitte der Aktivitätsbox verbracht wurde (D). Signifikante Unterschiede zwischen Ibotenat-läsionierten und Kontrollratten sind durch Sterne gekennzeichnet (*), Unterschiede zwischen Ibotenat-läsionierten und scheinläsionierten Ratten durch Kreise ($^{\circ}$ p<0,05; two-way ANOVA, post hoc Tukey *t*-Test).

3.5 Sensorimotorische Informationsverarbeitung

3.5.1 Präpulsinhibition der akustisch ausgelösten Schreckreaktion

Bei der Bestimmung der PPI wurden drei verschiedene Präpulsintensitäten eingesetzt (64, 68 und 72 dB). Da bei den unterschiedlichen Präpulsintensitäten keine Unterschiede zwischen VG I, II und III auftraten, wurden die Daten zusätzlich zu der Einzelauswertung zusammengefasst.

Neonatale Läsionen des EC hatten keinen Einfluss auf die PPI. Eine two-way ANOVA ergab bei keiner VG einen signifikanten Unterschied für den Faktor Läsion (alle VG: $F < 0,378$, $p > 0,690$) und die Interaktion zwischen den Faktoren Läsion und Präpuls (alle VG: $F < 0,408$, $p > 0,802$). Es ergab sich jedoch ein signifikanter Effekt für den Faktor Präpuls (VG I: $F_{2,74} = 25,157$, $p < 0,001$; VG II: $F_{2,77} = 7,146$, $p < 0,001$; VG III: $F_{2,86} = 6,395$, $p = 0,003$; VG I – III: $F_{2,239} = 29,406$, $p < 0,001$). Eine post hoc Test zeigte, dass die PPI bei allen VG bei einer Präpulsintensität von 72 dB höher war als bei einer Intensität von 64 dB ($p < 0,05$). Zusätzlich war die PPI bei VG I und VG I – III bei 72 dB höher als bei 68 dB und es kam bei VG I – III zu einem Anstieg der PPI bei 68 dB im Vergleich zu 64 dB ($p < 0,05$; Abb.27). Eine one-way ANOVA ergab auch nach Zusammenfassen der PPI-Werte, die bei den unterschiedlichen Präpulsintensitäten auftraten, keine signifikanten Unterschiede zwischen den Läsionsgruppen (alle VG: $F < 0,934$, $p > 0,610$; Abb.45).

Bei der Auswertung der ASR-Amplitude zeigte eine one-way ANOVA ebenfalls bei keiner VG einen signifikanten Unterschied zwischen läsierten, Sham und Kontrollratten (alle VG I: $F < 0,576$, $p > 0,573$; Tab.14).

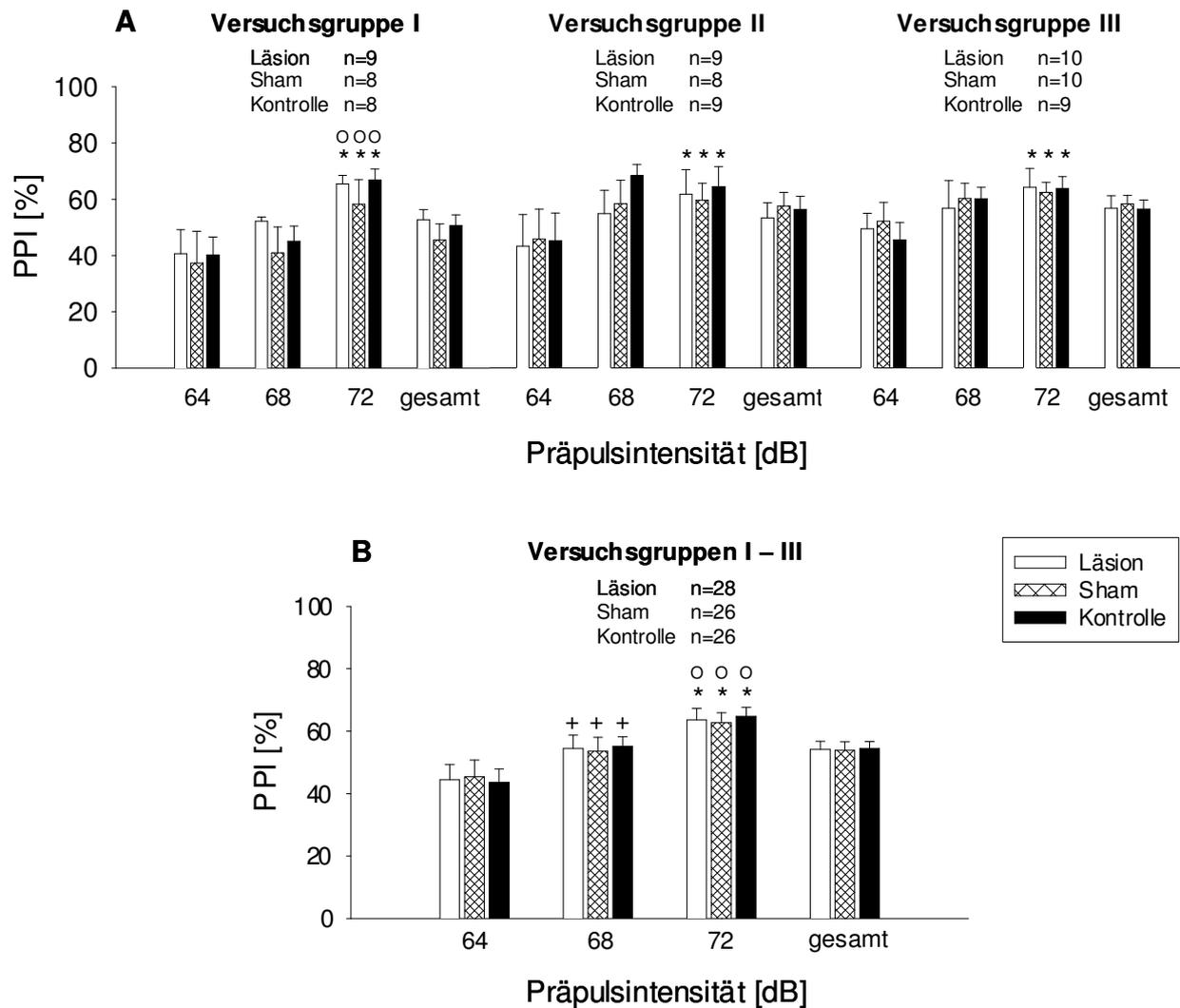


Abb.45: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf die Präpulsinhibition (PPI) der akustisch ausgelösten Schreckreaktion bei unterschiedlichen Präpulsintensitäten. Daten sind Mittelwerte + S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion, weiße Balken), scheinläsionierten (Sham, karierte Balken) und Kontrollratten (Kontrolle, schwarze Balken) der jeweils angegebenen Tierzahl der Versuchsgruppen I, II und III (A) sowie der Versuchsgruppen I – III (B). Signifikante Unterschiede zwischen 72 dB und 64 dB sind durch Sterne gekennzeichnet (*), Unterschiede zwischen 72 dB und 68 dB durch Kreise (°) und Unterschiede zwischen 68 dB und 64 dB durch Kreuze (+) (* p <0,05; two-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test).

Tab.14: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf die Amplitude der akustisch ausgelöste Schreckreaktion (ASR)

	Versuchsgruppe I			Versuchsgruppe II			Versuchsgruppe III			Versuchsgruppen I – III		
	Läsion n=9	Sham n=8	Kontr n=8	Läsion n=9	Sham n=8	Kontr n=9	Läsion n=10	Sham n=10	Kontr n=9	Läsion n=28	Sham n=26	Kontr n=26
ASR	69,82 ±14,60	72,48 ±15,95	77,18 ±14,90	103,52 ±28,46	113,01 ±20,76	107,71 ±16,09	122,67 ±20,87	111,67 ±21,30	126,54 ±23,25	99,53 ±12,93	100,02 ±11,64	104,84 ±11,13

Daten sind Mittelwerte \pm S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion), scheinläsionierten (Sham) und Kontrollratten (Kontr) der jeweils angegebenen Tierzahl. Dargestellt sind die Daten der Versuchsgruppen I, II und III sowie die zusammengefassten Daten der Versuchsgruppen I – III. Neonatale Läsionen des entorhinalen Cortex hatten keinen Einfluss auf die ASR Amplitude.

3.5.2 Präpulsinhibition der akustisch ausgelösten Schreckreaktion nach Apomorphin

Die akuten Wirkungen von APO auf die PPI wurden bei der VG III mit zwei verschiedenen Präpulsintensitäten getestet. Neonatale Läsionen des EC hatten weder mit noch ohne APO Behandlung einen Einfluss auf die PPI. APO reduzierte die PPI bei läsionierten, Sham und Kontrollratten gleichermaßen. Eine three-way ANOVA ergab einen signifikanten Unterschied für die Faktoren Substanz ($F_{1,26}=34,191$, $p<0,001$) und Präpulsintensität ($F_{1,26}=34,993$, $p<0,001$), nicht aber für den Faktor Läsion ($F_{2,26}=0,314$, $p=0,733$) sowie die Interaktionen zwischen diesen Faktoren (alle Interaktionen: $F<0,963$, $p>0,190$). Nach Zusammenfassen der PPI-Werte, die bei den unterschiedlichen Präpulsintensitäten auftraten, ergab eine two-way ANOVA einen signifikanten Unterschied für den Faktor Substanz ($F_{1,115}=49,126$, $p<0,001$), nicht jedoch für den Faktor Läsion ($F_{2,115}=0,410$, $p=0,665$) und die Interaktion zwischen diesen Faktoren ($F_{2,115}=0,273$, $p=0,762$). Ein post hoc Test zeigte, dass APO die PPI in allen Läsionsgruppen reduzierte ($p<0,05$). Zusätzlich war die PPI nach Vehikel-Injektion bei einer Präpulsintensität von 80 dB in allen Gruppen höher als bei einer Intensität von 72 dB, nach einer APO-Injektion war dieser Anstieg nur bei läsionierten Ratten signifikant ($p<0,05$; Abb.46).

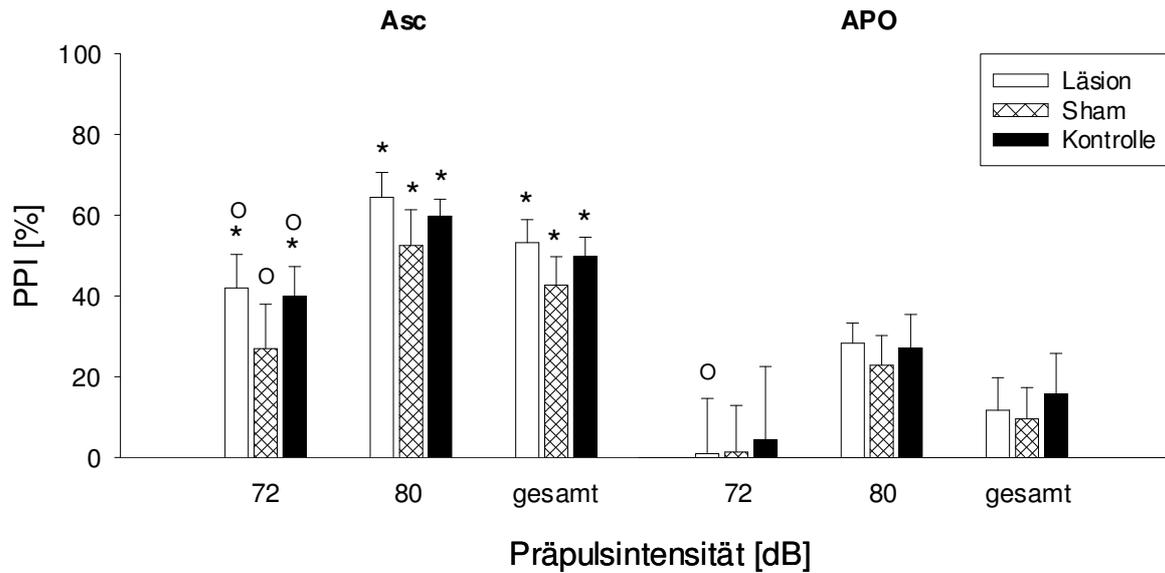


Abb.46: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf die Präpulsinhibition (PPI) der akustisch ausgelösten Schreckreaktion bei unterschiedlichen Präpulsintensitäten nach Vehikel- (Asc, 1 ml/kg) und nach Apomorphin-Behandlung (APO, 2 mg/kg). Daten sind Mittelwerte + S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion; n=10; weiße Balken), scheinläsionierten (Sham; n=10; karierte Balken) und Kontrollratten (Kontrolle; n=9; schwarze Balken). Signifikante Unterschiede zwischen Asc- und APO-Injektion sind durch Sterne gekennzeichnet (*), Unterschiede zwischen 80 dB und 72 dB durch Kreise (°p<0,05; three-way ANOVA, post hoc t-Test).

Für die ASR ergab eine two-way ANOVA einen signifikanten Effekt für den Faktor Substanz ($F_{1,57}=13,927$, $p<0,001$), nicht aber für den Faktor Läsion ($F_{2,57}=0,108$, $p=0,898$) und die Interaktion zwischen diesen Faktoren ($F_{2,57}=0,129$, $p=0,880$). Eine post hoc Analyse zeigte, dass APO die ASR-Amplitude bei läsionierten Ratten signifikant reduzierte ($p<0,05$). Sowohl bei Sham als auch bei Kontrollratten konnte hier lediglich eine tendenzielle Reduktion beobachtet werden (Sham: $p=0,052$; Kontrolle: $p=0,078$; Tab.15).

Tab.15: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf die Amplitude der akustisch ausgelösten Schreckreaktion (ASR) nach Vehikel- (Asc) und nach Apomorphin-Behandlung (APO)

	Asc (1 ml/kg)			APO (2 mg/kg)		
	Läsion n=10	Sham n=10	Kontrolle n=9	Läsion n=10	Sham n=10	Kontrolle n=9
ASR	493,25 ±147,76*	440,86 ±134,27	401,84 ±118,04	166,21 ±35,83	185,97 ±32,60	159,00 ±36,92

Daten sind Mittelwerte \pm S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion), scheinläsionierten (Sham) und Kontrollratten (Kontrolle) der jeweils angegebenen Tierzahl. Signifikante Unterschiede zwischen Asc- und APO-Injektion sind durch Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$; two-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test).

3.6 Verhalten adulter Ratten nach chronischer Dizocilpin-Behandlung

Die Effekte einer chronischen Behandlung mit dem NMDA-Rezeptor-Antagonisten Dizocilpin auf die Verhaltensflexibilität im Cross Maze, die lokomotorische Aktivität und die sensorimotorische Informationsverarbeitung wurden bei den Tieren der VG II und III getestet. Eine der Ibotenat-läsionierten Ratten zeigte bereits während des Trainings im Cross Maze durch starkes Freezing komplette Immobilität und wurde deshalb aus der Wertung genommen.

Ratten, die mit Dizocilpin behandelt wurden, verloren unabhängig vom Läsionsstatus im Vergleich zu Saline-behandelten Tieren deutlich an Gewicht. Eine three-way ANOVA ergab einen signifikanten Unterschied für die Faktoren Substanz (Dizocilpin/Saline; $F_{1,48}=23,009$, $p < 0,001$) und Behandlung (vor Behandlung/nach Behandlung/1 Woche nach Behandlung; $F_{2,48}=40,409$, $p < 0,001$) sowie für die Interaktion zwischen diesen beiden Faktoren ($F_{2,48}=224,546$, $p < 0,001$), nicht aber für den Faktor Läsion und die Interaktion zwischen den Faktoren Läsion und Behandlung, Läsion und Substanz sowie Läsion und Behandlung und Substanz (alle Faktoren: $F < 0,450$, $p > 0,288$). Ein post hoc Test zeigte, dass eine signifikante Gewichtsreduktion nur direkt nach der einwöchigen Behandlungsperiode bestand ($p < 0,05$; Tab.16). Eine Woche nach der letzten Injektion (Start der Verhaltensversuche) hatten die mit Dizocilpin behandelten Ratten ihr Ursprungsgewicht nahezu wieder erreicht, so dass zu diesem Zeitpunkt kein

signifikanter Unterschied zu den mit Saline behandelten Ratten bestand ($p > 0,05$). Zusätzlich zu dem Gewichtsverlust zeigten die mit Dizocilpin behandelten Ratten während der gesamten Behandlungszeit eine starke Ataxie, die eine Woche nach Beenden der Behandlung nicht mehr zu beobachten war.

Tab.16: Effekte einer chronischen Behandlung mit Dizocilpin auf das Körpergewicht

Körpergewicht [g]	Läsion		Sham		Kontrolle	
	Saline n=9	Dizocilpin n=9	Saline n=8	Dizocilpin n=10	Saline n=9	Dizocilpin n=9
vor Behandlung	341,90 ±6,03	350,37 ±10,48	335,20 ±8,07	340,33 ±7,35	334,44 ±6,02	347,31 ±6,98
nach Behandlung	371,51 ±6,90	288,37 ±11,07*	368,60 ±10,28	282,57 ±9,98*	365,83 ±7,45	304,28 ±6,74*
1 Woche nach Behandlung	362,60 ±6,43	341,40 ±8,80	357,13 ±10,66	331,97 ±7,74	357,38 ±5,97	340,31 ±6,37

Daten sind Mittelwerte \pm S.E.M. des Körpergewichtes von Ibotenat-läsionierten (Läsion), scheinläsionierten (Sham) und Kontrollratten (Kontrolle) der jeweils angegebenen Tierzahl vor und nach chronischer Dizocilpin-Gabe sowie eine Woche nach der letzten Injektion. Signifikante Unterschiede zwischen mit Vehikel (Saline) und mit Dizocilpin behandelten Ratten sind durch Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$; three-way ANOVA, post hoc t -Test).

3.6.1 Verhaltensflexibilität im Cross Maze

3.6.1.1 Training

Beim Erlernen einer allozentrischen (allo) und einer egozentrischen (ego) Strategie war bei läsionierten Tieren die Arbeitsgedächtnis-Komponente betroffen, während keine Unterschiede zwischen den Gruppen bezüglich des Langzeitgedächtnis sowie der Perseveration auftraten. Eine two-way ANOVA ergab während des Trainings beider Strategien hinsichtlich der Anzahl der wiederholten Langzeitgedächtnisfehler und der Anzahl der Arbeitsgedächtnisfehler insgesamt einen signifikanten Unterschied für den Faktor Läsion (WRME_{allo} und WRME+WPE_{allo}: $F_{2,53}=3,266$, $p=0,047$; WRME_{ego}: $F_{2,53}=3,971$, $p=0,025$; WRME+WPE_{ego}: $F_{2,53}=3,385$, $p=0,042$), nicht aber für den Faktor Substanz (MK-801/Saline; alle Parameter_{allo+ego}: $F < 0,669$, $p > 0,417$) sowie die Interaktion zwischen diesen beiden Faktoren (alle Parameter_{allo+ego}: $F < 0,327$, $p > 0,723$). Eine post hoc Analyse zeigte, dass sowohl unter Anwendung der allozentrischen als auch der egozentrischen Strategie bei

läsionierten Ratten signifikant mehr WRME und WRME+WPE auftraten als bei Kontrollratten ($p < 0,05$). Zusätzlich traten während der egozentrischen Lernaufgabe bei läsionierten Ratten mehr WRME auf als bei Sham-Ratten ($p < 0,05$; Tab.17D/G). Eine two-way ANOVA ergab hinsichtlich der Anzahl der Langzeitgedächtnisfehler, der Anzahl der Tage bis zum Erreichen des Lernkriteriums sowie der Zeit, die zur Lösung der Aufgabe benötigt wurde, bei keiner der beiden Strategien einen signifikanten Unterschied für die Faktoren Läsion (alle Parameter_{allo+ego}: $F < 2,758$, $p > 0,073$) und Substanz (alle Parameter_{allo+ego}: $F < 0,313$, $p > 0,578$) sowie für die Interaktion zwischen diesen beiden Faktoren (alle Parameter_{allo+ego}: $F < 1,405$, $p > 0,255$; Tab.17A-C). Da die egozentrische nach der allozentrischen Aufgabe erlernt wurde, konnte hier auch die Anzahl der Perseverationsfehler und der wiederholten Perseverationsfehler bestimmt werden. Eine two-way ANOVA ergab während des egozentrischen Trainings weder hinsichtlich der Anzahl der PE noch der WPE einen signifikante Unterschied für die Faktoren Läsion (alle Parameter_{ego}: $F < 2,417$, $p > 0,100$) und Substanz (alle Parameter_{ego}: $F < 0,117$, $p > 0,734$) sowie für die Interaktion zwischen diesen Faktoren (alle Parameter_{ego}: $F < 0,123$, $p > 0,885$; Tab.17E/F).

Tab.17: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf das Erlernen einer allozentrischen und egozentrischen Aufgabe im Cross Maze

Parameter	Training	Läsion		Sham		Kontrolle	
		Saline n=9	Dizocilpin n=9	Saline n=8	Dizocilpin n=10	Saline n=9	Dizocilpin n=9
A Lern-Kriterium [Tage]	Allozentrisch	6,89 ±0,31	6,44 ±0,48	6,25 ±0,34	6,40 ±0,34	5,78 ±0,40	5,89 ±0,42
	Egozentrisch	6,56 ±0,34	7,00 ±0,55	6,13 ±0,35	6,20 ±0,44	5,78 ±0,66	6,33 ±0,29
B Zeit [min]	Allozentrisch	36,46 ±8,90	28,82 ±4,93	23,11 ±5,86	32,82 ±6,44	29,57 ±10,51	24,43 ±6,25
	Egozentrisch	10,50 ±0,88	25,94 ±10,70	12,10 ±1,05	22,18 ±4,35	19,87 ±8,86	14,18 ±1,49
C RME [n]	Allozentrisch	15,00 ±1,92	14,56 ±4,97	14,50 ±1,94	14,30 ±0,80	12,89 ±1,49	13,56 ±1,60
	Egozentrisch	10,00 ±1,18	7,67 ±1,58	6,88 ±1,30	6,70 ±1,28	5,78 ±1,70	8,00 ±0,97
D WRME [n]	Allozentrisch	5,78 ±0,74	6,00 ±1,82	3,75 ±1,05	4,10 ±0,64	3,11 ±0,39*	3,56 ±1,09*
	Egozentrisch	4,33 ±0,97	4,67 ±1,28	2,25 ±0,92*	2,30 ±0,82*	1,56 ±0,77*	3,00 ±0,55*
E PE [n]	Allozentrisch	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	Egozentrisch	10,33 ±1,48	10,33 ±1,70	7,88 ±1,13	8,40 ±1,01	7,67 ±1,53	8,22 ±0,50
F WPE [n]	Allozentrisch	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	Egozentrisch	7,89 ±1,53	7,89 ±1,06	6,75 ±0,90	7,60 ±1,11	5,44 ±1,70	5,11 ±0,72
G WRME +WPE [n]	Allozentrisch	5,78 ±0,74	6,00 ±1,82	3,75 ±1,05	4,10 ±0,64	3,11 ±0,39*	3,56 ±1,09*
	Egozentrisch	12,22 ±2,41	12,56 ±1,85	9,00 ±1,52	9,90 ±1,57	7,00 ±2,39*	8,11 ±1,10*

Daten sind Mittelwerte ± S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion), scheinläsionierten (Sham) und Kontrollratten (Kontrolle) der jeweils angegebenen Tierzahl, die später mit Dizocilpin oder Vehikel (Saline) behandelt wurden. Dargestellt sind die Anzahl der Tage, die bis zum Erreichen des Lernkriteriums benötigt wurden (A), die Zeit, die zur Lösung der Aufgabe benötigt wurde (B), die Anzahl der Langzeitgedächtnisfehler (RME; C), Perseverationsfehler (PE; E), der wiederholten Langzeitgedächtnis- (WRME; D) und Perseverationsfehler (WPE; F) sowie der Summe aus WRME und WPE (G). Signifikante Unterschiede zu Ibotenat-läsionierten Ratten sind durch Sterne gekennzeichnet (*p<0,05; two-way ANOVA, post hoc Tukey t-Test).

3.6.1.2 Wechsel zwischen den gelernten Strategien

Nach dem Erlernen der allozentrischen und egozentrischen Strategie sollten die Ratten nun jeweils nach dem Erreichen des Lernkriteriums zwischen den beiden Strategien wechseln. Die Leistung in beiden Testformen sowie die Verhaltensflexibilität beim Wechseln wurden vor und nach einer chronischen Dizocilpin-Behandlung gemessen.

Vor der chronischen Behandlung mit Dizocilpin war bei läsionierten Tieren, wie auch im schwieriger zu lösenden 8-Arm Radial Maze Test, sowohl bei der allozentrischen als auch bei der egozentrischen Lernaufgabe die WM-Komponente beeinträchtigt, während keine Defizite des RM auftraten. Zusätzlich erreichten diese Tiere das Lernkriterium später als Sham und Kontrollratten. Eine two-way ANOVA ergab hinsichtlich der Anzahl der Tage bis zum Erreichen des Lernkriteriums (Kriterium), der Anzahl der WPE und der WRME+WPE einen signifikanten Unterschied für den Faktor Läsion (Kriterium_{allo}: $F_{2,53}=3,208$, $p=0,049$; Kriterium_{ego}: $F_{2,53}=5,594$, $p=0,007$; WPE_{allo}: $F_{2,53}=5,119$, $p=0,010$; WPE_{ego}: $F_{2,53}=4,057$, $p=0,024$; WRME+WPE_{allo}: $F_{2,53}=4,714$, $p=0,014$; WRME+WPE_{ego}: $F_{2,53}=4,655$, $p=0,014$), nicht aber die Interaktion zwischen den Faktoren Läsion und Substanz (alle Parameter_{allo+ego}: $F<1,003$, $p>0,374$). Da die Einteilung der Substanz-Gruppen unter Berücksichtigung der im Cross Maze während des Trainings erbrachten Leistung erfolgte, trat vor der Behandlung mit Dizocilpin wie erwartet für den Faktor Substanz kein signifikanter Unterschied auf (alle Parameter_{allo+ego}: $F<0,505$, $p>0,481$). Eine post hoc Analyse zeigte, dass bei läsionierten Ratten bei beiden Strategien mehr WPE und WRME+WPE auftraten als bei Kontrollratten ($p<0,05$). Zusätzlich machten läsionierte Ratten bei der allozentrischen Lernaufgabe signifikant mehr WPE ($p<0,05$) und tendenziell mehr WRME+WPE ($p=0,052$) als Sham Ratten. Bei der egozentrischen Aufgabe waren läsionierte Tiere lediglich tendenziell schlechter als Sham Ratten (WPE: $p=0,060$; WRME+WPE: $p=0,057$; Abb.47B/C). Läsionierte Ratten erreichten das Lernkriterium bei der allozentrischen Aufgabe tendenziell später als Sham ($p=0,098$) und Kontrollratten ($p=0,072$), während hingegen bei der egozentrischen Aufgabe läsionierte Tiere das Kriterium signifikant später erreichten als Sham und Kontrollratten ($p<0,05$; Tab.18A). Für alle anderen gemessenen Parameter ergab eine two-way ANOVA weder während der allozentrischen noch während der egozentrischen Lernaufgabe signifikante Unterschiede für die Faktoren Läsion (Zeit, RME, WRME, PE_{allo+ego}: alle $F<3,162$, $p>0,051$), Substanz

(Zeit, RME, WRME, PE_{allo+ego}: alle $F < 0,980$, $p > 0,327$) oder für die Interaktion zwischen Läsion und Substanz (Zeit, RME, WRME, PE_{allo+ego}: alle $F < 2,244$, $p > 0,117$; Tab.18B-D/Abb.47A).

Die chronische Behandlung mit Dizocilpin bewirkte bei der allozentrischen Lernaufgabe ($allo_{nach}$) bei keiner Gruppe eine Leistungseinbuße. Bei der egozentrischen Aufgabe verschlechterte Dizocilpin die Leistung bei allen Gruppen gleichermaßen. Zusätzlich war beim Umlernen von der allozentrischen ($allo_{nach}$) auf die egozentrische (ego_{nach}) Strategie die Leistung läsionierter Tiere im Vergleich zu Sham und Kontrollratten reduziert. Bei dem darauffolgenden Wechsel von der egozentrischen zur allozentrischen ($allo_{wdh}$) Strategie trat bei allen Gruppen ein Anstieg der Arbeitsgedächtnisfehler insgesamt (WRME+WPE) auf. Eine two-way ANOVA ergab bei $allo_{nach}$ keinen signifikanten Unterschied für die Faktoren Läsion (Zeit, RME, WRME, PE, WPE, WRME+WPE: alle $F < 2,968$, $p > 0,078$) und Substanz (Zeit, RME, WRME, PE, WPE, WRME+WPE: alle $F < 3,048$, $p > 0,087$) sowie für die Interaktion zwischen diesen beiden Faktoren (Zeit, RME, WRME, PE, WPE, WRME+WPE: $F < 1,664$, $p > 0,177$; Tab.18/Abb.47). Hinsichtlich des Lernkriteriums trat ein signifikanter Unterschied für den Faktor Läsion auf ($F_{2,53} = 5,528$, $p = 0,007$). Es ergab sich jedoch kein Unterschied für den Faktor Substanz ($F_{1,53} = 3,505$, $p = 0,067$) oder die Interaktion zwischen diesen beiden Faktoren ($F_{2,53} = 1,061$, $p = 0,354$). Ein post hoc Test zeigte, dass läsionierte Ratten signifikant mehr Tage benötigten, um das Kriterium zu erreichen, als Kontrollratten ($p < 0,05$) und das Kriterium tendenziell später erreichten als Sham Ratten ($p = 0,052$; Tab.18A). Beim Umlernen auf die egozentrische Lernaufgabe zeigte sich hinsichtlich des Lernkriteriums und der Anzahl der PE, WPE sowie WRME+WPE ein signifikanter Unterschied für den Faktor Läsion (PE: $F_{2,53} = 6,397$, $p = 0,003$; WPE: $F_{2,53} = 4,321$, $p = 0,019$; WRME+WPE: $F_{2,53} = 5,852$, $p = 0,005$; Kriterium: $F_{2,53} = 4,679$, $p = 0,014$). Bei der Anzahl der WPE und WRME+WPE, nicht aber beim Lernkriterium und der Anzahl der PE, trat zusätzlich ein signifikanter Unterschied für den Faktor Substanz auf (PE: $F_{1,53} = 0,001$, $p = 0,937$; WPE: $F_{1,53} = 10,355$, $p = 0,002$; WRME+WPE: $F_{1,53} = 12,501$, $p < 0,001$; Kriterium: $F_{1,53} = 0,071$, $p = 0,791$). Keiner dieser Parameter zeigte eine signifikante Interaktion zwischen Läsion und Substanz (alle Parameter: $F < 1,017$, $p > 0,369$). Eine post hoc Analyse zeigte, dass läsionierte Ratten mehr PE und WRME+WPE als Sham und Kontrollratten machten ($p < 0,05$; Abb.47A/C). In Bezug auf das Lernkriterium und die Anzahl der WPE trat ein signifikanter Anstieg nur gegenüber den Kontrollratten auf

($p < 0,05$), während hingegen bei läsierten Ratten im Vergleich zu Sham Ratten lediglich tendenziell mehr WPE auftraten ($p = 0,065$; Tab.18A/Abb.47B). Zusätzlich induzierte die Behandlung mit Dizocilpin einen Anstieg der WPE und WRME+WPE ($p < 0,05$). Bei allen anderen aufgezeichneten Parametern ergab sich während der egozentrischen Aufgabe nach Behandlung mit Dizocilpin kein signifikanter Unterschied für die Faktoren Läsion (Zeit, RME, WRME: $F < 2,095$, $p > 0,134$) und Substanz (Zeit, RME, WRME: $F < 1,668$, $p > 0,203$) oder die Interaktion zwischen diesen Faktoren (Zeit, RME, WRME: $F < 1,726$, $p > 0,189$; Tab.18). Beim Umlernen von der egozentrischen auf die abschließend nochmals durchgeführte allozentrische Strategie ($allo_{wdh}$) zeigte eine two-way ANOVA hinsichtlich der Anzahl der WRME+WPE einen signifikanten Unterschied für den Faktor Substanz ($F_{1,53} = 4,708$, $p = 0,035$), nicht jedoch für den Faktor Läsion ($F_{2,53} = 1,083$, $p = 0,347$) oder die Interaktion zwischen diesen beiden Faktoren ($F_{2,53} = 0,085$, $p = 0,918$). Zusätzlich ergab sich bei der Auswertung des Lernkriteriums ein signifikanter Unterschied für den Faktor Läsion ($F_{2,53} = 4,138$, $p = 0,022$), nicht aber für den Faktor Substanz ($F_{1,53} = 2,004$, $p = 0,163$) oder die Interaktion zwischen diesen Faktoren ($F_{2,53} = 1,861$, $p = 0,167$). Eine post hoc Analyse zeigte einen Anstieg der Anzahl der WRME+WPE nach Behandlung mit Dizocilpin im Vergleich zu Saline-Behandlung ($p < 0,05$; Abb.47C). Desweiteren benötigten läsierte Ratten signifikant mehr Tage, um das Kriterium zu erreichen, als Kontrollratten ($p < 0,05$; Tab.18A). Bei allen anderen Parametern traten, wie auch bei $allo_{nach}$, keine signifikanten Unterschiede für den Faktor Läsion (Zeit, RME, WRME, PE, WPE: alle $F < 2,968$, $p > 0,061$) und Substanz (Zeit, RME, WRME, PE, WPE: alle $F < 3,962$, $p > 0,052$) sowie für die Interaktion zwischen diesen Faktoren auf (Zeit, RME, WRME, PE, WPE: alle $F < 0,738$, $p > 0,483$; Tab.18/Abb.47).

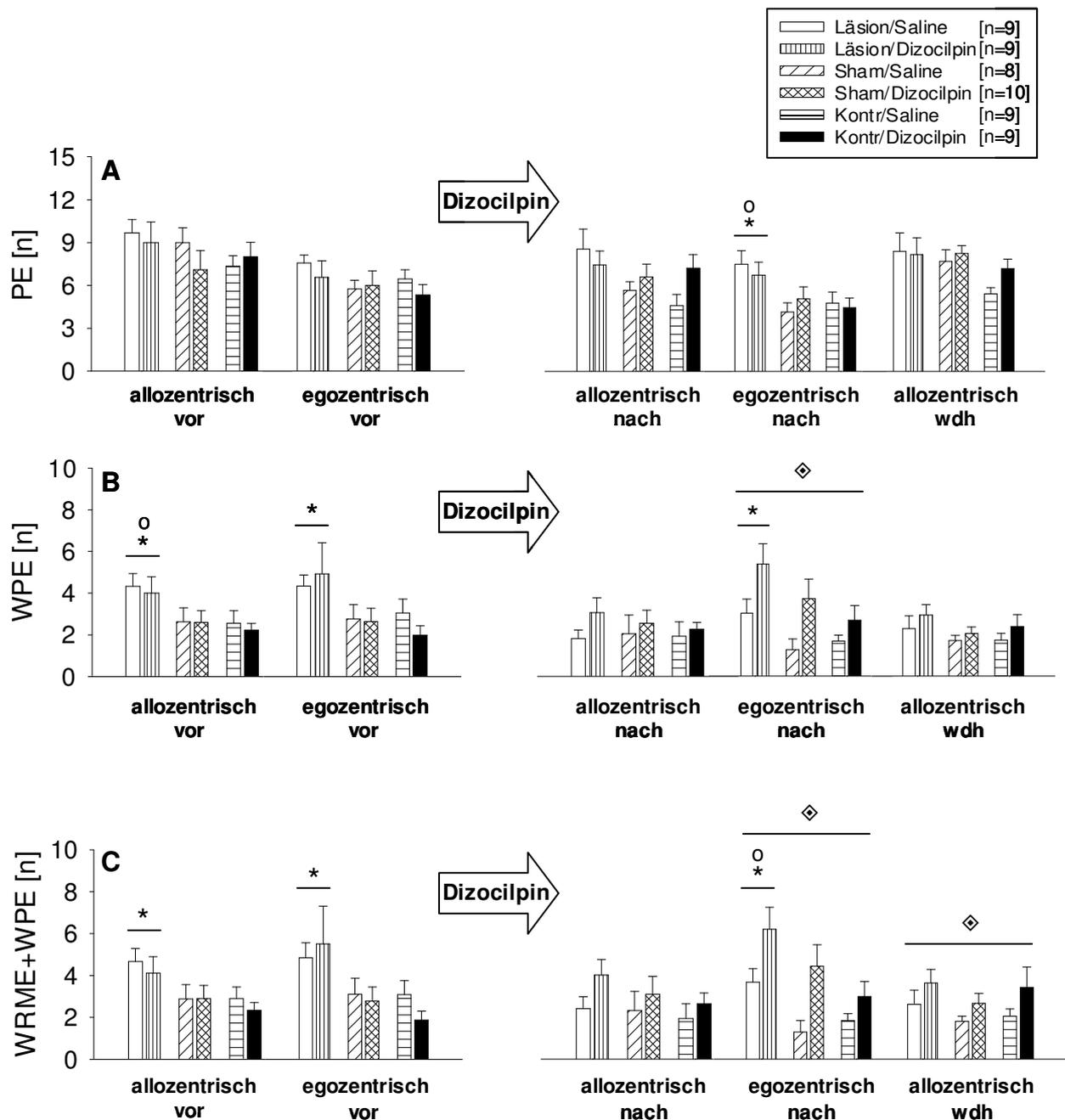


Abb.47: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf die Leistung in einer allozentrischen sowie egozentrischen Lernaufgabe im Cross Maze mit und ohne chronische Dizocilpin Behandlung. Daten sind Mittelwerte + S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion), scheinläsionierten (Sham) und Kontrollratten (Kontr) der jeweils angegebenen Tierzahl vor und nach chronischer Behandlung mit Dizocilpin oder Vehikel (Saline). Dargestellt ist die Anzahl der Perseverationsfehler (PE, A) wiederholten Perseverationsfehler (WPE, B) sowie die Summe aus wiederholten Langzeitgedächtnis- und Perseverationsfehlern (WRME+WPE, C). Signifikante Unterschiede zwischen Ibotenat-läsionierten und Kontrollratten sind durch Sterne gekennzeichnet (*), Unterschiede zwischen Ibotenat- und scheinläsionierten Ratten durch Kreise (o $p < 0,05$; two-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test). Signifikante Unterschiede zwischen mit Saline behandelten und mit Dizocilpin behandelten Tieren sind durch Quadrate gekennzeichnet (◊ $p < 0,05$; two-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test).

Tab.18: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf die Leistung in einer allozentrischen sowie egozentrischen Lernaufgabe im Cross Maze mit und ohne chronische Dizocilpin Behandlung

Parameter	Test	Läsion		Sham		Kontrolle	
		Saline n=9	Dizocilpin n=9	Saline n=8	Dizocilpin n=10	Saline n=9	Dizocilpin n=9
A Lern- Kriterium [Tage]	vor Behandlung allozentrisch	6,56 ± 0,34	6,33 ±0,71	5,50 ±0,42	5,40 ±0,45	5,22 ±0,40	5,56 ±0,38
	vor Behandlung egozentrisch	5,56 ±0,30 ^o	5,22 ±0,28 ^o	4,38 ±0,26	4,70 ±0,30	4,89 ±0,26	4,56 ±0,18
	nach Behandlung allozentrisch	6,00 ±0,44*	6,00 ±0,47*	4,75 ±0,16	5,40 ±0,43	4,22 ±0,36	5,33 ±0,29
	nach Behandlung egozentrisch	5,67 ±0,62*	5,11 ±0,35*	4,38 ±0,26	4,90 ±0,31	4,33 ±0,33	4,11 ±0,31
	nach Behandlung allozentrisch wdh	5,67 ±0,47*	5,78 ±0,52*	5,38 ±0,18	5,30 ±0,21	4,22 ±0,22	5,33 ±0,17
B Zeit [min]	vor Behandlung allozentrisch	10,50 ±0,88	8,87 ±0,88	7,39 ±0,82	9,10 ±0,79	8,53 ±0,95	7,63 ±0,57
	vor Behandlung egozentrisch	6,85 ±0,38	8,56 ±2,35	5,70 ±0,82	7,44 ±1,63	6,57 ±0,80	5,87 ±1,07
	nach Behandlung allozentrisch	8,65 ±1,14	7,31 ±0,77	6,31 ±0,75	8,17 ±0,84	7,74 ±1,45	6,73 ±0,48
	nach Behandlung egozentrisch	7,03 ±0,54	6,07 ±0,68	4,25 ±0,34	6,17 ±1,03	5,06 ±0,57	5,21 ±1,06
	nach Behandlung allozentrisch wdh	6,51 ±0,67	6,44 ±0,66	5,21 ±0,16	6,27 ±0,51	5,21 ±0,29	5,48 ±0,25
C RME [n]	vor Behandlung allozentrisch	4,33 ±0,75	4,11 ±1,32	3,25 ±0,68	3,50 ±0,75	3,67 ±0,82	4,00 ±0,76
	vor Behandlung egozentrisch	3,22 ±0,85	3,44 ±1,13	2,13 ±0,81	2,10 ±0,57	2,22 ±0,88	2,44 ±0,50
	nach Behandlung allozentrisch	3,22 ±0,57	3,78 ±0,85	2,00 ±0,42	2,70 ±0,50	1,78 ±0,49	3,11 ±0,68
	nach Behandlung egozentrisch	2,22 ±0,60	2,11 ±0,48	1,13 ±0,40	2,40 ±0,76	1,44 ±0,44	1,56 ±0,48
	nach Behandlung allozentrisch wdh	2,00 ±0,50	2,22 ±0,57	2,50 ±0,50	2,30 ±0,72	1,78 ±0,32	1,78 ±0,68
D WRME [n]	vor Behandlung allozentrisch	0,33 ±0,17	0,11 ±0,11	0,25 ±0,25	0,30 ±0,15	0,33 ±0,17	0,11 ±0,11
	vor Behandlung egozentrisch	0,78 ±0,28	0,89 ±0,54	0,50 ±0,27	0,30 ±0,15	0,22 ±0,22	0,00 ±0,00
	nach Behandlung allozentrisch	0,56 ±0,34	0,09 ±0,42	0,25 ±0,25	0,50 ±0,34	0,00 ±0,00	0,33 ±0,24
	nach Behandlung egozentrisch	0,56 ±0,24	0,67 ±0,29	0,00 ±0,00	0,60 ±0,40	0,11 ±0,11	0,22 ±0,22
	nach Behandlung allozentrisch wdh	0,22 ±0,15	0,56 ±0,18	0,00 ±0,00	0,50 ±0,22	0,22 ±0,15	0,89 ±0,66

Daten sind Mittelwerte ± S.E.M. von Ibotenat-läsionierten (Läsion), scheinläsionierten (Sham) und Kontrollratten (Kontrolle) der jeweils angegebenen Tierzahl vor und nach chronischer Behandlung mit Dizocilpin oder Vehikel (Saline). Dargestellt ist die Anzahl der Tage bis zum Erreichen des Lernkriteriums (A), die Zeit, die zur Lösung der Aufgabe benötigt wurde (B), sowie die Anzahl der Langzeitgedächtnisfehler (RME; C) und der wiederholten Langzeitgedächtnisfehler (WRME; D). Signifikante Unterschiede zwischen Ibotenat-läsionierten und Kontrollratten sind durch Sterne gekennzeichnet (*), Unterschiede zwischen Ibotenat- und scheinläsionierten Tieren durch Kreise (^op<0,05; two-way ANOVA, post hoc Tukey *t*-Test).

3.6.2 Lokomotorische Aktivität

Neonatale Ibotenat-induzierte Läsionen des EC hatten keinen Einfluss auf die lokomotorische Aktivität in der Aktivitätsbox. Eine chronische Behandlung mit Dizocilpin reduzierte die Aktivität. Eine two-way ANOVA ergab einen signifikanten Unterschied für den Faktor Behandlung (vor Behandlung/nach Behandlung) hinsichtlich des zurückgelegten Weges, der Aktivität und der Häufigkeit des Aufrichtens (Weg: $F_{1,107}=8,305$, $p=0,006$; Aktivität: $F_{1,107}=10,396$, $p=0,002$; Aufrichten: $F_{1,107}=15,917$, $p<0,001$), nicht jedoch für die Zeit, die in der Mitte der Aktivitätsbox verbracht wurde ($F_{1,107} = 1,896$, $p = 0,175$). Es ergab sich jedoch bei keinem der gemessenen Parameter ein signifikanter Unterschied für den Faktor Läsion (alle Parameter: $F<0,819$, $p>0,542$) sowie für die Interaktion zwischen Läsion und Behandlung (alle Parameter: $F<1,172$, $p>0,337$). Ein post hoc Test ergab, dass eine chronische Behandlung mit Dizocilpin bei läsierten Ratten eine signifikante Reduktion des zurückgelegten Weges und der Häufigkeit des Aufrichtens bewirkte ($p<0,05$). Bei der Aktivität zeigte sich hier eine starke Tendenz ($p=0,051$). Bei Sham Ratten waren der Weg und die Aktivität nach der Behandlung mit Dizocilpin ebenfalls lediglich tendenziell reduziert (Weg: $p=0,068$; Aktivität: $p=0,099$). Bei Kontrollratten ergab sich durch die Dizocilpin-Gabe eine signifikante Reduktion der Aktivität und der Häufigkeit des Aufrichtens ($p<0,05$). Es zeigte sich jedoch nur eine tendenzielle Reduktion des zurückgelegten Weges nach Dizocilpin-Behandlung (Kontrolle: $p=0,052$; Abb.48).

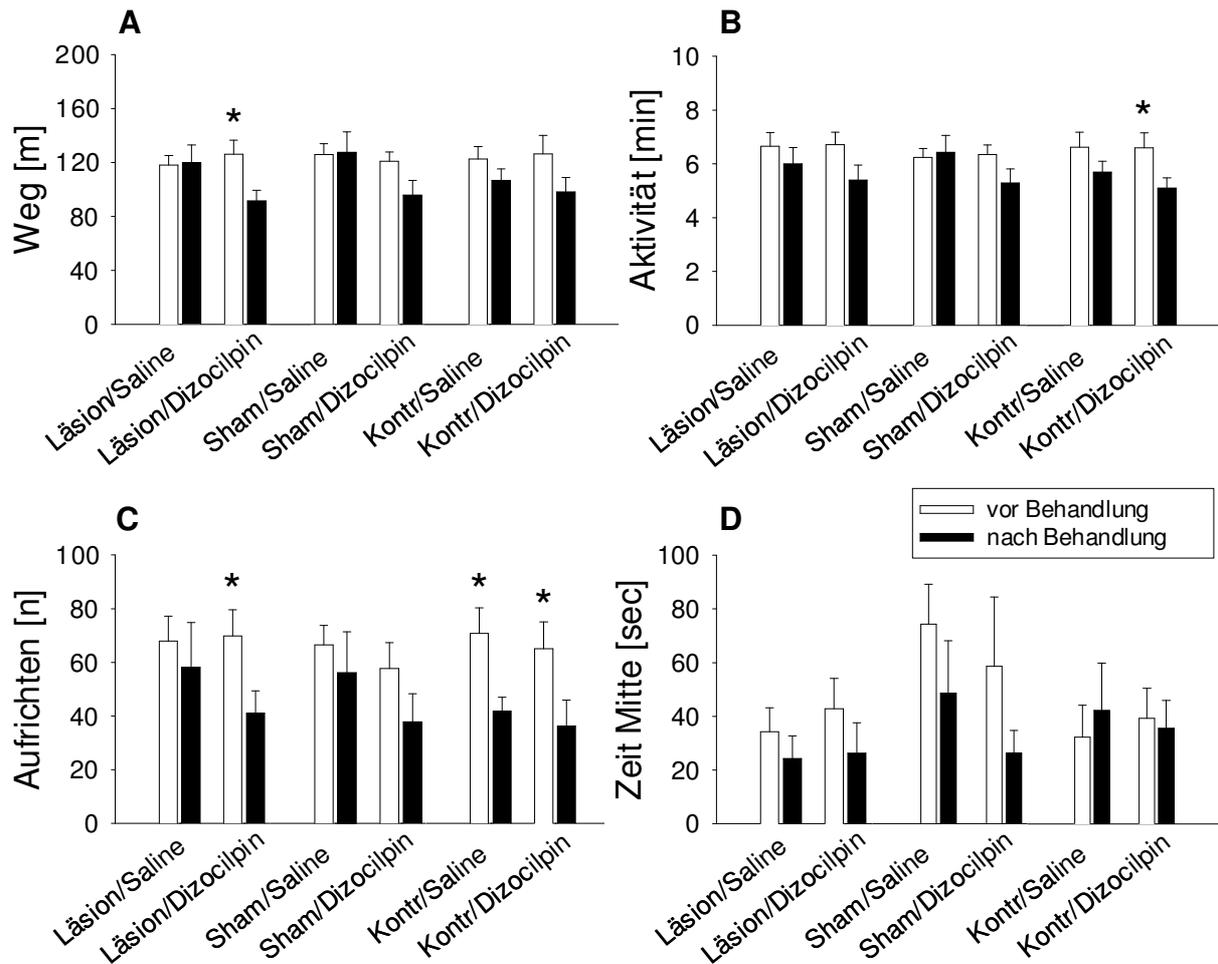


Abb.48: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf die lokomotorische Aktivität mit und ohne chronischer Dizocilpin Behandlung. Daten sind Mittelwerte + S.E.M. von mit Vehikel (Saline) oder Dizocilpin behandelten Ibotenat-läsionierten (Läsion, Saline: n=9, Dizocilpin: n=9), scheinläsionierten (Sham, Saline: n=8, Dizocilpin: n=10) und Kontrollratten (Kontr, Saline: n=9, Dizocilpin: n=9) jeweils mit (schwarze Balken) und ohne (weiße Balken) chronische Behandlung. Dargestellt sind die gelaufene Gesamtdistanz (Weg; A), die Aktivität (B), die Häufigkeit des Aufrichtens (C) und die Zeit, die in der Mitte der Aktivitätsbox verbracht wurde (D). Signifikante Unterschiede zwischen vor und nach Behandlung sind durch Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$; two-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test).

3.6.3 Sensorimotorische Informationsverarbeitung

Weder eine neonatale Läsion des EC noch eine chronische Behandlung mit Dizocilpin hatte einen Einfluss auf die PPI. Eine zusätzliche niedrigdosierte akute Dizocilpin-Injektion reduzierte die PPI bei Sham und Kontrollratten, nicht jedoch bei läsierten Tieren unabhängig von der chronischen Dizocilpin-Behandlung. Eine three-way ANOVA ergab einen signifikanten Unterschied für die Faktoren Behandlung ($F_{3,144}=6,762$, $p<0,001$) und Präpulsintensität ($F_{1,144}=99,660$, $p<0,001$), nicht aber für den Faktor Läsion oder die Interaktion zwischen Behandlung und Läsion, Präpulsintensität und Läsion, Präpulsintensität und Behandlung oder Behandlung und Präpulsintensität und Läsion (alle Faktoren: $F<0,856$, $p>0,517$). Eine post hoc Analyse zeigte, dass eine chronische Behandlung mit Dizocilpin alleine keinen Einfluss auf die PPI hatte. Eine akute Dizocilpin-Injektion induzierte bei zuvor chronisch mit Dizocilpin behandelten Sham und Kontrollratten, nicht jedoch bei läsierten Tieren eine signifikante Reduktion der PPI bei einer Präpulsintensität von 80 dB ($p<0,05$; Abb.49B). Bei einer Präpulsintensität von 72 dB zeigte sich nur eine tendenzielle Reduktion der PPI bei Sham-Ratten ($p = 0,094$; Abb.49A). Nach Zusammenfassen der PPI-Werte, die bei den unterschiedlichen Präpulsintensitäten auftraten, ergab eine two-way ANOVA einen signifikanten Unterschied für den Faktor Behandlung ($F_{3,431}=10,973$, $p<0,001$), nicht jedoch für den Faktor Läsion ($F_{5,431}=0,564$, $p=0,727$) sowie für die Interaktion zwischen diesen beiden Faktoren ($F_{15,431}=1,052$, $p=0,402$). Eine post hoc Analyse zeigte, dass nach akuter Dizocilpin-Injektion eine signifikante Reduktion der PPI bei zuvor chronisch mit Substanz behandelten Sham und Kontrollratten sowie bei mit Vehikel behandelten Kontrollratten auftrat ($p<0,05$). Ibotenat-läsierte Tiere zeigten auch nach akuter Dizocilpin-Injektion kein PPI-Defizit ($p>0,05$; Abb.49C).

Hinsichtlich der ASR-Amplitude ergab eine two-way ANOVA einen signifikanten Unterschied für den Faktor Behandlung ($F_{3,215}=5,431$, $p=0,001$), jedoch nicht für den Faktor Läsion ($F_{5,215}=0,913$, $p=0,480$) sowie die Interaktion zwischen diesen beiden Faktoren ($F_{15,215}=0,245$, $p=0,998$). Eine post hoc Analyse zeigte, dass die ASR vor der chronischen Behandlung mit Dizocilpin größer war als nach akuter Dizocilpin Injektion ($p<0,05$; Tab.19).

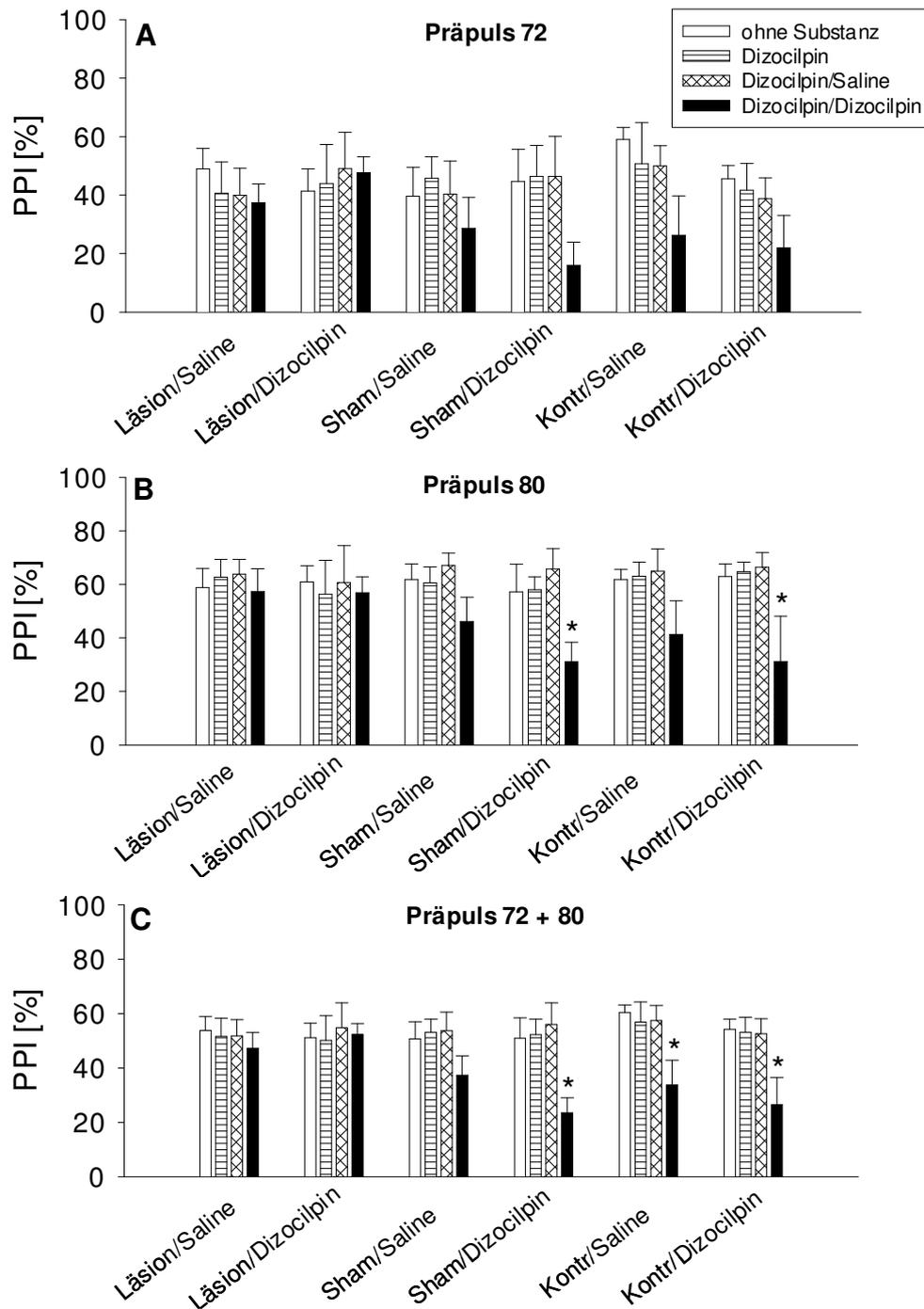


Abb.49: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf die Präpulsinhibition (PPI) der akustisch ausgelösten Schreckreaktion mit und ohne chronische Dizocilpin Behandlung sowie mit und ohne zusätzlicher akuter, niedrigdosierter Gabe von Dizocilpin. Daten sind Mittelwerte + S.E.M. von mit Vehikel (Saline) oder Dizocilpin behandelten Ibotenat-läsionierten (Läsion, Saline: n=9, Dizocilpin: n=9), scheinläsionierten (Sham, Saline: n=8, Dizocilpin: n=10) und Kontrollratten (Kontr, Saline: n=9, Dizocilpin: n=9) jeweils vor (ohne Substanz; weiße Balken) und nach (Dizocilpin; quergestreifte Balken) chronischer Behandlung sowie nach zusätzlicher akuter Injektion von Saline (Dizocilpin/Saline; karierte Balken) oder Dizocilpin (Dizocilpin/Dizocilpin; schwarze Balken). Dargestellt ist die PPI (%) bei einer Präpulsintensität von 72 dB (A) und 80 dB (B) sowie nach Zusammenfassen der Daten beider Präpulsintensitäten (72 + 80 dB; C). Signifikante Unterschiede zwischen akuter Saline- und Dizocilpin-Injektion sind durch Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$; three-way ANOVA, post hoc t -Test; Präpuls 72 + 80 dB: two-way ANOVA, post hoc Tukey t -Test).

Tab.19: Effekte neonataler Ibotenat-induzierter Läsionen des entorhinalen Cortex auf die Amplitude der akustisch ausgelösten Schreckreaktion (ASR) vor und nach chronischer Behandlung mit Dizocilpin sowie mit und ohne zusätzliche akute, niedrigdosierte Dizocilpin-Injektion.

ASR	Läsion		Sham		Kontrolle	
	Saline n=9	Dizocilpin n=9	Saline n=8	Dizocilpin n=10	Saline n=9	Dizocilpin n=9
Ohne Behandlung	316,39 ±103,65	244,43 ±77,28	340,54 ±104,76	328,14 ±92,69	372,88 ±101,15	364,80 ±65,89
Chronische Behandlung	175,89 ±54,19	150,54 ±35,25	331,37 ±132,25	220,53 ±53,34	315,00 ±112,17	253,72 ±44,68
Chronische Behandlung + Saline	167,90 ±56,13	111,26 ±21,19	212,21 ±28,52	201,4 ±43,49	224,56 ±72,28	191,47 ±26,50
Chronische Behandlung + Dizocilpin	209,41 ±31,67	217,66 ±35,59	234,30 ±59,67	199,82 ±33,64	219,11 ±62,61	231,50 ±67,05

Daten sind Mittelwerte \pm S.E.M. von mit Vehikel (Saline) oder Dizocilpin behandelten Ibotenat-läsionierten (Läsion), scheinläsionierten (Sham) und Kontrollratten (Kontrolle) der jeweils angegebenen Tierzahl jeweils vor und nach chronischer Behandlung sowie nach zusätzlicher akuter Injektion von Saline oder Dizocilpin. Es traten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen sowie innerhalb der Gruppen vor und nach chronischer Behandlung und zusätzlicher akuter Dizocilpin-Injektion auf.

4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde die Entwicklung des EC, einer Region, die den wichtigsten Eingang in den HIPP von Säugern darstellt und maßgeblich an der Pathophysiologie der Schizophrenie beteiligt ist, durch eine selektive intracerebrale Injektion des NMDA-Rezeptor-Agonisten Ibotenat an PND 7 gestört. Dadurch sollte die Entwicklung des EC, aber auch die Entwicklung nachgeschalteter Projektionsgebiete (z.B. HIPP, Amygdala) gestört werden. Da Läsionen in einem frühen Entwicklungsstadium zur Entstehung von Verhaltensstörungen beitragen können, wurden die Effekte dieser Läsion auf kognitive, motivationale, lokomotorische und sensorimotorische Leistungen im adulten Tier überprüft.

4.1 Histologie

4.1.1 Morphologie des entorhinalen Cortex

Neonatale exzitotoxische Läsionen des EC induzierten zwei Tage nach der bilateralen Injektion von Ibotenat einen Verlust von Neuronen, der von einer Gliose begleitet war. Bei adulten Tieren war die Läsion als bilaterale narbige Einziehung zu sehen. Dabei trat ein Verlust des Neuropil und eine Volumenreduktion des EC auf. Diese Volumenreduktion umfasste einen Großteil des EC, wobei MEA und LEA gleichermaßen betroffen waren. Eine Schädigung rostraler, caudaler und lateraler Randbereiche trat jedoch nicht auf.

Im Gegensatz zu neonatalen Läsionen sind adulte Ibotenat-induzierte Läsionen des EC durch einen Verlust von Neuronen sowie eine dauerhafte Gliose gekennzeichnet, die nicht mit der Zeit abgebaut wird [BANNERMAN *ET AL.*, 2001; GAFFAN *ET AL.*, 2003; POUZET *ET AL.*, 1999]. Bei entsprechender Dosierung sind hindurchziehender Fasern nicht betroffen [JARRARD, 1989], während nach den in der vorliegenden Studie induzierten neonatalen Läsionen, die durch eine starke Volumenreduktion gekennzeichnet waren, vermutlich ein Verlust durchziehender Fasern auftritt. Neonatale Läsionen des EC induzieren somit stärkere strukturelle Veränderungen als Läsionen des adulten EC.

Läsionen des adulten Gehirns induzieren in der Regel zahlreiche Verhaltensdefizite, während hingegen Störungen des neonatalen Gehirns oft mit der

Zeit kompensiert werden [KOLB *ET AL.*, 1998; KOLB & CIOE, 2003]. Frühe Hirnschädigungen können jedoch auch die Entwicklung nachgeschalteter Hirnregionen negativ beeinflussen und dadurch die Symptomatik im Vergleich zu Adultläsionen potenzieren oder verändern [WOODS, 1998]. Eine wichtige Funktion des EC ist die Regulation zahlreicher kognitiver Funktionen, wie z.B. der Akquisition, der Konsolidierung und des Wiederabrufens von Gedächtnisinhalten [YOUNG *ET AL.*, 1997; IZQUIERDO & MEDINA, 1993]. Eine Störung dieser Funktionen ist durch die beobachteten strukturellen Veränderungen des EC zu erwarten, sofern diese nicht von anderen Strukturen übernommen werden, die durch die Läsion nicht geschädigt wurden.

Während im adulten Gehirn nur direkt die läsionierte Region zerstört wird, können neonatale Läsionen zusätzlich die Neurogenese, die Zellmigration, die Differenzierung und die Synaptogenese in assoziierten Hirnregionen beeinflussen. Folge ist eine Fehlentwicklung neuronaler Schaltkreise und Transmittersysteme und somit eine beeinträchtigte Funktion von vor- und nachgeschalteten Regionen. In früheren Studien wurde beispielsweise gezeigt, dass neonatale Läsionen des VH Verhaltensdefizite induzieren, die durch eine Dysfunktion des mit dieser Struktur verbundenen PFC erklärbar sind [LIPSKA *ET AL.*, 1993].

Neonatale Läsionen des EC stören vermutlich vor allem die Entwicklung der Fasern des *perforant path* vom EC zum HIPP, die den wichtigsten Eingang zum HIPP darstellen. Deshalb ist nach neonatalen Läsionen des EC eine Dysregulation hippocampaler Funktionen, vor allem des räumlichen Lernens, zu erwarten. Zusätzlich können durch die neonatale Läsion Störungen in weiteren Projektionsgebieten des EC auftreten, wie z.B. in der Amygdala und dem NAC. Hier sind Dysfunktionen motivationaler Prozesse, der lokomotorischen Aktivität sowie der sensorimotorischen Informationsverarbeitung zu erwarten. Diese Regionen erhalten jedoch neben dem EC zusätzlich noch zahlreiche weitere Eingänge, wodurch eine Kompensation dieses Funktionsverlustes eher möglich erscheint.

4.1.2 Myelinisierung in Projektionsgebieten

Neonatale Läsionen des EC induzierten einen deutlichen Verlust der Myelinscheide im Stratum lacunosum moleculare, Stratum radiatum und Stratum oriens des dorsalen HIPP sowie in der BLA und der LA. Das Volumen dieser Regionen war dabei nicht verändert.

Myelin spielt eine wichtige Rolle für die Stabilisierung der Axone und ist für eine effiziente und schnelle Weiterleitung der Aktionspotentiale entlang des Axons verantwortlich [BAUMANN & PHAM-DINH, 2001; SAVASKAN *ET AL.*, 1999]. Die Myelinscheide im ZNS wird von Oligodendrozyten gebildet [TKACHEV *ET AL.*, 2003]. Eine Reduktion der Myelinscheide durch neonatale Läsionen des EC kann somit die Reizweiterleitung stören und dadurch Dysfunktionen in verschiedenen neuronalen Schaltkreisen induzieren.

Während der neuronalen Entwicklung bei Ratten erfolgt die Myelinisierung des *perforant path* gewöhnlich erst nach der Differenzierung und Reifung der Oligodendrozyten ab PND 10 [BAUMANN & PHAM-DINH, 2001]. Dieser Prozess ist während der frühen postnatalen Periode besonders vulnerabel gegenüber Störungen [RICE & BARONE, 2000]. Neonatale Läsionen des EC stören deshalb vermutlich die Reifung der Oligodendrozyten und beeinträchtigen dadurch die Bildung des Myelins. Im Gegensatz dazu kommt es nach einer adulten Läsion zu einer Demyelinisierung bereits bestehender Fasern. Dabei werden Oligodendrozyten vermutlich nicht oder nur geringfügig beschädigt. Dadurch ist eine Remyelinisierung der betroffenen Axone möglich. Eine solche Remyelinisierung tritt etwa zehn Tage nach einer adulten Läsion des EC auf, wodurch etwa 28 Tage nach Induktion der Läsion das Kontrollniveau wieder erreicht wird [MEIER *ET AL.*, 2004].

Obwohl nach neonatalen Läsionen ein Verlust der Projektionen zum HIPP auftrat und dieser dadurch von einem Großteil seiner Eingänge getrennt wurde, trat kein vollständiger Verlust von Myelin im HIPP auf. Die noch vorhandenen Fasern können zum einen aus Projektionsgebieten stammen, die durch die Läsion nicht betroffen waren (z.B. aus dem perirhinalen Cortex), zum anderen wurde der EC durch die neonatale Läsion nicht vollständig zerstört, so dass der HIPP weiterhin einen geringen Eingang aus den unbeschädigten Randbereichen des EC erhält.

Zusätzlich wurde die Amygdala ausgewertet, die ein weiteres wichtiges subcorticales Projektionsgebiet des EC darstellt. Dort induzierten neonatale Läsionen des EC ebenfalls einen deutlichen Verlust der Myelinscheide. Die Amygdala erhält

jedoch neben der Projektion aus dem EC noch zahlreiche weitere Eingänge. Deshalb wäre zu erwarten gewesen, dass durch diese Verbindungen die Myelinisierung in dieser Region aufrechterhalten wird. Bisher ist nur wenig über die Mechanismen der Myelinisierung oder die Signale, die diesen komplexen Prozess regulieren, bekannt. Eine wichtige Rolle spielt hierbei jedoch vermutlich das Myelin-assoziierte Glykoprotein (MAG), das von Oligodendrozyten exprimiert wird. MAG ist wichtig für die Initiierung der Myelinisierung im ZNS sowie für die Interaktion zwischen den Oligodendrozyten und den Axonen [DAVIS *ET AL.*, 2003; POLTORAK *ET AL.*, 1987]. Ein durch die neonatale Läsion induzierter Verlust oder eine Dysfunktion der Oligodendrozyten beeinflusst somit die MAG-Expression. Ein Verlust von MAG induziert dann eine Atrophie bereits myelinisierter Axone sowie axonale Degeneration [YIN *ET AL.*, 1998]. Deshalb können neonatale Läsionen des EC vermutlich über die Beeinflussung der MAG-Expression eine Störung der anderen Afferenzen zur Amygdala induzieren.

4.1.3 Parvalbumin-immunreaktive Interneurone

Neonatale Läsionen des EC induzierten eine Reduktion GABAerger Interneurone in der CA1-Region des HIPP sowie in der BLA, nicht aber in der CA3-Region und der LA. Dies wurde über die Zählung von PVr-Interneuronen und die Bestimmung der PVr-Interneuronendichte nachgewiesen. GABAerge Interneurone spielen vermutlich eine wichtige Rolle bei der Regulation höherer kognitiver Funktionen, wie z.B. Lernen, Motivation und Aufmerksamkeit [MIETTINEN *ET AL.*, 1993; RAO *ET AL.*, 2000]. Eine Reduktion der PVr-Interneurone durch neonatale Läsionen des EC kann deshalb Dysfunktionen des WM sowie Defizite der sensorimotorischen Informationsverarbeitung induzieren, die auf einer Disinhibition exzitatorischer Neurone aufgrund fehlender GABAerger Hemmung beruhen.

Projektionsneurone und Interneurone sind die wichtigsten zellulären Bestandteile des cerebralen Cortex. Dabei sind die Projektionsneurone für die Kommunikation zwischen corticalen und subcorticalen Strukturen verantwortlich, während hingegen die Interneurone für die Verarbeitung von Informationen innerhalb der jeweiligen Hirnregion zuständig sind [BENES & BERRETTA, 2001]. Ein Großteil der Interneurone in cortico-limbischen Kreisläufen ist GABAerg. Diese inhibitorischen Interneurone kontrollieren die Aktivität der Projektionsneurone über *feedback* und *feedforward* Mechanismen. Innerhalb der *feedback* Schleife aktiviert eine Axonkollaterale das

Interneuron, das seinerseits zurück zum Projektionsneuron projiziert und dadurch überschießende Erregung abmildert. Das Projektionsneuron hemmt somit über diesen Mechanismus seine eigene Aktivität. Bei einem *feedforward* Mechanismus erregen eingehende Axone nicht nur nachgeschaltete Projektionsneurone einer Region, sondern geben auch Kollateralfasern an zwischengeschaltete Interneurone ab, die ihrerseits einen hemmenden Einfluss auf das nachgeschaltete Projektionsneuron ausüben und die eingehende Erregung wieder abschwächen [BENES & BERRETTA, 2001].

GABAerge Interneurone können in verschiedene Subgruppen unterteilt werden. Zu den Interneuronen, die das calcium-bindende Protein PV exprimieren, gehören die sogenannten Korb- und Kandelaberkellen. Diese Zellen befinden sich in großer Anzahl in der Pyramidenzellschicht der CA-Regionen des HIPP und bilden axo-axonische Synapsen mit dem Initialsegment der Pyramidenzellaxone (Kandelaberkellen) oder axo-somatische Kontakte mit den Zellkörpern und den Dendriten der Pyramidenzellen (Korbzellen). Aufgrund der somanahen Lage können diese inhibitorischen Interneuronentypen die Informationsverarbeitung und –weiterleitung der Pyramidenzellen besonders stark beeinflussen [BENES & BERRETTA, 2001; SERESS *ET AL.*, 1993]. Die Dendriten dieser Interneurone verlaufen zum Stratum radiatum, Stratum lacunosum moleculare und zum Stratum oriens und erhalten dadurch einen Eingang von allen wichtigen Afferenzen, die zum HIPP verlaufen. Die GABAergen Interneurone kontrollieren somit sowohl den Eingang als auch den Ausgang der hippocampalen Projektionsneurone [BLUM & MANN, 2002; GOLDMAN-RAKIC, 1999]. Der EC beeinflusst als Haupteingangsstruktur des HIPP die Aktivität der PVr-Interneurone in besonders starkem Ausmaß [KISS *ET AL.*, 1996]. Die neuronale Aktivität und Informationsverarbeitung in der Amygdala wird ebenfalls durch GABAerge Interneurone, die PV exprimieren, reguliert [KEMPPAINEN & PITKANEN, 2000; McDONALD & MASCAGNI, 2001]. Im Gegensatz zum HIPP erhält die Amygdala jedoch zusätzlich zu dem Eingang aus dem EC zahlreiche weitere Projektionen aus verschiedenen corticalen und subcorticalen Regionen, die ebenfalls die Aktivität der PVr-Interneurone beeinflussen können.

Das GABAerge System entwickelt sich sowohl beim Menschen als auch bei der Ratte postnatal bis in die frühe Adoleszenz, wobei die inhibitorischen Interneurone an der Regulation der Migration und Differenzierung hippocampaler Neurone während der Entwicklung beteiligt sind [SOLBACH & CELIO, 1991]. Die Expression des PV,

welches vermutlich neuroprotektive Wirkungen besitzt, erfolgt erst nach der Bildung der Synapsen. Deshalb besteht in der frühen postnatalen Periode ein Zeitfenster, in dem die unreifen GABAergen Zellen besonders empfindlich auf toxische Schäden reagieren [BEASLEY & REYNOLDS, 1997; NITSCH *ET AL.*, 1990; SOLBACH & CELIO, 1991]. Während dieser vulnerablen Periode können neonatale Läsionen des EC durch eine Störung des HIPP und anderer subcorticaler Strukturen die Reifung dieser PV-exprimierenden Zellen in den Endgebieten der entorhinalen Fasern beeinflussen und infolgedessen Dysfunktionen exzitatorischer Neurone vor allem im HIPP aber auch in der Amygdala induzieren.

Neonatale Läsionen trennen den HIPP von seinem wichtigsten Eingang und induzieren einen Verlust GABAerger Interneurone. Folge ist eine Reduktion der inhibitorischen Kontrolle über den exzitatorischen Ausgang der Projektionsneurone. Dabei bewirkt die Disinhibition glutamaterger Neurone zunächst eine Überfunktion der Ausgangsneurone, da der erregende Eingang corticaler, limbischer und thalamischer Afferenzen ungehemmt weitergegeben wird [ZHANG & REYNOLDS, 2002]. Diese Überaktivität induziert dann über die Projektionen zu corticalen und limbischen Arealen sowie in die Basalganglien und die VTA funktionelle Störungen in cortico-limbisch-striato-pallido-pontinen Netzwerken, die mit zahlreichen Verhaltensdefiziten verbunden sein können [KOCH, 2002]. Neonatale Läsionen des EC induzieren ebenfalls Dysfunktionen der Projektionsbahnen zu anderen subcorticalen Strukturen. Stellvertretend wurde hier wiederum die Amygdala ausgewertet, die jedoch neben dem entorhinalen Eingang noch zahlreiche weitere Projektionen erhält. Ein Verlust GABAerger Interneurone durch eine Störung der Afferenzen aus dem EC beeinflusst deshalb vermutlich die Aktivität anderer Eingänge und führt dadurch zu einer Verzerrung der aus anderen Strukturen ankommenden Informationen.

Ein Verlust der PV-Immunreaktivität könnte jedoch nicht nur auf einer Reduktion der Interneuronenzahl sondern ebenfalls auf einer Veränderung der PV-Expression bei gleichbleibender Zellzahl beruhen [BEASLEY & REYNOLDS, 1997]. In der vorliegenden Studie kann jedoch nicht zwischen einem Verlust der PV-Interneurone und einer Reduktion der PV-Expression ohne Neuronentod unterschieden werden. Diese Möglichkeit kann deshalb nicht vollständig ausgeschlossen werden.

Eine Zählung von Neuronen wird in der Regel stereologisch durchgeführt. Bei dieser drei-dimensionalen Zählmethode werden alle Zellen, die sich beim Durchfokussieren der Ebenen scharf stellen lassen, in einem definierten Teilvolumen

gezählt. Um Doppelzählungen zu vermeiden, werden die Zellen der jeweils ersten Ebene nicht mitgezählt. In der vorliegenden Studie erfolgte die Zählung der PVr-Interneurone jedoch nicht stereologisch. Eine drei-dimensionale Zählung war nicht möglich, da die Interneuronendichte sehr gering war und sich die Zellen im histologischen Schnitt auf einer Ebene befanden. Die hier angewandte Methodik zur Bestimmung der PVr-Interneurone ist nicht unproblematisch, da die Gefahr besteht, dass manche Neurone doppelt gezählt werden [WEST, 1993; WEST, 1999]. In der vorliegenden Studie wurde jedoch die Anzahl der PVr-Interneurone nicht nur in kleinen Teilbereichen der Regionen ermittelt, die dann auf die Gesamtfläche hochgerechnet wurden, sondern jeweils in der gesamten Region durch Zählung aller PVr-Interneurone bestimmt. Außerdem war der Abstand zwischen den ausgezählten Schnitten mit 240 μm recht groß, so dass Doppelzählungen der Interneurone unwahrscheinlich sind.

4.2 Lernverhalten im 8-Arm Radial Maze

4.2.1. Belohnte Alternation

Bei der belohnten Alternation im 8-Arm Radial Maze, einem Test zur spezifischen Messung der WM-Kapazität, trat bei neonatal läsionierten Ratten keine generelle Störung des Lernens auf. Es war vielmehr ein einzelner Aspekt des Lernverhaltens verändert, der abhängig von einer zeitlichen Verzögerung war. Nach Einfügen der zeitlichen Verzögerung trat ein selektiver Anstieg der Perseveration auf, ohne die WM-Leistungen zu beeinflussen. Neonatale Läsionen des EC induzierten jedoch trotz dieses Defizits nur eine geringfügige Verschlechterung hinsichtlich des Lernkriteriums, das definiert war als mindestens 80% korrekte Eintritte an mindestens drei aufeinanderfolgenden Tagen oder mindestens 60% korrekte Eintritte an mindestens fünf aufeinanderfolgenden Tagen.

Eine von der Verzögerung abhängige Perseveration im Radial Maze, ähnlich der nach neonatalen Läsionen in der vorliegenden Studie, konnte auch nach adulten Läsionen des EC beobachtet werden [HÖLSCHER & SCHMIDT, 1994; NAGAHARA *ET AL.*, 1995, POUZET *ET AL.*, 1999]. Es gibt allerdings auch Studien, die keinen Anstieg der Perseveration nach adulten EC-Läsionen nachweisen konnten [GALANI *ET AL.*, 2002; KESNER & GILES, 1998; ROTHBLAT *ET AL.*, 1993]. Die Diskrepanz zwischen diesen

Studien beruht vermutlich auf unterschiedlicher Größe und Lokalisation der Läsionen sowie auf dem Einsatz verschiedener Labyrinthaufgaben.

Das Auftreten einer verzögerungsabhängigen Perseveration bei neonatal und adult läsionierten Ratten liegt vermutlich darin begründet, dass der EC an der Aufrechterhaltung sensorischer Informationen über einen kurzen Zeitraum und damit an der Überbrückung zeitlicher Verzögerungen beteiligt ist. YOUNG *ET AL.* [1997] haben gezeigt, dass Neurone des EC während der Verzögerungsphase einer Gedächtnisaufgabe eine anhaltende Aktivität aufweisen. Läsionen des EC können diese Aktivität verhindern und dadurch zu den beobachteten verzögerungsabhängigen Defiziten führen.

Der EC leitet corticale sensorische Informationen zum HIPP weiter und stellt dadurch eine wichtige Eingangsstruktur in den neuronalen Kreislauf des HIPP-Systems dar [WITTER *ET AL.*, 1989]. Neonatale Läsionen des EC können die Entwicklung des HIPP beeinflussen, was in der vorliegenden Studie durch eine Reduktion der Myelinscheide (siehe 4.1.2) sowie der PVr-Interneuronendichte (siehe 4.1.3) im HIPP neonatal läsionierter Ratten nachgewiesen wurde. Diese strukturellen Veränderungen führen vermutlich zu Dysfunktionen der durch den HIPP regulierten Verhaltensweisen, vor allem des räumlichen Lernens.

Eine Inaktivierung des VH bei adulten Ratten verstärkt die Perseveration in einer verzögerten Alternationsaufgabe, während das WM intakt bleibt. Im Gegensatz dazu bewirkt eine Inaktivierung des dorsalen HIPP ein WM-Defizit ohne die Perseveration zu verstärken [MARUKI *ET AL.*, 2001]. Somit kann das in der vorliegenden Studie beobachtete Perseverationsverhalten vermutlich hauptsächlich auf eine veränderte neuronale Entwicklung des VH zurückgeführt werden. Der Einfluss neonataler Läsionen des EC auf die Entwicklung des dorsalen HIPP scheint deutlich schwächer zu sein, weswegen hier kein WM-Defizit auftrat.

HÖLSCHER und SCHMIDT [1994] interpretierten die verzögerungsabhängigen Effekte einer adulten EC-Läsion als Folge einer reduzierten Habituation. Sie haben vermutet, dass diese Ratten sich stärker durch unwichtige äußere Reize ablenken lassen und infolgedessen mehr Fehler machen. Ein charakteristisches Merkmal für ein Habituationsdefizit ist allerdings ein Anstieg der lokomotorischen Aktivität, was jedoch in der vorliegenden Studie in der Aktivitätsbox nicht nachgewiesen werden konnte (siehe 4.5). Deshalb kann das Perseverationsverhalten während der verzögerten Alternation nach neonatalen Läsionen in diesem Fall nicht mit einer

reduzierten Habituationfähigkeit erklärt werden. Zusätzlich deutet die ähnliche Leistung aller Tiere während der belohnten Alternation ohne zeitlicher Verzögerung darauf hin, dass eine Unfähigkeit motorische Programme zu unterdrücken sowie eine Überreaktion gegenüber Umweltreizen nicht für die reduzierte Leistung der neonatal läsierten Ratten bei der verzögerten Version des Tests verantwortlich war. Die Leistung bei Labyrinthaufgaben kann auch durch ein Motivationsdefizit reduziert werden. Alle Ratten haben jedoch die Pellets gleichermaßen konsumiert. Deshalb können die beobachteten Störungen auch nicht mit einer verringerten Motivation der Tiere die Aufgabe durchzuführen in Zusammenhang gebracht werden.

Zusätzlich zu der verzögerungsabhängigen Perseveration treten nach adulten Läsionen des EC vermehrt WME auf, die bei neonatal läsierten Ratten nicht beobachtet wurden. In früheren Untersuchungen wurde dieses WM-Defizit bei adult im EC läsierten Ratten im Radial Maze mit Hilfe eines *4-arm-baited 4-arm-unbaited* Tests nachgewiesen, der höhere Anforderungen an die Ratten stellt, als der hier eingesetzte Test [HÖLSCHER & SCHMIDT, 1994; POUZET *ET AL.*, 1999]. Das fehlende WM-Defizit neonatal läsierten Ratten während der verzögerten Alternation könnte somit auf einer reduzierten Sensitivität des eingesetzten Tests beruhen.

Die belohnte Alternation im 8-Arm Radial Maze ist ein Test, der spezifisch WM-Leistungen misst. Ein Nachteil ist jedoch, dass alle acht Arme mit jeweils einem Caseinpellet belohnt sind. Deshalb kann die Aufgabe von den Ratten leicht durch Anwenden einer egozentrischen Strategie gelöst werden, bei der die Ratte jeweils den benachbarten Arm des zuvor besuchten Arms aufsucht. In der Tat konnte in der vorliegenden Studie bei der Auswertung der Explorationsstrategie gezeigt werden, dass alle Ratten bei der belohnten Alternation sowohl ohne als auch mit zeitlicher Verzögerung 45°-Winkel zwischen den Armbesuchen bevorzugten. Der Einsatz der egozentrischen Strategie wurde dabei vermutlich durch die Wände an den Armen des Labyrinthes begünstigt, da externe Landmarken zur allozentrischen Orientierung aufgrund dieser Wände für die Ratten nicht gut sichtbar waren. Diese Art der Aufgabenlösung ist sehr effizient und verhindert vor allem das Auftreten von WME, da der Test beendet wird, wenn alle acht Arme aufgesucht wurden. Außerdem haben die Ratten in der hier vorliegenden Studie zunächst eine belohnte Alternation ohne Verzögerung gelernt, wobei kein Läsionseffekt auftrat. Diese bereits zuvor gesammelte Erfahrung kann die Leistung während der anspruchsvolleren

verzögerten Version der Aufgabe und dadurch das fehlende WM-Defizit erklären [BUBSER & SCHMIDT, 1990; BURESOVA & BURES, 1982].

Neonatale Läsionen des EC induzierten während der verzögerten Alternation zusätzlich einen Anstieg der Zeit, die zur Durchführung des Tests benötigt wurde. Ein Grund dafür könnte eine durch die Läsion induzierte Hypolokomotion sein. Die spontane Aktivität in der Aktivitätsbox war jedoch bei läsierten Tieren nicht verändert (siehe 4.5). Erst wenn zusätzlich kognitive Leistungen erbracht werden sollten, traten Unterschiede zwischen läsierten und nicht läsierten Ratten auf, so dass eine rein motorische Störung als Ursache unwahrscheinlich ist. Dafür spricht auch, dass bei der belohnten Alternation ohne zeitlicher Verzögerung, die geringere kognitive Anforderungen an die Tiere stellt als die verzögerte Alternation, kein Anstieg der für einen Lauf benötigten Zeit bei neonatal läsierten Ratten auftrat.

4.2.2 Egozentrisches und allozentrisches Lernen

Neonatale Läsionen des EC induzierten im 8-Arm Radial Maze Dysfunktionen beim Erlernen einer egozentrischen Strategie, bei der die Tiere lernen mussten in Bezug auf ihren Körper immer in den rechten benachbarten Arm (45°) zu laufen, und einer allozentrischen Strategie, bei der die Orientierung den Einsatz externer Landmarken erforderte. Dabei war das WM insgesamt gestört (WRME+WPE), während bei beiden Strategien die Anzahl des jeweils ersten Eintritts in einen bei dieser Strategie nicht belohnten Arm (RME) und die Anzahl des jeweils ersten Eintritts in den Zielarm des vorherigen Laufes (egozentrisch) bzw. des Vortages (allozentrisch; PE) zwischen den Gruppen nicht unterschiedlich war. Es trat somit ein Anstieg aller wiederholten Eintritte auf, egal ob es sich um Eintritte in Arme handelte, die bei der aktuellen Strategie nie belohnt waren (WRME) oder um Eintritte in den Zielarm des vorherigen Laufes (egozentrisch) bzw. des Vortages (allozentrisch; WPE). Dies deutet darauf hin, dass der Anstieg der WPE nicht auf eine verstärkte Perseveration sondern vielmehr auf ein reines WM-Defizit zurückgeführt werden kann. Dafür spricht auch, dass nach Zusammenfassen der PE und WPE, also der Parameter zur Auswertung der Perseveration insgesamt, bei neonatal läsierten Ratten keine Defizite auftraten. Die Information über den zuvor besuchten Zielarm scheint bei läsierten Tieren also gestört zu sein, wodurch Perseverationsverhalten verhindert wird. Neonatal läsierte Ratten haben somit aus einem Fehler nicht gelernt und deshalb mehrfach die falschen Arme aufgesucht, was als Zeichen für ein gestörtes WM gilt,

das im Gegensatz zum RM Informationen nur während eines Laufes, nicht aber zwischen verschiedenen Läufen speichert. Weiterhin traten keine Unterschiede hinsichtlich des Lernkriteriums auf. Somit waren bei diesen Tests, wie auch bei der belohnten Alternation, lediglich Teilaspekte des Lernens betroffen.

Das Auftreten eines WM-Defizits bei der allozentrischen Strategie entspricht früheren Studien in denen gezeigt wurde, dass adulte Läsionen des EC in einem *4-arm-baited 4-arm-unbaited* Test ebenfalls Defizite bei der Akquisition räumlicher Aufgaben induzieren [HÖLSCHER & SCHMIDT, 1994], wobei diese Störungen im Gegensatz zu den neonatalen Läsionen nur bei allozentrischen, nicht jedoch bei egozentrischen Aufgaben auftraten. Es gibt jedoch auch einige Studien, die nur geringfügige oder keine Dysfunktionen bei allozentrischen räumlichen Tests nach adulten Läsionen nachweisen konnten [BANNERMAN *ET AL.*, 2001; HAGAN *ET AL.*, 1992; POUZET *ET AL.*, 1999]. In diesen Studien wurde allerdings mit dem Morris Water Maze gearbeitet, das eine geringere Anforderung an die räumliche Navigationsfähigkeit der Ratten stellt als das 8-Arm Radial Maze und deshalb weniger sensitiv auf Dysfunktionen des räumlichen Lernens reagiert [BANNERMAN *ET AL.*, 2001]. Dies zeigt, dass die Auswahl der Tests für die Aufdeckung bestehender Dysfunktionen entscheidend ist.

Der HIPP ist diejenige Struktur, die maßgeblich an der Regulation des räumlichen Lernens beteiligt ist. In zahlreichen Studien wurde gezeigt, dass neonatale [CHAMBERS *ET AL.*, 1996; LE PEN *ET AL.*, 2000] und adulte [FLORESCO *ET AL.*, 1997; JARRARD, 1993; MORRIS *ET AL.*, 1990] Läsionen des HIPP Dysfunktionen des räumlichen Lernens in verschiedenen Labyrinthaufgaben induzieren. Dabei codiert der HIPP die Beziehung zwischen verschiedenen Umweltstimuli und reguliert dadurch allozentrisches Lernen. Die egozentrische Navigation ist dabei nicht betroffen [CHANG & GOLD, 2003; COMPTON *ET AL.*, 1997; DEVAN *ET AL.*, 1996; JARRARD, 1995]. Neonatale Läsionen des EC stören die Entwicklung der Projektionen zum HIPP und induzieren dadurch vermutlich das beobachtete WM-Defizit beim Erlernen der allozentrischen Strategie. Die Auswirkungen dieser Läsion auf die Akquisition der egozentrischen Strategie können jedoch nicht mit hippocampalen Fehlfunktionen erklärt werden.

Im Gegensatz zum allozentrischen Lernen wird egozentrisches Lernen nicht vom HIPP sondern von anderen limbischen Regionen, wie z.B. der Amygdala und dem Striatum, reguliert. In verschiedenen Studien wurde gezeigt, dass adulte Läsionen

des Striatums [BRASTED *ET AL.*, 1997; COOK & KESNER, 1988; KESNER *ET AL.*, 1993] und neonatale Läsionen der Amygdala [HANLON & SUTHERLAND, 2000] Störungen beim egozentrischen, nicht aber beim allozentrischen Lernen induzieren. Auffällig ist, dass diese Störungen vor allem auftreten, wenn kleine Winkel (45°) gelernt werden sollen [KESNER *ET AL.*, 1989], während beim Erlernen größerer Winkel (135°) nur minimale Störungen vorhanden sind [POTEGAL, 1969]. Dies wird unterstützt durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie, die ein WM-Defizit nach neonatalen Läsionen des EC ergaben, wenn die Ratten jeweils 45° -Winkel laufen sollten. Neonatale Läsionen des EC induzieren somit nicht nur eine Störung des HIPP, die Defizite beim Erlernen der allozentrischen Strategie erklären, sondern zusätzlich Dysfunktionen der Amygdala und des Striatums, die das egozentrische Lernen kleiner Winkel beeinträchtigen und dadurch zu einem Anstieg der WME führen.

Eine Störung der Aufmerksamkeitskontrolle wird ebenfalls als eine mögliche Ursache für Defizite des räumlichen Lernens angesehen [AWH & JONIDES, 2001; WALL & MESSIER, 2001]. Die Tiere sind dann nicht in der Lage ihre Aufmerksamkeit auf relevante Informationen zu fokussieren und lassen sich deshalb durch irrelevante Stimuli leicht ablenken. Das WM-Defizit bei neonatal läsierten Ratten war jedoch auch bei einer nicht-räumlichen egozentrischen Aufgabe vorhanden, bei der störende und ablenkende Außenreize durch die Wände des Labyrinthes minimiert wurden. Zusätzlich trat bei der späteren Messung der PPI kein Defizit auf, welches auf eine gestörte Regulation der Aufmerksamkeit hinweisen würde (siehe 4.6). Aus diesem Grund ist ein Aufmerksamkeitsdefizit als mögliche Erklärung für die schlechte Leistung der Ratten unwahrscheinlich. Die Ergebnisse deuten vielmehr darauf hin, dass der EC eine wichtige Struktur innerhalb des Systems darstellt, das an allozentrischem und egozentrischem Lernen beteiligt ist und eine Rolle für die Gedächtnisbildung oder den Zugriff auf WM-Inhalte spielt.

Neonatale Läsionen des EC induzierten beim Erlernen beider Aufgaben einen Anstieg der Zeit, die zur Durchführung der täglichen Tests benötigt wurde. Dies entspricht den Ergebnissen der verzögerten Alternation und bekräftigt die Hypothese, dass kognitive Anforderungen der Tests, nicht aber eine Störung motorischer Programme, für dieses Defizit verantwortlich sind.

4.3. Verhaltensflexibilität im Cross Maze

Neonatale Läsionen des EC induzierten beim Wechseln zwischen einer räumlichen allozentrischen und einer nicht-räumlichen egozentrischen Strategie im Cross Maze ein Defizit bei der Verhaltensflexibilität. Dabei waren zunächst beide Strategien betroffen. Im weiteren Verlauf der Tests beharrten die läsierten Ratten jedoch beim Wechsel zu der egozentrischen Strategie auf der allozentrischen Strategie, während der umgekehrte Wechsel problemlos war. Zusätzlich reduzierte eine chronische Behandlung mit Dizocilpin ebenfalls die Verhaltensflexibilität beim Wechsel von der allozentrischen zu der egozentrischen Strategie bei allen Gruppen unabhängig von der Läsion. Eine Interaktion zwischen der neonatalen Läsion und der chronischen Dizocilpin-Behandlung trat also nicht auf.

Bereits beim Erlernen (Training) der allozentrischen und egozentrischen Strategie, die für diesen Test verwendet wurden, induzierten neonatale Läsionen des EC ein generelles WM-Defizit (WRME+WPE), während keine Dysfunktionen des RM auftraten. Dies entspricht den Ergebnissen der anspruchsvolleren, zuvor im 8-Arm Radial Maze durchgeführten allozentrischen und egozentrischen Lernaufgabe (siehe 4.2.2). Bei den Versuchen im Cross Maze stand die Messung der Verhaltensflexibilität im Vordergrund. Deshalb wurde die Methodik im Vergleich zum 8-Arm Radial Maze abgeändert und dadurch den Ratten das Erlernen der Strategien erleichtert. Dabei wurde durch eine Reduktion der acht Arme auf vier Arme die Anzahl der möglichen Zielarme reduziert. Zusätzlich wurde die Attraktivität der Zielarme durch eine Verstärkung des Belohnungswertes (vier Pellets statt ein Pellet) gesteigert. Die fehlenden Wände an den Armen erleichterten die Orientierung anhand externer Landmarken beim Anwenden der allozentrischen Strategie. Außerdem blieb der Zielarm während der gesamten Versuche konstant und die Ratten wurden nach einem Fehleintritt zur Wiederholung des Laufes zurück in den Startarm gesetzt, was es den Ratten erleichterte einen Zusammenhang zwischen dem Start- und dem Zielarm herzustellen. Zusätzlich wurden durch die angstauslösende Höhe des Labyrinthes ohne Wände unüberlegte und zufällige Eintritte reduziert. Trotz dieser Unterschiede traten bei neonatal läsierten Ratten in beiden Labyrinthen übereinstimmende Ergebnisse auf, die bekräftigen, dass der EC eine wichtige Struktur für die Regulation des WM, nicht aber für die Bildung des RM ist und frühere Ergebnisse bestätigen, die die Bedeutung des EC bei der Akquisition

von Gedächtnisinhalten beschrieben haben [HÖLSCHER & SCHMIDT, 1994; POUZET *ET AL.*, 1999].

Beim ersten Umlernen von der egozentrischen auf die allozentrische Strategie und umgekehrt, war der jeweils erste Eintritt in einen inkorrekten Arm (RME und PE) zwischen den Gruppen nicht unterschiedlich. Es traten jedoch bei beiden Strategien Dysfunktionen des WM auf, die vorrangig darin begründet waren, dass die Ratten wiederholt Arme besuchten, die auf der falschen Strategie beruhen, und somit auf der zuvor gelernten Strategie beharrten (WPE). Die Anzahl wiederholter Eintritte in andere nicht belohnte Arme (WRME) war im Gegensatz zu dem zuvor durchgeführten Training nicht betroffen. Diese Ergebnisse deuten auf ein verstärktes Perseverationsverhalten neonatal läsionierter Tiere bei intaktem RM hin. Zusätzlich benötigten die läsionierten Ratten mehr Tage bis zum Erreichen des Lernkriteriums. Neonatale Läsionen des EC reduzierten somit die Fähigkeit der Tiere eine neue Strategie anzuwenden und ihr Verhalten entsprechend anzupassen. In einem späteren Stadium des Tests war die Leistung nur noch beim Wechsel von der allozentrischen auf die egozentrische Strategie reduziert, der umgekehrte Wechsel war nicht beeinträchtigt. Dabei trat wiederum ein WM-Defizit verbunden mit einem Anstieg der Perseveration auf. Das Erlernen eines Wechsels von einer egozentrischen auf eine allozentrische Strategie war somit auch nach neonatalen Läsionen möglich, während die Fähigkeit auf eine egozentrische Strategie zu wechseln gestört blieb.

In verschiedenen Studien an Ratten, Affen und Menschen wurde gezeigt, dass der NAC wichtig für automatisiertes Verhalten bei der Gedächtnisbildung und somit an egozentrischem Lernen beteiligt ist, während der HIPP eher allozentrisches Lernen reguliert [KESNER *ET AL.*, 1993; WHITE, 1997]. Eine Interaktion zwischen dem HIPP und dem NAC spielt vermutlich eine entscheidende Rolle beim Wechsel zwischen verschiedenen Strategien. Dabei sendet der HIPP über das Subiculum ein sogenanntes „*switching signal*“ zum NAC, wodurch ein Wechsel zu einer alternativen Verhaltensantwort ausgelöst wird [GAL *ET AL.*, 1997]. Neonatale Läsionen des EC beeinträchtigen die Akquisition der beiden Strategien vermutlich, wie auch im 8-Arm Radial Maze, über die Störung hippocampaler und striataler Verbindungen. Zusätzlich scheint die Interaktion zwischen dem HIPP und dem NAC gestört zu sein. Frühere Studien ergaben, dass Ratten zur Lösung einer Labyrinthaufgabe zunächst eine allozentrische Strategie einsetzen, die mit der Aktivierung des HIPP verbunden

ist. Bei fortschreitendem Training tritt eine Aktivierung des NAC auf, die die Aktivität des HIPP überdeckt, und die Tiere wechseln zu einer egozentrischen Strategie [CHANG & GOLD, 2003]. Dieser Mechanismus scheint bei den neonatal läsierten Tieren gestört zu sein, wodurch das Erlernen eines Wechsels von der egozentrischen zu der allozentrischen Strategie zwar möglich ist, jedoch ein Defizit beim Wechseln von der allozentrischen zu der egozentrischen Strategie auftritt.

Die schlechte Leistung der neonatal läsierten Ratten bei der egozentrischen Strategie könnte außerdem darauf zurückgeführt werden, dass dieser Wechsel eine höhere Anforderung an die Ratte stellt als der Wechsel zu einer allozentrischen Strategie. Jedoch scheinen allozentrische und egozentrische Orientierungsaufgaben einen ähnlichen Schwierigkeitsgrad zu besitzen, da nicht-läsierte Ratten beide Strategien mit ähnlicher Geschwindigkeit erlernten.

Die Dysfunktion beim Wechsel zu der egozentrischen Strategie könnte ebenfalls darauf beruhen, dass sich neonatal läsierte Ratten in dem offenen Cross Maze bevorzugt anhand ihrer Umgebung, also allozentrisch, orientierten und dadurch das Erlernen einer egozentrischen Strategie unterdrückt wurde. Da bei diesem Test jedoch der Start- und damit auch der Zielarm zufallsverteilt von Lauf zu Lauf gewechselt wurde, war eine Orientierung anhand externer visueller Landmarken nicht möglich. Zusätzlich wiesen die neonatal läsierten Tiere in dem geschlossenen 8-Arm Radial Maze, in dem eine Orientierung an externen Landmarken nicht möglich war, ebenfalls ein Defizit bei der egozentrischen Strategie auf. Ratten sind normalerweise sehr gut in der Lage, sich in einem völlig dunklen, geschlossenen Labyrinth zu orientieren [SARTER & STECKLER, 1989]. Deshalb liegt hier bei neonatal läsierten Tieren vermutlich eine generelle Störung beim Erlernen dieser Strategie vor.

Eine chronische Behandlung mit Dizocilpin induzierte bei allen Ratten ein Defizit beim Wechsel von der allozentrischen zur egozentrischen Strategie, nicht aber beim Wechsel von der egozentrischen zur allozentrischen Strategie. Dies war, wie auch nach neonatalen Läsionen des EC, durch eine verstärkte Perseveration gekennzeichnet, während das RM nicht beeinträchtigt war. Im Gegensatz zu neonatalen Läsionen des EC trat jedoch nicht nur beim Anwenden der egozentrischen, sondern auch bei der allozentrischen Strategie ein Anstieg der WM-Fehler insgesamt auf. Die mit Dizocilpin behandelten Ratten konnten sich somit

bei beiden Strategien nicht daran erinnern, welche Arme sie bereits aufgesucht hatten.

Beim Menschen treten kognitive Defizite nach chronischem Missbrauch von PCP auf. Die meisten Psychosen, wie auch die Schizophrenie, stellen zudem eine chronische Erkrankung dar, die auf andauernden Dysfunktionen unter anderem des glutamatergen Systems beruhen. Daher wird eine chronische Behandlung mit NMDA-Rezeptor-Antagonisten als geeigneteres Paradigma zur Induktion kognitiver Defizite bei der Ratte angesehen als eine einmalige akute Applikation. Trotzdem gibt es nur wenige Studien, in denen die chronischen Effekte von NMDA-Rezeptor-Antagonisten untersucht wurden [JENTSCH *ET AL.*, 1998; JENTSCH & ROTH, 1999].

Die Bedeutung der NMDA-Rezeptoren für Lernen und Gedächtnis konnte in zahlreichen Studien nachgewiesen werden. Diese Untersuchungen ergaben kognitive Dysfunktionen vor allem hinsichtlich des WM und der Perseveration nach chronischer [JENTSCH & ROTH, 1999; KRETSCHMER & FINK, 1999] wie auch nach akuter Dizocilpin-Behandlung [BISCHOFF & TIEDTKE, 1992; LIPSKA & WEINBERGER, 2000; SHAPIRO & O'CONNOR, 1992]. Dabei wurde jedoch in der Regel der Einfluss der NMDA-Rezeptor-Antagonisten auf die Akquisition und nicht auf die Leistung bei räumlichen Aufgaben untersucht. Da in der vorliegenden Studie die Aufgaben ohne Substanzgabe erlernt wurden, kann hier keine Aussage über die Effekte einer chronischen Dizocilpin-Behandlung auf die Akquisition der Strategien getroffen werden.

Die reduzierte Verhaltensflexibilität zeigt, dass das Abrufen zuvor gelernter egozentrischer Informationen nach einer Dizocilpin-Behandlung langfristig gestört ist. Dies widerspricht verschiedenen Untersuchungen, die gezeigt haben, dass bei Tieren, die bereits vor der Behandlung trainiert wurden, auch nach höheren akuten Dosierungen keine kognitiven Defizite auftreten [HEALE & HARLEY, 1990; WHISHAW & AUER, 1989]. Da in der vorliegenden Studie die Aufgabe jedoch nicht nur darin bestand, zuvor gelernte Informationen wieder abzurufen, sondern zusätzlich eine Unterdrückung anderer, zuvor geforderter und durch eine Belohnung verstärkter Verhaltensmuster erforderlich war, könnte dies einen Grund für diese Diskrepanz darstellen. Dafür spricht auch, dass eine chronische Behandlung mit dem NMDA-Rezeptor-Antagonisten PCP die Fähigkeit reduziert, von einer belohnten auf eine zuvor nicht-belohnte Antwort zu wechseln. Dies wurde von den Autoren dahingehend interpretiert, dass PCP Defizite bei der Fähigkeit ein zuvor erlerntes

Verhaltensmuster zu unterdrücken bewirkt und dadurch eine Anpassung an neue Bedingungen erschwert [JENTSCH & TAYLOR, 2001]. In der vorliegenden Studie konnte jedoch lediglich ein Defizit beim Wechsel von der räumlichen (allozentrischen) auf die nicht-räumliche (egozentrische) Strategie beobachtet werden. Frühere Untersuchungen ergaben, dass eine akute Behandlung mit NMDA-Rezeptor-Antagonisten die Akquisition einer allozentrischen Aufgabe im Morris Water Maze stört. Eine Behandlung bereits zuvor ohne Substanzgabe trainierter Tiere induzierte hingegen kein Leistungsdefizit [BANNERMAN *ET AL.*, 1995; CAIN, 1997]. NMDA-Rezeptoren sind somit für die synaptischen Mechanismen von Bedeutung, die allozentrischem und egozentrischem Lernen sowie dem Abrufen egozentrischer Informationen unterliegen, jedoch nicht für das Abrufen bereits gelernter allozentrischer Informationen.

Die chronische Behandlung mit Dizocilpin induzierte vergleichbare Effekte wie die neonatale Läsion des EC. Diese Effekte traten jedoch bei allen Ratten unabhängig von der neonatalen EC-Läsion gleichermaßen auf. Die fehlende Interaktion zwischen der neonatalen Läsion des EC und der chronischen Behandlung mit Dizocilpin deutet darauf hin, dass der EC die Verhaltensflexibilität über andere neuronale Schaltkreise reguliert als die NMDA-Rezeptor-Antagonisten und dadurch lediglich ein additiver, nicht aber ein überadditiver Effekt auftritt. Im Gegensatz dazu konnten KESEBERG und SCHMIDT [1995] in der Umlernphase eines *4-arm-baited 4-arm-unbaited* Tests im Radial Maze eine Leistungseinbuße durch Dizocilpin nur bei Ratten mit adulten EC-Läsionen nachweisen, was auf eine verstärkte Sensitivität der läsierten Ratten gegenüber dieser Substanz hindeutet, die jedoch nach neonatalen Läsionen des EC nicht auftrat. Dabei beeinträchtigte diese akute niedrigdosierte Behandlung (0,04 mg/kg) die Leistung nicht-läsionierter Ratten nicht. Im Gegensatz dazu erfolgte die Behandlung mit Dizocilpin in der vorliegenden Studie zweimal täglich über sieben Tage mit einer Dosis von jeweils 0,5 mg/kg. Diese chronische hochdosierte Behandlung mit Dizocilpin induzierte auch bei Sham und Kontrollratten deutliche Defizite, so dass denkbar ist, dass eine Hypersensitivität neonatal läsiertter Ratten hier aufgrund eines *ceiling* Effektes verdeckt war. Außerdem konnte bereits in früheren Untersuchungen gezeigt werden, dass eine chronische Behandlung mit NMDA-Rezeptor-Antagonisten langanhaltende neurotoxische Effekte in limbischen Strukturen hervorruft [OLNEY & FARBER, 1995] und zusätzlich die Aktivität in verschiedenen corticalen und subcorticalen Bereichen

verändert [DUNCAN *ET AL.*, 1998], was vermutlich für die beobachteten Dysfunktionen der Verhaltensflexibilität auch bei nicht-läsionierten Ratten verantwortlich ist.

Für die chronische Behandlung mit Dizocilpin wurde in der vorliegenden Studie eine hohe Dosis eingesetzt, in der Dizocilpin starke Nebenwirkungen besitzt (z.B. Hyperlokomotion, Stereotypien und Ataxie). Diese Nebenwirkungen können mit der Fähigkeit der Tiere verschiedene Verhaltenstests durchzuführen interferieren und dadurch für die schlechten Leistungen verantwortlich sein. Während der Behandlung trat bei allen Ratten zunächst eine starke Ataxie und Hyperlokomotion mit folgender Sedation auf. Zusätzlich kam es zu einem deutlichen Gewichtsverlust der Tiere. Mit den Versuchen wurde jedoch erst eine Woche nach Beenden der Behandlung wieder begonnen. Zu diesem Zeitpunkt hatten die Ratten ihr Ursprungsgewicht wieder erreicht und es konnten keine offensichtlichen Nebenwirkungen mehr beobachtet werden. Die nach der chronischen Behandlung mit Dizocilpin beobachtete Reduktion der Verhaltensflexibilität beruhte somit wahrscheinlich nicht auf unerwünschten Nebeneffekten dieser Substanz.

4.4 Motivation

Neonatale Läsionen des EC reduzierten die Bereitschaft der Ratten bei ansteigender instrumenteller Anforderung weiterhin für eine Belohnung zu arbeiten. Dies war vor allem durch eine Reduktion des *breakpoint* gekennzeichnet, der den Zeitpunkt angibt, an dem eine Ratte nicht mehr bereit ist, den geforderten Aufwand für den Erhalt einer Belohnung zu erbringen [HODOS, 1961]. Zusätzlich war die kumulative Hebeldruckrate neonatal läsionierter Ratten reduziert.

Die Interpretation des *breakpoints* ist nicht unproblematisch, da er von einer Vielzahl verschiedener motivationaler und nicht-motivationaler Faktoren abhängig ist [STAFFORD & BRANCH, 1998; STEWART, 1975]. Zusätzlich bestehen Unterschiede bei der Definition der *breakpoint*-Kriterien sowie bei der Durchführung des PR-Tests, z.B. hinsichtlich der Anforderungen in den einzelnen Phasen [STAFFORD & BRANCH, 1998; STEWART, 1975]. Für die Interpretation der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit gibt es deshalb mehrere Ansatzpunkte.

Eine Reduktion des *breakpoint* wird in der Regel als verringerte Motivation [BARR & PHILLIPS, 1999; CILIA *ET AL.*, 2001; HO *ET AL.*, 2003; MOBINI *ET AL.*, 2000] oder als ein Anstieg der Frustration bei Ausbleiben einer erwarteten Belohnung [PONCELET

ET AL., 1983; STEWART, 1975] interpretiert. Diese Interpretation würde nahelegen, dass neonatale Läsionen des EC die Motivation der Tiere, also die Bereitschaft die geforderte Leistung für eine Belohnung zu erbringen, reduzierten. Eine wichtige Bedeutung kommt in diesem Zusammenhang der Erwartungshaltung der Ratten hinsichtlich des Erhalts einer Belohnung zu (*reward expectancy*). Das unerwartete Ausbleiben einer erwarteten Belohnung kann zu Extinktionsprozessen sowie zu einer aversiven Frustrationsempfindung führen, die mit der Induktion einer Stressantwort verbunden ist, und dadurch den *breakpoint* reduziert [STEWART, 1975]. Eine Unterscheidung zwischen reduzierter Motivation und aversiver Frustration ist in der vorliegenden Studie jedoch nicht möglich.

Die Motivation, für eine Belohnung zu arbeiten, ist mit einer gesteigerten Aktivität im mesolimbischen DA-System verbunden, die das appetitive Verhalten auf Basis der Kosten der Antwort und des Belohnungswertes reguliert, während das opioide System eher für die konsumatorische Phase von Bedeutung ist [BERRIDGE, 1996; BERRIDGE & ROBINSON, 1998; MARTEL & FANTINO, 1996; SPANAGEL & WEISS, 1999]. Die Regionen, die an der Regulation des operanten Verhaltens während des PR-Tests beteiligt sind, sind kaum bekannt. Läsionsstudien deuten jedoch darauf hin, dass dem NAC, der Motivation in eine motorische Handlung übersetzt [EAGLE ET AL., 1999; MOGENSEN ET AL., 1993; ROBERTS, 1989], aber auch dem PPTg [ALDERSON ET AL., 2002] dabei eine wichtige Rolle zukommt. Viele limbische Strukturen einschließlich des EC, des HIPP und der Amygdala senden Projektionen zum NAC und von dort in den striato-thalamo-corticalen Kreislauf. Neonatale Läsionen des EC stören die Entwicklung glutamaterger Bahnen zum NAC, die präsynaptisch mit dopaminergen Projektionen der VTA interagieren. Folge ist ein Anstieg der mesolimbischen DA-Freisetzung [BROWN & PLUCK, 2000; ROBBINS & EVERITT, 1996]. Eine durch die neonatale Läsion induzierte Myelinisierungsstörung sowie ein Verlust von Interneuronen in weiteren wichtigen Projektionsgebieten des EC (HIPP und Amygdala, siehe 4.1.2 und 4.1.3) deutet darauf hin, dass neonatale Läsionen zusätzlich Dysfunktionen dieser Regionen induzieren, die dann sekundär ebenfalls die DA-Freisetzung im NAC beeinflussen können. Dabei spielt vor allem die Amygdala eine besonders wichtige Rolle bei der Regulation der Belohnungserwartung. Läsionen der BLA unterbrechen operantes Verhalten als Antwort auf einen konditionierten Stimulus, der eine Belohnung vorhersagt [HORVITZ, 2002]. Diese Störungen der Konnektivität subcorticaler und corticaler Strukturen sind

vermutlich für die Veränderungen des operanten Verhaltens während der PR-Aufgabe verantwortlich. In Übereinstimmung mit dieser Hypothese wurde in verschiedenen Studien gezeigt, dass eine glutamaterge Hypofunktion durch systemische Injektion des NMDA-Rezeptor-Antagonisten PCP sowie eine dopaminerge Hyperfunktion durch Behandlung mit dem DA-Rezeptor-Agonisten Amphetamin den *breakpoint* reduzieren [BARR & PHILLIPS, 1999].

Der *breakpoint* stellt ein Maß für die relative Stärke einer Belohnung dar [CHEETA ET AL., 1995]. Eine Reduktion des *breakpoint* kann deshalb auch auf einer Verringerung der empfundenen Belohnungsstärke des primären Verstärkers beruhen [HODOS, 1961]. In diesem Zusammenhang kommen olfaktorischen und gustatorischen Faktoren eine besondere Bedeutung zu. Neonatale Läsionen des EC veränderten jedoch weder den Gesamtfutterkonsum noch die Futter-Präferenz für die Caseinpellets bei freier Verfügbarkeit von Caseinpellets und Laborfutter. Dies zeigt einerseits, dass die neonatalen Läsionen des EC die Verstärkerwirkung der Caseinpellets nicht reduziert haben und sich der hedonische Wert der Belohnung für die Ratten somit nicht geändert hat, andererseits deutet die unveränderte Futterpräferenz läsionierter Tiere darauf hin, dass durch die Läsion die Geschmacks- und Geruchswahrnehmung der Ratten nicht beeinträchtigt wurde.

Ein weiterer Faktor, der die Wirksamkeit der Belohnung beeinflussen kann, ist der Motivationszustand der Ratte. In früheren Studien wurde gezeigt, dass bei hungrigen Ratten der *breakpoint* mit zunehmendem belohnenden Wert, z.B. steigender Anzahl der Futterpellets, ansteigt [REILLY, 1999]. Deshalb kann der Ernährungszustand der Tiere einen Einfluss auf die Leistung im PR Test haben. In der vorliegenden Studie wurden alle Ratten jeweils nach dem Test restriktiv gefüttert, so dass die Ratten während des Tests hungrig waren. Außerdem wurde das Gewicht der Ratten regelmäßig überprüft. Neonatale Läsionen des EC hatten keinen Einfluss auf das Körpergewicht. Dies deutet darauf hin, dass keine Beeinträchtigung des Fressverhaltens läsionierter Tiere auftrat. Zusätzlich konnten bei freier Verfügbarkeit von Caseinpellets und Laborfutter im Futter-Präferenz Test keine Unterschiede zwischen den Läsionsgruppen hinsichtlich des Gesamtfutterkonsums beobachtet werden, was ebenfalls gegen eine läsionsinduzierte Anorexie spricht. Neonatale Läsionen des EC hatten also keinen Einfluss auf die primäre Motivation Futter zu konsumieren (*liking*), reduzierten jedoch vielmehr die Bereitschaft für dieses Futter zu arbeiten (*wanting*).

Eine Reduktion des *breakpoint* könnte ebenfalls durch Dysfunktionen der motorischen Aktivität induziert werden. Eine Beeinflussung der Lokomotion durch die neonatalen Läsionen des EC konnte jedoch in der Aktivitätsbox nicht nachgewiesen werden (siehe 4.5). Deshalb können hier Störungen des Muskeltonus oder der motorischen Koordination, die mit der Fähigkeit zu fressen oder den Hebel zu drücken interferieren könnten, als Erklärung für die Reduktion des Hebeldrückens ausgeschlossen werden. Außerdem traten am letzten Trainingstag keine Unterschiede bei der Anzahl der Hebeldrücke auf. Dies zeigt, dass alle Ratten während des Trainings in der Lage waren, das Hebeldrücken unter einem CRF-Modus zu erlernen.

4.5 Lokomotorische Aktivität

Neonatale Läsionen des EC hatten in keinem der untersuchten Entwicklungsstadien (PND 35, PND 56, Adult) einen Einfluss auf die spontane lokomotorische Aktivität, die durch ein Verhaltensmuster bestehend aus horizontaler (Lokomotion) und vertikaler Aktivität (Aufrichten) charakterisiert ist. Eine akute Applikation des DA-Rezeptor-Agonisten APO bei adulten Ratten induzierte jedoch eine durch horizontale Bewegung gekennzeichnete Hyperaktivität, die bei neonatal läsierten Ratten besonders ausgeprägt war. Im Gegensatz dazu trat nach einer chronischen Behandlung mit dem NMDA-Rezeptor-Antagonisten Dizocilpin eine Hypolokomotion bei allen Gruppen auf. Außerdem stieg das Explorationsverhalten bei allen Ratten mit zunehmendem Alter an und war folglich bei adulten Ratten am stärksten ausgeprägt.

Die lokomotorische Aktivität wird über einen komplexen Schaltkreis reguliert, an dem die Basalganglien sowie limbische und motorische Strukturen beteiligt sind. Dabei stellt der NAC eine zentrale Zwischenstation für die Interaktion zwischen diesen Systemen dar [MOGENSON *ET AL.*, 1993]. Die lokomotorische Aktivität wird durch eine Interaktion zwischen der direkten striato-nigralen und der indirekten striato-pallidalen Bahn reguliert (siehe 1.4.4). Dabei induziert ein Anstieg der striatalen DA-Freisetzung über die direkte striato-nigrale Bahn eine Disinhibition des Thalamus. Folge ist eine Aktivierung motorischer Cortexareale, die mit einer Hyperaktivität verbunden ist [MINK, 1999; WICHMANN & DELONG, 1996]. Die Bedeutung des mesolimbischen DA-Systems bei der Regulation der lokomotorischen Aktivität wurde in zahlreichen Studien nachgewiesen, in denen ein durch Injektion

von DA-Rezeptor-Agonisten induzierter Anstieg der DA-Freisetzung im NAC eine Steigerung der lokomotorischen Aktivität bewirkte [MELE *ET AL.*, 1998; MILLER & ABERCROMBIE, 1996]. Neonatale Läsionen des EC induzieren vermutlich eine Dysregulation exzitatorischer Projektionen, die präsynaptisch mit dopaminergen Projektionen aus der VTA interagieren, einerseits durch eine Unterbrechung der direkten Verbindung zum NAC und andererseits über eine Störung des HIPP und der Amygdala. Folge ist eine Reduktion der tonischen DA-Freisetzung im NAC, die einen Anstieg der phasischen DA-Freisetzung (siehe 1.2.4.3) sowie eine Hypersensitivität gegenüber DA-Rezeptor-Agonisten durch kompensatorische Hochregulation postsynaptischer Rezeptoren bewirkt [CSERNANSKY & BARDGETT, 1998; DUNCAN *ET AL.*, 1999]. Einen Hinweis auf dopaminerge Dysfunktionen nach neonatalen EC-Läsionen gibt eine neurochemische Studie, in der eine dopaminerge Hyperfunktion mesolimbischer und nigrostriataler Systeme nach neonatalen Läsionen des linken EC gezeigt wurde [UEHARA *ET AL.*, 2000].

In zahlreichen früheren Studien wurde bereits gezeigt, dass Läsionen des adulten EC keinen Einfluss auf die spontane lokomotorische Aktivität besitzen [COUTUREAU *ET AL.*, 2000; GOOD & HONEY, 1997; GUTIERREZ-FIGUEROA *ET AL.*, 1997]. Es gibt jedoch auch Untersuchungen, bei denen ein Anstieg der lokomotorischen Aktivität nach adulten Läsionen des EC auftrat [GALANI *ET AL.*, 1998], wobei die Hyperlokomotion allerdings nur in einem sehr kurzen Zeitfenster von wenigen Tagen nach der Operation nachgewiesen werden konnte [FASS, 1983]. Außerdem traten diese Effekte vorwiegend dann auf, wenn elektrolytische oder Aspirationsläsionen eingesetzt wurden [GALANI *ET AL.*, 1998]. Diese Läsionstechniken induzieren häufig Läsionen in benachbarten Regionen, da sie durchziehende Fasern zerstören. Im Gegensatz dazu lösen exzitotoxische Läsionen, bei denen in niedrigen Dosierungen weder benachbarte Regionen noch die Projektionsgebiete des Injektionsortes zerstört werden, keine Hyperlokomotion aus [COUTUREAU *ET AL.*, 2000; GOOD & HONEY, 1997].

Der fehlende Einfluss neonataler und auch adulter Läsionen des EC auf die spontane lokomotorische Aktivität deutet darauf hin, dass die Läsionseffekte unter basalen Bedingungen zunächst von anderen Strukturen, die von der Läsion des EC nicht betroffen waren, kompensiert werden. Die neonatal läsionierten Tiere entwickelten jedoch eine Hypersensitivität gegenüber den lokomotionsstimulierenden Effekten einer akuten APO-Injektion, die nicht mehr kompensiert wurde. Eine

Hypersensitivität gegenüber den lokomotionsstimulierenden Effekten der DA-Rezeptor-Agonisten wurde bereits in früheren Studien nach neonatalen und adulten Läsionen des VH [LIPSKA *ET AL.*, 1993; SCHROEDER *ET AL.*, 1999; SWERDLOW *ET AL.*, 2001b; WAN *ET AL.*, 1996] und auch der Amygdala [HANLON & SUTHERLAND, 2000] beobachtet. Dabei war allerdings bei neonatal läsionierten Ratten bereits die Spontanaktivität erhöht [DAENEN *ET AL.*, 2001; LIPSKA *ET AL.*, 1993].

Zusätzlich zur horizontalen Aktivität stellt die Häufigkeit des Aufrichtens ein Maß für Explorationsverhalten dar [LESTER, 1968]. Durch dieses Verhalten erhält die Ratte einen besseren Überblick über die ihr unbekanntere Umgebung. Eine Behandlung mit APO hatte keinen Einfluss auf dieses Verhalten. Die durch APO induzierte horizontale Hyperaktivität unterdrückt dabei vermutlich das vermehrte Auftreten der vertikalen Aktivität. Außerdem wirkt APO hauptsächlich über das mesolimbische System, das an der Regulation der lokomotorischen Aktivität beteiligt ist [OAKLEY *ET AL.*, 1991]. Die vertikale Aktivität wird somit vermutlich durch andere Systeme reguliert als die horizontale Aktivität.

Die chronische Behandlung mit dem NMDA-Rezeptor-Antagonist Dizocilpin induzierte eine Hypolokomotion, die durch eine Reduktion der horizontalen und vertikalen Aktivität gekennzeichnet war. Eine Hypolokomotion konnte bereits in früheren Untersuchungen nach einer Injektion von Glu-Rezeptor-Antagonisten direkt in den NAC [MOGENSON & NIELSEN, 1984; SCHACTER *ET AL.*, 1989] sowie nach einer Unterbrechung der dopaminergen Innervation des NAC durch 6-OHDA (6-Hydroxydopamin) Läsionen beobachtet werden [KALIVAS *ET AL.*, 1993]. Dabei wurde allerdings die toposelektive Wirkung dieser Substanzen auf den NAC untersucht. Im Gegensatz zu der vorliegenden Studie induziert eine systemische chronische [XU & DOMINO, 1994] und auch akute [LIPSKA & WEINBERGER, 2000; XU & DOMINO, 1994] Behandlung mit Dizocilpin in anderen Untersuchungen einen Anstieg der Lokomotion. Eine mögliche Ursache hierfür ist, dass die Messung dieser lokomotionsstimulierenden Effekte der NMDA-Rezeptor-Antagonisten jeweils kurz nach der Injektion (ein bis drei Tage) erfolgte, so dass Langzeiteffekte nicht erfasst wurden. In einer weiteren Studie wurde gezeigt, dass eine chronische Gabe des NMDA-Rezeptor-Antagonisten PCP einen Anstieg der lokomotorischen Aktivität induziert, der bereits nach 14 Tagen wieder Kontrollniveau erreicht und somit nicht permanent ist [CASTELLANI & ADAMS, 1981]. Allerdings wurden zu späteren Zeitpunkten keine weiteren Messungen durchgeführt. Deshalb ist die weitere

Entwicklung der lokomotorischen Aktivität nach der chronischen PCP-Gabe unklar. In der vorliegenden Studie erfolgte die Messung der Aktivität erst etwa vier Wochen nach Beenden der chronischen Dizocilpin-Behandlung. Hier wurde also erstmals der Langzeiteffekt einer solchen Behandlung überprüft. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass eine akute sowie eine chronische Behandlung mit Dizocilpin bei einer Messung kurz nach der Behandlung zwar eine Hyperaktivität induziert, im Gegensatz dazu jedoch als Langzeiteffekt nach einer chronischen Behandlung eine Hypolokomotion auftritt.

Eine Hypolokomotion wurde ebenfalls direkt nach einer chronischen Behandlung neonataler Ratten mit Dizocilpin nachgewiesen, die jedoch bei adulten Ratten nicht mehr vorhanden war [LATYSHEVA & RAYEVSKY, 2003]. Dies deutet darauf hin, dass NMDA-Rezeptor-Antagonisten in einem nicht ausgereiften glutamatergen System gegenteilige Effekte zu einem vollständig ausgereiften System besitzen. Bei Ratten wird die Zusammensetzung der NMDA-Rezeptor-Untereinheiten des unreifen Systems erst in der dritten postnatalen Woche durch die der adulten Zusammensetzung ersetzt [SIRCAR, 2000; WENZEL *ET AL.*, 1997]. Neonatale Läsionen des EC können somit in der frühen postnatalen Periode die Entwicklung und Ausreifung des glutamatergen Systems unterbrechen und dadurch zu strukturellen, neurochemischen und auch funktionellen Veränderungen führen, die vermutlich mit Veränderungen der NMDA-Rezeptor-Untereinheiten verbunden sind. In diesem nicht vollständig ausgereiften System könnte Dizocilpin dann bei adulten Ratten ein Verhalten induzieren, das demjenigen neonatal behandelte Ratten ähnelt. Diese Hypothese ist jedoch unwahrscheinlich, da eine Hypolokomotion in der vorliegenden Studie auch bei nicht läsierten Tieren auftrat.

Neonatale Läsionen des EC hatten keinen Einfluss auf die Auswirkungen der chronischen Dizocilpin-Behandlung. Im Gegensatz dazu tritt nach neonatalen Läsionen des VH [AL-AMIN *ET AL.*, 2000; AL-AMIN *ET AL.*, 2001] und auch der Amygdala [DAENEN *ET AL.*, 2003] eine Hypersensitivität gegenüber den lokomotionsstimulierenden Effekten einer akuten systemischen Dizocilpin-Gabe auf, während adulte Läsionen des VH keine Hypersensitivität induzierten [AL-AMIN *ET AL.*, 2001]. Es wurde jedoch noch nicht geprüft, ob eine Interaktion zwischen neonatalen Läsionen dieser Regionen und einer chronischen Dizocilpin-Behandlung auftritt.

Der in der vorliegenden Studie beobachtete Anstieg der horizontalen und vertikalen Aktivität mit zunehmendem Alter der Ratten ergibt sich vermutlich aus der

Funktion dieses Verhaltens. Lokomotorische Aktivität ist erforderlich für die Nahrungssuche, den Nestbau, sowie den Schutz vor Feinden und sichert somit das Überleben der Tiere [SKINNER & GARCIA-RILL, 1993]. Dies trifft vor allem auf adulte Ratten zu, die durch Nahrungsbeschaffung und Auffinden einer sicheren Umgebung für die Aufzucht und den Schutz der Jungtiere sorgen müssen.

Ein weiterer häufig ausgewerteter Parameter ist die Zeit, die während des Tests in der Mitte der Aktivitätsbox verbracht wurde. Die Exploration des Zentrums einer Aktivitätsbox wird von vielen Autoren als ein Zeichen für verringerte Ängstlichkeit angesehen [WOLTERINK *ET AL.*, 2000]. Ratten besitzen von Natur aus eine Aversion gegenüber ungeschützten, offenen Bereichen und halten sich deshalb in der Regel bevorzugt im Randbereich auf. Dabei stellt die Wand der Aktivitätsbox einerseits einen Schutz und andererseits eine Hilfe bei der Orientierung in der unbekanntem Umgebung dar, da Ratten sich als nachtaktive Tiere vor allem mit Hilfe ihrer Vibrissen orientieren. Neonatale Läsionen des HIPP und der Amygdala verstärken die Exploration innerer Felder und induzieren somit eine Reduktion der Ängstlichkeit [DAENEN *ET AL.*, 2002]. Dieser anxiolytische Effekt trat nach neonatalen Läsionen des EC an PND 35 und PND 56 nicht auf. Bei adulten Ratten ergab sich jedoch eine deutliche Tendenz für einen Anstieg der Aufenthaltszeit in inneren Feldern der Aktivitätsbox. APO induzierte ebenfalls bei allen Gruppen einen Anstieg der Exploration ungeschützter Bereiche, wobei sich allerdings keine Hypersensitivität neonatal läsionierter Ratten zeigte. Diese anxiolytische Wirkung des APO wurde bereits in früheren Studien beschrieben [BARTOSZYK, 1998; TALALAENKO *ET AL.*, 1994]. Eine Anxiolyse wurde von verschiedenen Autoren auch nach akuter Dizocilpin-Injektion nachgewiesen [DUNN *ET AL.*, 1989; FRASER *ET AL.*, 1996]. In der vorliegenden Studie war jedoch die Exploration innerer Bereiche der Aktivitätsbox nach Dizocilpin nicht verändert, so dass ein Effekt dieser Substanz auf das Angstverhalten unwahrscheinlich ist. Allerdings kann nicht ausgeschlossen werden, dass auch hier Unterschiede zwischen akuten und chronischen Effekten der Dizocilpin-Behandlung auftreten.

Die Amygdala ist eine wichtige Struktur des limbischen Systems, die maßgeblich an der Vermittlung der Angst beteiligt ist. Läsionen der Amygdala, vor allem des basolateralen Kerns, unterbrechen die Konditionierung von Furcht aber auch angeborene, nicht-konditionierte Furcht [KIM & DAVIS, 1993; STRAUSS *ET AL.* 2003]. Neonatale Läsionen des EC induzierten in der vorliegenden Studie neurochemische

Veränderungen, sowie eine Störung der Amygdala, die durch eine Reduktion der Myelinscheide (siehe 4.1.2) sowie der PVr-Interneuronendichte (siehe 4.1.3) nachgewiesen wurde. Dadurch werden die neuronalen Schaltkreise, die für die Regulation der Angst von Bedeutung sind, beeinträchtigt, wobei jedoch keine Hypersensitivität der Rezeptoren auftritt. Allerdings trat bei präpubertären (PND 35) und jungadulten (PND 56) Ratten kein anxiolytischer Effekt durch die neonatale Läsion auf. Die Regulation des Angstverhaltens ist somit erst nach vollständiger Ausreifung des Gehirns gestört.

Ein wiederholter Aufenthalt der Tiere in der Aktivitätsbox kann ebenfalls Veränderungen der lokomotorischen Aktivität induzieren, da die Umgebung dann nicht mehr neu für die Ratte ist und das Explorationsverhalten dadurch gehemmt wird. Betroffen davon ist in der Regel die Spontanaktivität. In der vorliegenden Studie wurde zunächst die spontane lokomotorische Aktivität der Ratten und später das Verhalten nach der chronischen Behandlung mit Dizocilpin gemessen. Die Zeit zwischen diesen beiden Tests betrug etwa sechs Wochen. Zusätzlich wurde bei diesen Ratten bereits zuvor die Spontanaktivität an PND 35, PND 56 und bei Adulten gemessen, sowie eine Behandlung mit APO durchgeführt. Dabei stieg die lokomotorische Aktivität in den verschiedenen Entwicklungsstadien trotz wiederholter Messungen kontinuierlich an. Zusätzlich trat nach APO bei allen Ratten der erwartete Anstieg der Aktivität sowie eine Hypersensitivität läsionierter Tiere auf. Deshalb ist ein Einfluss wiederholter Messungen als Ursache für die Effekte nach der chronischen Dizocilpin-Behandlung unwahrscheinlich. Im Gegensatz dazu induzierten neonatale Läsionen des VH in einer Studie von WAN *ET AL.* [1996] eine Hyperaktivität an PND 56, die jedoch nur auftrat, wenn die Tiere nicht zuvor an PND 35 getestet wurden. Dabei wurden die Messungen jedoch jeweils in Käfigen durchgeführt, in denen die Ratten aufgewachsen sind, so dass die Tiere mit dieser Umgebung sehr gut vertraut waren.

4.6 Sensorimotorische Informationsverarbeitung

Neonatale Läsionen des EC bewirkten keine Störung der sensorimotorischen Informationsverarbeitung, die über die Messung der PPI bestimmt wurde. Eine akute Behandlung mit APO reduzierte die PPI, während eine chronische Behandlung mit Dizocilpin keinen Einfluss auf die PPI hatte. Neonatale Läsionen des EC verstärkten die PPI-reduzierenden Effekte von APO nicht, verhinderten jedoch das Auftreten eines PPI-Defizits nach einer akuten niedrigdosierten Dizocilpin-Injektion.

Die Regulation der Aktivität und der PPI erfolgt vorwiegend über die DA-Freisetzung im NAC [KOCH, 1999; SWERDLOW *ET AL.* 2001a; WICHMANN & DELONG, 1996]. Neonatale Läsionen des EC induzierten bereits eine Hypersensitivität gegenüber den lokomotionssteigernden Effekten von APO (siehe 4.5), während die basale Aktivität nicht verändert war. Deshalb wurde ein ähnlicher Effekt hinsichtlich der PPI-reduzierenden Effekte von APO erwartet. Ratten mit einer neonatalen Läsion des EC wiesen jedoch bei diesem Test keine verstärkte Empfindlichkeit gegenüber der APO-Behandlung auf.

Eine Hyperaktivität des mesolimbischen DA-Systems ist mit einer Reduktion der PPI verbunden [GEYER *ET AL.*, 2001; KOCH, 1999]. In der vorliegenden Studie reduzierte eine akute Injektion des DA-Rezeptor-Agonisten APO die PPI bei allen Gruppen gleichermaßen. Dieses PPI-Defizit entspricht einer Vielzahl verschiedener Studien, in denen ebenfalls eine Reduktion der PPI nach systemischer Applikation von DA-Rezeptor-Agonisten gezeigt wurde [CAINE *ET AL.*, 1995; DRUHAN *ET AL.*, 1998; MANSBACH *ET AL.*, 1988]. Neonatale und adulte Läsionen des HIPP verstärken die PPI-reduzierenden Effekte dieser Substanzen [LIPSKA *ET AL.*, 1995; SWERDLOW *ET AL.*, 1995; SWERDLOW *ET AL.*, 2000]. Dabei ist nach neonatalen, nicht aber nach adulten Läsionen des HIPP, bereits die basale PPI reduziert. Die Hypersensitivität der im HIPP läsierten Tiere gegenüber APO beruht vermutlich (wie bereits beschrieben, siehe 4.5) auf einer erhöhten Empfindlichkeit postsynaptischer Rezeptoren im NAC, die durch die Störung glutamaterger Projektionen hervorgerufen wird. Im Gegensatz dazu induzierten neonatale Läsionen des EC zwar eine Hypersensitivität der lokomotionssteigernden Effekte von APO (siehe 4.5), sie verstärkten jedoch nicht das durch APO induzierte PPI-Defizit. Bereits in früheren Untersuchungen wurde nachgewiesen, dass eine Stimulation des mesoaccumbalen DA-Systems zwar die lokomotorische Aktivität verstärkt, jedoch keinen Einfluss auf die PPI hat [SCHWIENBACHER *ET AL.*, 2002]. Die Autoren haben daraus geschlossen, dass die

Lokomotion und die PPI durch unterschiedliche neuronale Schaltkreise reguliert werden. Neonatale Läsionen des EC erhöhen somit die Sensitivität postsynaptischer DA-Rezeptoren im NAC nicht in ausreichendem Maße und verhindern dadurch eine Verstärkung der PPI-reduzierenden Effekte von APO bei neonatal läsierten Tieren. Allerdings ist der EC durchaus an der Regulation der basalen PPI beteiligt, da nach adulten Läsionen des EC eine Reduktion der PPI auftritt, die mit einem Anstieg der extrazellulären DA-Konzentration im NAC verbunden ist [GOTO & O'DONNELL, 2002; GOTO *ET AL.*, 2004]. Neonatale Läsionen des EC induzieren ebenfalls eine dopaminerge Hyperfunktion des mesolimbischen Systems [UEHARA *ET AL.*, 2000]. Eine Reduktion der PPI tritt bei diesen Tieren jedoch nicht auf, was darauf hindeutet, dass während der Entwicklung eine Kompensation dieses Defizits stattgefunden hat.

Die Effekte der EC Läsionen bei neonatalen und adulten Ratten stehen im Gegensatz zu den Effekten nach neonataler und adulter Läsion des HIPP. In zahlreichen Studien wurde nachgewiesen, dass Ratten mit neonatalen Läsionen des HIPP postpubertär eine Reduktion der basalen PPI entwickeln, die nach Adultläsion nicht gefunden wird [LE PEN *ET AL.*, 2000; LIPSKA *ET AL.*, 1995; SWERDLOW *ET AL.*, 1995; WOLTERINK *ET AL.*, 2000]. Eine läsionsbedingte Störung des adulten HIPP hat somit keinen Einfluss auf die Regulation der PPI. Eine Stimulation des HIPP mit NMDA ruft jedoch ein PPI-Defizit hervor [KLARNER *ET AL.*, 1998]. Neonatale Läsionen des HIPP induzieren Veränderungen in nachgeschalteten Hirnregionen, die an der Regulation der PPI beteiligt sind, wie z.B. dem NAC oder dem PFC, und bewirken so ein PPI-Defizit. Neonatale Läsionen des EC induzieren durch die Störung der Entwicklung des *perforant path* vor allem Dysfunktionen des HIPP und beeinflussen deshalb die PPI ebenfalls nicht. Zusätzlich induzieren neonatale Läsionen des EC Veränderungen in der Amygdala, für die diesbezüglich ähnliches wie für den HIPP gilt. Wie auch nach Läsionen des HIPP haben adulte Läsionen der Amygdala ebenfalls keinen Einfluss auf die PPI [FENDT *ET AL.*, 2000; WAN & SWERDLOW, 1997], während nach neonatalen Läsionen ein PPI-Defizit auftritt [DAENEN *ET AL.*, 2003]. Deshalb können neonatale Läsionen des EC auch über die Störung der Amygdala kein PPI-Defizit induzieren.

Neben dem dopaminergen System spielt das glutamaterge System eine wichtige Rolle bei der Regulation der PPI. Eine akute [BAST *ET AL.*, 2000; MANSBACH & GEYER, 1989; MARTINEZ *ET AL.*, 1999] und chronische systemische Applikation

[JENTSCH & ROTH, 1999] sowie eine Infusion von NMDA-Rezeptor-Antagonisten in den dorsalen HIPP oder die BLA [BAKSHI & GEYER, 1998] reduzierten die PPI.

In der vorliegenden Studie hatte Dizocilpin etwa fünf Wochen nach der chronischen Behandlung keinen Effekt auf die PPI. Dies bestätigt eine Studie von MARTINEZ *ET AL.* [1999] in der gezeigt wurde, dass eine chronische Behandlung mit NMDA-Rezeptor-Antagonisten die PPI zwar während und kurz nach der Substanzgabe reduziert, jedoch nach Absetzen der Substanz kein permanentes PPI-Defizit induziert. Zusätzlich konnten SCHULZ *ET AL.* [2001] kontext-spezifische Wirkungen einer chronischen Dizocilpin-Behandlung nachweisen. Ein PPI-Defizit tritt nur auf, wenn die chronische Behandlung im Startle-Käfig und nicht im Haltungskäfig stattfindet. Da in der vorliegenden Studie die Substanz jeweils im Haltungskäfig verabreicht wurde, könnte dies ebenfalls ein Grund für die fehlende Langzeitwirkung dieser Behandlung sein.

Eine chronische Behandlung mit NMDA-Rezeptor-Antagonisten kann über einen Anstieg der subcorticalen DA-Freisetzung vor allem im NAC zu einer Sensitivierung der Verhaltenseffekte dieser Substanzen führen [BRESE *ET AL.*, 2002; SCHULZ *ET AL.*, 2001; XU & DOMINO, 1994]. Deshalb wurde zusätzlich der Einfluss der chronischen Dizocilpin-Behandlung auf eine akute niedrigdosierte Dizocilpin-Injektion überprüft. Wie erwartet trat nach akuter Dizocilpin-Gabe bei Sham und Kontrollratten ein PPI-Defizit auf, welches jedoch unabhängig von der chronischen Vorbehandlung war. Es konnte somit keine Sensitivierung der PPI-reduzierenden Effekten von Dizocilpin beobachtet werden. Dies bestätigt die Beobachtung anderer Arbeitsgruppen, die ebenfalls keine langanhaltende Sensitivierung der PPI-reduzierende Effekte einer akuten Dizocilpin-Injektion nach Beenden der chronischen Behandlung nachweisen konnten [GEYER *ET AL.*, 2001]. Bei neonatal läsierten Ratten trat ebenfalls keine Sensitivierung auf. Vielmehr verhinderten neonatale Läsionen des EC das Auftreten eines PPI-Defizits nach akuter Dizocilpin-Injektion. Ein solcher Effekt wurde bereits nach adulten Läsionen des PFC nachgewiesen [SCHWABE & KOCH, 2004]. Der EC scheint somit, wie auch der PFC, eine wichtige Bedeutung innerhalb des neuronalen Schaltkreises zu spielen, der für die PPI-reduzierenden Effekte der NMDA-Rezeptor-Antagonisten verantwortlich ist. Die Bedeutung des EC, aber auch des HIPP und der Amygdala für die Wirkungen der NMDA-Rezeptor-Antagonisten wurde über einen Anstieg der Glucose-Aufnahme nach systemischer Dizocilpin-Injektion nachgewiesen [SHARKEY *ET AL.*, 1996].

Zusätzlich ist die NMDA-Rezeptor-Dichte im Stratum oriens und Stratum radiatum des HIPP besonders hoch. Eine etwas geringere Dichte wurde in der BLA nachgewiesen [SUZUKI *ET AL.*, 1995].

Dizocilpin inaktiviert inhibitorische Interneurone vor allem im HIPP, aber auch im PFC und in der BLA. Dadurch kommt es zu einer Disinhibition exzitatorischer hippocampaler, corticaler und tegmentaler Ausgangsneurone und infolgedessen über die Wirkung an nicht-NMDA-Rezeptoren zu einem Anstieg der Glu-Freisetzung [OLNEY *ET AL.*, 1999]. Außerdem enden glutamaterge Neurone präsynaptisch auf dopaminergen Endigungen im NAC und projizieren zusätzlich indirekt zur VTA, die den wichtigsten Eingang zum NAC darstellt [TABER *ET AL.*, 1995]. Eine Blockade der GABAergen Interneurone resultiert in einer Disinhibition dieser exzitatorischen Neurone. Folge ist ein Anstieg der DA-Freisetzung im NAC, der eine Reduktion der PPI induziert.

Neonatale Läsionen des EC stören die Entwicklung wichtiger Projektionsgebiete und induzieren dadurch strukturelle Dysfunktionen dieser Regionen. Eine Reduktion der PV-Immunreaktivität nach neonatalen Läsionen des EC wurde im HIPP und in der BLA nachgewiesen (siehe 4.1.2). Durch den Verlust der NMDA-Rezeptor-tragenden GABAergen Interneurone fällt der Angriffspunkt für das Dizocilpin weg. Eine Regulation der PPI ist dann nicht mehr möglich.

4.7 Validität als Tiermodell für psychische Erkrankungen

Die Entwicklung geeigneter Tiermodelle für psychische Erkrankungen, wie z.B. der Schizophrenie, ist von großer Bedeutung für die Klärung der pathophysiologischen Mechanismen. Ein Problem stellt jedoch die Komplexität der Symptome, sowie die Störung typisch menschlicher Eigenschaften dar. Deshalb gibt es bisher kein Modell, das die perzeptuellen, kognitiven und emotionalen Aspekte dieser Psychose vollständig nachbildet. Teilaspekte psychischer Störungen können jedoch durchaus tierexperimentell untersucht werden.

Bei der Entwicklung eines Tiermodells für Schizophrenie gibt es verschiedene Ansatzpunkte. Eine frühe Entwicklungsstörung gilt als eine Ursache für die Entstehung schizophrener Störungen. Der Einsatz neonataler Läsionen verschiedener Hirnregionen bei der Ratte bietet hier eine Möglichkeit, die Hirnentwicklung bereits in einem frühen Stadium zu stören. Bei der adulten Ratte

können dann verschiedene Verhaltensdefizite auftreten, die jedoch auch kompensiert werden können. Die neonatale Läsionierung des EC ist in diesem Zusammenhang ein vielversprechender Ansatz, da der EC selbst an der Regulation verschiedener Verhaltensweisen beteiligt ist und außerdem Verbindungen zu zahlreichen Hirnstrukturen hat, deren Entwicklung er mit beeinflusst und seine Läsion dadurch weitere Verhaltensstörungen induzieren kann.

Ein weiterer möglicher Ansatz zur Induktion entwicklungsbedingter Störungen neuronaler Schaltkreise ist die Behandlung mit dem Mitosehemmer MAM. Die Proliferation verschiedener Hirnregionen findet zu unterschiedlichen Zeitpunkten statt. Deshalb kann MAM spezifisch die Entwicklung bestimmter Strukturen stören. So induziert eine Behandlung am embryonalen Tag 12 vor allem im EC subtile morphologische Veränderungen, die mit psychischen Erkrankungen in Verbindung gebracht werden, wie z.B. eine Volumenreduktion sowie eine Desorganisation der corticalen Schichten mit Fehlanordnung der Neurone [TALAMINI *ET AL.*, 1998; TALAMINI *ET AL.*, 1999]. Deshalb wurde die pränatale Behandlung mit MAM zunächst als mögliches Tiermodell für Schizophrenie diskutiert. In einer neueren Studie wurde die Eignung dieses Modells jedoch in Frage gestellt, da trotz dieser morphologischen Defizite keine Dysfunktionen derjenigen Verhaltensweisen auftreten, die als Endophänotypen für Schizophrenie gelten (sensorimotorische Informationsverarbeitung, lokomotorische Aktivität, WM) [JONGEN-RÉLO *ET AL.*, 2004].

Zusätzlich zu den oben beschriebenen Entwicklungsstörungen sind Dysfunktionen des dopaminergen und glutamatergen Systems für das Auftreten der schizophrenen Symptomatik beim Menschen verantwortlich. Eine Behandlung mit DA-Rezeptor-Agonisten und Glu-Rezeptor-Antagonisten, die beim Menschen psychotische Symptome induzieren können, wird deshalb bei der Ratte zur Induktion von Verhaltensdefiziten eingesetzt, die eng mit der schizophrenen Symptomatik verbunden sind. Besonders die chronische Behandlung mit NMDA-Rezeptor-Antagonisten ist hier hervorzuheben. Eine solche Behandlung ist im Gegensatz zu einer akuten Gabe eng mit der Psychopathologie der Schizophrenie verbunden und wird vor allem mit negativen und kognitiven Symptomen schizophrener Störungen in Zusammenhang gebracht [JENTSCH & ROTH, 1999].

Eine Validierung von Tiermodellen ist auf pharmakologischer, physiologischer und Verhaltensebene erforderlich. Ein Tiermodell soll dabei die der Erkrankung zugrunde liegende Ätiologie, sowie die pathophysiologischen Mechanismen reproduzieren

(Konstrukt-Validität) und außerdem die Phänomenologie der Störung nachbilden (Abbild-Validität). Zusätzlich wird von einem geeigneten Modell gefordert, dass eine Vorhersage über die Wirksamkeit bereits bestehender Behandlungsmöglichkeiten getroffen werden kann (prädiktive Validität) [KOCH, 2002].

4.7.1 Neonatale Läsionen des entorhinalen Cortex

4.7.1.1 Morphologie

Neonatale Läsionen des EC induzierten morphologische Veränderungen, die durch Neuronenverlust und eine Volumenreduktion des EC gekennzeichnet waren. Dabei war zwei Tage nach der Läsion zunächst eine Gliose vorhanden, die dann aber bei Adulten abgebaut war. Zusätzlich trat ein Verlust GABAerger Interneurone und eine Reduktion der Myelinscheide im HIPPO und in der Amygdala, zwei wichtigen Projektionsgebieten des EC, auf. Neonatale Läsionen induzierten somit nicht nur Störungen des EC selbst, sondern auch Störungen in wichtigen Projektionsgebieten, die vermutlich für einige der bei adulten Ratten auftretenden Verhaltensdefizite mitverantwortlich sind.

Entwicklungsbedingte psychische Erkrankungen, wie die Schizophrenie, sind durch Neuronenverluste und eine Volumenreduktion u.a. des EC gekennzeichnet. Auffällig ist dabei die fehlende Gliose, die auf eine frühe Entwicklungsstörung hinweist. Es handelt sich also nicht um einen fortschreitenden degenerativen Prozess. Im Vergleich zu den Befunden nach den neonatalen Läsionen bei der Ratte sind die Veränderungen im EC schizophrener Patienten jedoch eher subtiler Art und nur durch verfeinerte histologische Auswertungen nachweisbar. Außerdem ist bei schizophrenen Patienten nicht ausschließlich der EC von diesen Veränderungen betroffen [HARRISON, 1999]. Im Hinblick auf die Untersuchung der pathophysiologischen Prozesse, die schizophrenen Störungen zugrunde liegen, ist eine solche lokale Entwicklungsstörung allerdings aus wissenschaftlicher Sicht von Vorteil. Auf diese Weise können Veränderungen in Projektionsgebieten untersucht werden, die gezielt auf die Entwicklungsstörung im EC zurückgeführt werden können. So induzierten neonatale Läsionen des EC nicht nur Myelinisierungsstörungen und einen Verlust GABAerger Interneurone im HIPPO, dem wichtigsten Projektionsgebiet des EC, sondern auch in der Amygdala, einem weiteren prominenten Projektionsgebiet des EC, das neben dem EC noch Informationen aus anderen

Hirngebieten erhält. Ein Defekt bei der Myelinisierung cortico-limbischer Bahnen wurde in den Gehirnen schizophrener Patienten nachgewiesen und spielt vermutlich eine wichtige Rolle bei der Entstehung der Schizophrenie. Eine Reduktion des Myelins sowie Veränderungen der Myelinstruktur korrelieren mit kognitiven und negativen Symptomen der Schizophrenie [BAUMANN & PHAM-DINH, 2001; TKACHEV *ET AL.*, 2003]. Verschiedene neuropathologische Studien haben außerdem gezeigt, dass eine Reduktion GABAerger Interneurone mit folgender kompensatorischer Hochregulation der GABA_A-Rezeptoren vor allem im HIPP schizophrener Patienten auftritt [BENES, 1999; ZHANG & REYNOLDS, 2002].

Die Ergebnisse der histologischen Auswertung nach neonatalen Läsionen des EC bei der Ratte stimmen somit gut mit neuropathologischen Befunden schizophrener Patienten überein und bestätigen dadurch, dass der EC eine wichtige Rolle für die pathophysiologischen Mechanismen psychischer Erkrankungen spielt. Deshalb besteht eine sehr gute Konstrukt-Validität des neonatalen EC-Läsionsmodells.

4.7.1.2 Verhalten

Neonatale Läsionen des EC induzierten bei adulten Ratten zahlreiche kognitive Dysfunktionen, die durch Defizite des WM und der Verhaltensflexibilität sowie durch einen Anstieg des Perseverationsverhaltens gekennzeichnet waren. Zusätzlich trat ein Motivationsdefizit sowie eine Hypersensitivität gegenüber den lokomotionsstimulierenden, nicht aber gegenüber den PPI-reduzierenden Effekten von APO auf.

Dysfunktionen des WM und ein Perseverationsverhalten, welches mit zunehmender zeitlicher Verzögerung ansteigt, stellen bei zahlreichen psychischen Erkrankungen zentrale kognitive Symptome dar, die eine Grundlage für andere kognitive und psychotische Symptome bilden, also Endophänotypen für solche Störungen sind [VORUGANTI *ET AL.*, 1997]. Das WM speichert Informationen zeitlich begrenzt, um verzögerte Handlungen auszuführen und ist deshalb besonders wichtig für komplexe kognitive Aufgaben, die den Exekutivfunktionen zugeordnet werden, wie z.B. Lernen, Problemlösung und schlussfolgerndes Handeln. Neonatale Läsionen des EC induzierten Störungen dieser Funktionen im 8-Arm Radial Maze und sind deshalb als Tiermodell zur Nachbildung einiger kognitiver Aspekte psychischer Erkrankungen, wie z.B. der Schizophrenie, geeignet. Allerdings ist zu beachten, dass ein Anstieg der Perseveration durch eine verzögerte Alternation

nachgewiesen werden konnte, während das Erlernen einer egozentrischen bzw. allozentrischen Strategie vermutlich einen geeigneten Test zur Überprüfung der WM-Leistungen darstellt. Dies zeigt, dass aufgrund der unterschiedlichen Sensitivität der Tests die Aufgabe zur Überprüfung kognitiver Defizite auf das jeweilige Funktionsdefizit abgestimmt werden muss.

Eine weitere kognitive Störung der Schizophrenie ist eine Reduktion der Verhaltensflexibilität [GOLDBERG & GOLD, 1995]. Verhaltensflexibilität ist ein wichtiger Mechanismus zur Anpassung an sich ständig verändernde Umweltbedingungen und wird gemessen an der Fähigkeit eine neue Strategie anzuwenden, während die Ausübung einer zuvor durchgeführten Strategie gehemmt wird [KOLB, 1990]. Neonatale Läsionen des EC induzierten bei der Ratte im Cross Maze eine Reduktion der Verhaltensflexibilität beim Wechseln zwischen zwei Strategien, die durch das Beharren der Tiere auf der zuvor gelernten Strategie charakterisiert war. Die Effekte auf die Verhaltensflexibilität waren bei der Ratte jedoch abhängig von der geforderten Strategie, was wiederum bekräftigt, dass die Aufgaben auf das jeweils aufzudeckende Verhaltensdefizit abgestimmt werden müssen.

Eines der wichtigsten negativen Symptome der Schizophrenie ist die Anhedonie, also die Unfähigkeit Freude zu empfinden. Daraus resultiert häufig Avolition, die gekennzeichnet ist durch den fehlende Antrieb für ein positives Ereignis Leistung zu erbringen [AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994]. Ein anerkanntes Tiermodell für diese negativen Symptome der Schizophrenie ist der PR Test der operanten Konditionierung [BARR & PHILLIPS, 1999; ELLENBROEK & COOLS, 2000; KATSANIS *ET AL.*, 1990]. Neonatale Läsionen des EC reduzierten bei diesem Test den *breakpoint*, was als Reduktion der Motivation, Leistung für den Erhalt einer Belohnung zu erbringen, interpretiert werden kann und somit ein Korrelat für Avolition beim Menschen darstellt [BARR & PHILLIPS, 1999; CILIA *ET AL.*, 2001; HO *ET AL.*, 2003; MOBINI *ET AL.*, 2000].

Bei adulten Ratten induzierten neonatale Läsionen des EC über eine Störung der Entwicklung und Reifung glutamaterger Projektionen zu verschiedenen subcorticalen Strukturen eine dopaminerge Dysregulation mit nachfolgender Hypersensitivität postsynaptischer DA-Rezeptoren. Folge war eine langanhaltende Veränderung der dopaminergen Regulation der horizontalen Aktivität, die sich in einer Hyperlokomotion neonatal läsionierter Ratten nach einer Behandlung mit dem DA-Rezeptor-Agonisten APO äußerte. Dies entspricht der bei schizophrenen

Patienten auftretenden Hypersensitivität des dopaminergen Systems, die insbesondere in subcorticalen Strukturen auftritt und mit psychotischen Symptomen dieser Erkrankung verbunden ist [LARUELLE *ET AL.*, 1996]. Diese spiegelt sich unter anderem in einer Überreaktion auf die Einnahme bestimmter Drogen (z.B. Amphetamine, Cocain) wider, die die schizophrene Symptomatik überproportional verstärkt [DEPATIE & LAL, 2001].

Bei schizophrenen Patienten treten psychotische Symptome aufgrund fehlerhafter Reifungsprozesse während der Pubertät gewöhnlich erst in der frühen Adoleszenz auf [HARROP & TROWER, 2001; WEINBERGER, 1995]. In der vorliegenden Studie wurde der Einfluss neonataler Läsionen des EC auf das Verhalten in verschiedenen Entwicklungsstadien nur hinsichtlich der lokomotorischen Aktivität überprüft. Dabei wurden weder prä- (PND 35) noch postpubertär (PND 56 und Adult) Dysfunktionen der Spontanaktivität induziert. Da APO aufgrund von Sensitivierungsprozessen nicht wiederholt appliziert werden soll, wurde nicht überprüft, ob bereits präpubertär die oben beschriebene Hypersensitivität gegenüber DA-Rezeptor-Agonisten bestand.

Zahlreiche psychische Erkrankungen beim Menschen sind mit Dysfunktionen der sensorimotorischen Informationsverarbeitung verbunden [BRAFF *ET AL.*, 2001; GEYER *ET AL.*, 2001], die durch eine mangelnde Reaktionsunterdrückung charakterisiert sind. Die Messung der PPI stellt einen besonders wichtigen Endophänotyp für die schizophrene Symptomatik dar, da sich die PPI durch identische Reize in gleicher Form bei Mensch und Tier auslösen lässt. Aufgrund der Übertragbarkeit vieler pharmakologischer Manipulationen der PPI vom Versuchstier auf den Menschen ist die Bestimmung der PPI bei der Ratte ein anerkanntes Tiermodell für einige Aspekte schizophrener Störungen [KOCH & FENDT, 2003]. Neonatale Läsionen des EC induzierten jedoch weder Dysfunktionen der direkten PPI noch der dopaminergen Regulation der PPI und sind folglich nicht zur Nachbildung gestörter Filtermechanismen bei psychischen Erkrankungen geeignet. Dieser Mangel bei der Evaluation der neonatalen EC-Läsionen als Tiermodell für schizophrene Störungen verdeutlicht einmal mehr, dass kein Tiermodell alle kognitiven Aspekte schizophrener Störungen abdecken kann. Vielmehr sollte zur jeweiligen Aufklärung der Mechanismen, die den verschiedenen kognitiven Störungen zugrunde liegen, das jeweils am besten geeignete Tiermodell herangezogen werden. Neonatale Läsionen des EC induzieren jedoch Veränderungen des glutamatergen Systems, die mit der Regulation der PPI interferieren und dadurch das normalerweise nach einer akuten

Dizocilpin-Injektion auftretende PPI-Defizit verhindern. Diese unerwartete Beobachtung zeigt, dass neonatale Läsionen zwar kein PPI-Defizit erzeugen, jedoch trotzdem dazu herangezogen werden können, die pathophysiologischen Mechanismen aufzuklären, die zu einem PPI-Defizit nach Gabe von NMDA-Rezeptor-Antagonisten führen.

Obwohl einige Verhaltensweisen, die als Endophänotypen für Schizophrenie gelten, wie sensorimotorische Informationsverarbeitung und lokomotorische Aktivität, durch neonatale Läsionen des EC nicht gestört wurden, induzierte diese frühe Störung der Hirnentwicklung zahlreiche kognitive Defizite, die eng mit der schizophrenen Symptomatik verbunden sind (Abbild-Validität). Zusätzlich wurden morphologische Veränderungen (siehe 4.7.1.1) sowie Dysfunktionen dopaminerger und glutamaterger Mechanismen induziert, die ebenfalls denen schizophrener Patienten ähneln (Konstrukt-Validität). Die beobachteten Störungen waren in dieser Arbeit nicht sehr ausgeprägt, was ebenfalls die Situation schizophrener Patienten widerspiegelt, bei denen kognitive Leistungen nicht völlig ausgeschaltet werden sondern lediglich gestört sind. Neonatale Läsionen des EC können somit als Tiermodell mit Abbild- und Konstrukt-Validität für einige Aspekte der kognitiven und negativen Symptomatik psychischer Erkrankungen, wie z.B. der Schizophrenie, eingesetzt werden. In der vorliegenden Studie wurde jedoch keine pharmakologische Behandlung mit klinisch wirksamen Antipsychotika zur Antagonisierung der experimentell induzierten Verhaltensdefizite durchgeführt. Deshalb kann keine Aussage über die prädiktive Validität dieses Modells getroffen werden.

4.7.2 Chronische Behandlung mit Dizocilpin

Eine chronische Behandlung mit dem NMDA-Rezeptor-Antagonisten Dizocilpin induzierte langanhaltende Defizite bei der Verhaltensflexibilität und der lokomotorischen Aktivität, hatte jedoch keinen Einfluss auf die sensorimotorische Informationsverarbeitung.

Eine Dysfunktion des glutamatergen Systems, die u.a. gekennzeichnet ist durch ein Reduktion der glutamatergen Innervation des NAC, ist eines der Merkmale für Schizophrenie [APARICIO-LEGARZA *ET AL.*, 1997]. Zusätzlich können NMDA-Rezeptor-Antagonisten (wie z.B. PCP oder Ketamin) beim Menschen eine Psychose auslösen, die mit positiven und negativen Symptomen der Schizophrenie verbunden ist, sowie eine bereits bestehende Psychose verschlechtern [VOLLENWEIDER *ET AL.*, 1997;

VOLLENWEIDER *ET AL.*, 2000]. Dabei treten neben den psychotischen Symptomen zusätzlich kognitive Defizite auf [ELLISON, 1995; GOFF & COYLE, 2001]. Eine experimentell induzierte Dysfunktion des glutamatergen Systems stellt deshalb einen weiteren Ansatz zur Nachbildung schizophrener Störungen dar.

Die chronische Behandlung der Ratten mit dem NMDA-Rezeptor-Antagonisten Dizocilpin induzierte ein langanhaltendes WM-Defizit sowie eine Reduktion der Verhaltensflexibilität, die vor allem durch einen Anstieg der Perseveration gekennzeichnet und abhängig von der geforderten Strategie war. Diese Dysfunktionen ähneln den nach neonatalen EC-Läsionen auftretenden Störungen ohne mit diesen zu interagieren, so dass hier zwar ein additiver, jedoch kein überadditiver Effekt induziert wurde. Außerdem wurde durch die Kombination aus neonataler Läsion und chronischer Dizocilpin-Behandlung adulter Ratten keine qualitativ andere Störung hervorgerufen als nach den Einzelbehandlungen. Es trat somit kein *two-hit* Effekt entsprechend der Vulnerabilitäts-Stress-Hypothese der Schizophrenie auf, welche auf der Verknüpfung einer frühen Entwicklungsstörung und später auftretenden aversiven Einflüssen als Ursache der Erkrankung basiert (siehe 1.2.2).

Die Messung der lokomotorischen Aktivität stellt eine weitere Möglichkeit dar, Dysfunktionen des glutamatergen Systems aufzudecken, die mit einer dopaminergen Störung verbunden sind. In der vorliegenden Arbeit induzierte eine chronische Behandlung mit Dizocilpin eine Hypolokomotion. Auch hierbei trat keine Interaktion zwischen den Behandlungen im Sinne eines *two-hit* Effektes auf.

Eine chronische Behandlung mit NMDA-Rezeptor-Antagonisten stellt ein Tiermodell mit Konstrukt-Validität dar, da ein Zusammenhang zwischen der Schizophrenie und Dysfunktionen des glutamatergen Systems besteht. Abbild-Validität tritt lediglich hinsichtlich der langanhaltenden Defizite des WM, der Perseveration und der Verhaltensflexibilität auf, die dem chronischen Verlauf der Schizophrenie entsprechen. Die prädiktive Validität dieses Modells wurde in der vorliegenden Studie nicht überprüft. Eine chronische Dizocilpin-Behandlung kann somit zur Nachbildung einiger Teilaspekte kognitiver Symptome der Schizophrenie eingesetzt werden.

5 Zusammenfassung

Der EC ist aufgrund seiner Projektionen zum HIPP und zu anderen subcorticalen Strukturen an der Regulation verschiedener kognitiver Funktionen beteiligt. Zusätzlich wird eine entwicklungsbedingte Anomalie des EC für pathophysiologische Mechanismen psychischer Erkrankungen (z.B. der Schizophrenie) verantwortlich gemacht. In der vorliegenden Arbeit wurden die Effekte einer neonatalen Läsion des EC auf kognitive, motivationale, lokomotorische sowie sensorimotorische Leistungen adulter Ratten untersucht, um im Versuchstier die Zusammenhänge zwischen Neuro- und Verhaltenspathologie genauer zu untersuchen.

Neonatale Läsionen wurden an PND 7 durch eine bilaterale Ibotenat-Injektion in den EC induziert. Die lokomotorische Aktivität wurde an PND 35 und PND 56 gemessen. Bei adulten Ratten wurde räumliches Lernen im 8-Arm Radial Maze (belohnte und verzögerte Alternation; egozentrisches und allozentrisches Lernen) und Motivation in einem PR Test überprüft. Zusätzlich wurde die PPI und die lokomotorische Aktivität mit und ohne akuter APO-Injektion bestimmt. Die Effekte einer chronischen, hochdosierten Dizocilpin-Behandlung auf die Verhaltensflexibilität im Cross Maze, die lokomotorische Aktivität und die PPI wurden ebenfalls überprüft. Die PPI wurde zusätzlich nach einer akuten, niedrigdosierten Injektion von Dizocilpin gemessen. Abschließend erfolgte die histologische Aufarbeitung der Gehirne.

Neonatale Läsionen reduzierten das EC-Volumen und die Myelinscheide sowie die Dichte der PVr-Interneurone im HIPP und in der Amygdala, zwei wichtigen Projektionsgebieten des EC. Neonatale Läsionen des EC verstärkten die Perseveration bei einer verzögerten Alternation und induzierten ein WM-Defizit bei einer egozentrischen und allozentrischen Aufgabe. Zusätzlich war der *breakpoint* im PR Test reduziert. Die Läsionen hatten keinen Einfluss auf die Spontanaktivität, induzierten aber eine Hypersensitivität gegenüber APO. Neonatale Läsionen veränderten die PPI weder mit noch ohne APO, verhinderten jedoch das normalerweise nach akuter Dizocilpin-Injektion auftretende PPI-Defizit. Sowohl neonatale Läsionen als auch eine chronische Dizocilpin-Behandlung reduzierten die Verhaltensflexibilität. Dizocilpin induzierte eine Hypolokomotion, hatte jedoch keinen Einfluss auf die PPI.

Der EC ist somit Teil eines neuronalen Netzwerkes, das an der Regulation verschiedener kognitiver Verhaltensweisen beteiligt ist. Neonatale Läsionen des EC induzierten neuroanatomische Veränderungen und Verhaltensdefizite sowie

Dysfunktionen der dopaminergen und glutamatergen Regulation zumindest einiger Verhaltensweisen, die starke Ähnlichkeiten mit der schizophrenen Symptomatik aufweisen. Deshalb stellen neonatale Läsionen des EC einen geeigneten Ansatz zur Nachbildung entwicklungsbedingter Störungen dar und können als Tiermodell für einige Aspekte der kognitiven (WM, Verhaltensflexibilität) und negativen (Avolition) Symptomatik schizophrener Störungen eingesetzt werden.

6 Literatur

- Abi-Dargham, A., Gil, R., Krystal, J., Baldwin, R.M., Seibyl, J.P., Bowers, M., van Dyck, C.H., Charney, D.S., Innis, R.B. und Laruelle, M. (1998) Increased striatal dopamine transmission in schizophrenia: confirmation in a second cohort. *Am.J.Psychiatry* **155**, 761-767.
- Adams, B. und Moghaddam, B. (1998) Corticolimbic dopamine neurotransmission is temporally dissociated from the cognitive and locomotor effects of phencyclidine. *J.Neurosci.* **18**, 5545-5554.
- Aggleton, J.P., Hunt, P.R., Nagle, S. und Neave, N. (1996) The effects of selective lesions within the anterior thalamic nuclei on spatial memory in the rat. *Behav.Brain Res.* **81**, 189-198.
- Aghajanian, G.K. und Marek, G.J. (2000) Serotonin model of schizophrenia: emerging role of glutamate mechanisms. *Brain Res.Rev.* **31**, 302-312.
- Akil, M. und Lewis, D.A. (1997) Cytoarchitecture of the entorhinal cortex in schizophrenia. *Am.J.Psychiatry* **154**, 1010-1012.
- al-Amin, H.A., Weinberger, D.R. und Lipska, B.K. (2000) Exaggerated MK-801-induced motor hyperactivity in rats with the neonatal lesion of the ventral hippocampus. *Behav.Pharmacol* **11**, 269-278.
- al-Amin, H.A., Shannon, W.C., Weinberger, D.R. und Lipska, B.K. (2001) Delayed onset of enhanced MK-801-induced motor hyperactivity after neonatal lesions of the rat ventral hippocampus. *Biol.Psychiatry* **49**, 528-539.

- Alderson, H.L., Brown, V.J., Latimer, M.P., Brasted, P.J., Robertson, A.H. und Winn, P. (2002) The effect of excitotoxic lesions of the pedunclopontine tegmental nucleus on performance of a progressive ratio schedule of reinforcement. *Neuroscience* **112**, 417-425.
- Amaral, D.G. und Witter, M.P. (1995) Hippocampal Formation. In: Paxinos, G. (Eds.) *The rat nervous system*. Academic Press: San Diego, S. 443-485.
- American Psychiatric Association (1994) *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*, 4 edn. Anonymous American Psychiatric Press: Washington DC.
- Andreasen, N.C. (2000) Schizophrenia: the fundamental questions. *Brain Res.Rev.* **31**, 106-112.
- Andreasen, N.C., Roy, M.-A. und Flaum, M. (1995) Positive and negative symptoms. In: Hirsch, S.R. und Weinberger, D.R. (Eds.) *Schizophrenia*. Blackwell Science, S. 28-45.
- Aparicio-Legarza, M.I., Cutts, A.J., Davis, B. und Reynolds, G.P. (1997) Deficits of [3H]D-aspartate binding to glutamate uptake sites in striatal and accumbens tissue in patients with schizophrenia. *Neurosci.Lett.* **232**, 13-16.
- Arnold, S.E. und Rioux, L. (2001) Challenges, status, and opportunities for studying developmental neuropathology in adult schizophrenia. *Schizophr.Bull.* **27**, 395-416.
- Arnold, S.E., Franz, B.R., Gur, R.C., Gur, R.E., Shapiro, R.M., Moberg, P.J. und Trojanowski, J.Q. (1995) Smaller neuron size in schizophrenia in hippocampal subfields that mediate cortical-hippocampal interactions. *Am.J.Psychiatry* **152**, 738-748.

- Arnold, S.E., Ruscheinsky, D.D. und Han, L.Y. (1997) Further evidence of abnormal cytoarchitecture of the entorhinal cortex in schizophrenia using spatial point pattern analyses. *Biol.Psychiatry* **42**, 639-647.
- Awh, E. und Jonides, J. (2001) Overlapping mechanisms of attention and spatial working memory. *Trends Cogn.Sci.* **5**, 119-126.
- Baddeley, A. (1992) Working memory. *Science* **255**, 556-559.
- Bakshi, V.P. und Geyer, M.A. (1998) Multiple limbic regions mediate the disruption of prepulse inhibition produced in rats by the noncompetitive NMDA antagonist dizocilpine. *J.Neurosci.* **18**, 8394-8401.
- Bakshi, V.P., Swerdlow, N.R. und Geyer, M.A. (1994) Clozapine antagonizes phencyclidine-induced deficits in sensorimotor gating of the startle response. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* **271**, 787-794.
- Balla, A., Koneru, R., Smiley, J., Sershen, H. und Javitt, D.C. (2001) Continuous phencyclidine treatment induces schizophrenia-like hyperreactivity of striatal dopamine release. *Neuropsychopharmacology* **25**, 157-164.
- Bannerman, D.M., Good, M.A., Butcher, S.P., Ramsay, M. und Morris, R.G. (1995) Distinct components of spatial learning revealed by prior training and NMDA receptor blockade. *Nature* **378**, 182-186.
- Bannerman, D.M., Yee, B.K., Lemaire, M., Wilbrecht, L., Jarrard, L., Iversen, S.D., Rawlins, J.N. und Good, M.A. (2001) The role of the entorhinal cortex in two forms of spatial learning and memory. *Exp.Brain Res.* **141**, 281-303.
- Baron, S.P., Wright, D. und Wenger, G.R. (1998) Effects of drugs of abuse and scopolamine on memory in rats: delayed spatial alternation and matching to position. *Psychopharmacology (Berl.)* **137**, 7-14.

- Barr, A.M. und Phillips, A.G. (1999) Withdrawal following repeated exposure to d-amphetamine decreases responding for a sucrose solution as measured by a progressive ratio schedule of reinforcement. *Psychopharmacology (Berl.)* **141**, 99-106.
- Bartoszyk, G.D. (1998) Anxiolytic effects of dopamine receptor ligands: Involvement of dopamine autoreceptors. *Life Sci.* **62**, 649-663.
- Bast, T., Zhang, W., Feldon, J. und White, I.M. (2000) Effects of MK-801 and neuroleptics on prepulse inhibition: re-examination in two strains of rats. *Pharmacol.Biochem.Behav.* **67**, 647-658.
- Baumann, N. und Pham-Dinh, D. (2001) Biology of oligodendrocyte and myelin in the mammalian central nervous system. *Physiol.Rev.* **81**, 871-927.
- Bayer, T.A., Falkai, P. und Maier, W. (1999) Genetic and non-genetic vulnerability factors in schizophrenia: the basis of the "two hit hypothesis". *J.Psychiatr.Res.* **33**, 543-548.
- Beasley, C.L. und Reynolds, G.P. (1997) Parvalbumin-immunoreactive neurons are reduced in the prefrontal cortex of schizophrenics. *Schizophr.Res.* **24**, 349-355.
- Becker, A., Grecksch, G., Bernstein, H.G., Hollt, V. und Bogerts, B. (1999) Social behaviour in rats lesioned with ibotenic acid in the hippocampus: quantitative and qualitative analysis. *Psychopharmacology (Berl.)* **144**, 333-338.
- Benes, F.M. (1999) Evidence for altered trisynaptic circuitry in schizophrenic hippocampus. *Biol.Psychiatry* **46**, 589-599.
- Benes, F.M. (2000) Emerging principles of altered neural circuitry in schizophrenia. *Brain Res.Rev.* **31**, 251-269.

- Benes, F.M. und Berretta, S. (2001) GABAergic interneurons: implications for understanding schizophrenia and bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology* **25**, 1-27.
- Benes, F.M., Turtle, M., Khan, Y. und Farol, P. (1994) Myelination of a key relay zone in the hippocampal formation occurs in the human brain during childhood, adolescence, and adulthood. *Arch.Gen.Psychiatry* **51**, 477-484.
- Bergmann, M., Post, A., Rittel, I., Bechmann, I. und Nitsch, R. (1997) Expression of synaptophysin in sprouting neurons after entorhinal lesion in the rat. *Exp.Brain Res.* **117**, 80-86.
- Berridge, K.C. (1996) Food reward: brain substrates of wanting and liking. *Neurosci.Biobehav.Rev.* **20**, 1-25.
- Berridge, K.C. und Robinson, T.E. (1998) What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Res.Rev.* **28**, 309-369.
- Best, P.J., White, A.M. und Minai, A. (2001) Spatial processing in the brain: the activity of hippocampal place cells. *Annu.Rev.Neurosci.* **24**, 459-486.
- Bischoff, C. und Tiedtke, P.I. (1992) Competitive and non-competitive NMDA receptor antagonists in spatial learning tasks. *Eur.J.Pharmacol.* **213**, 269-273.
- Bleuler, E. (1911) *Dementia Praecox or the Group of Schizophrenias*, International Universities Press, New York.
- Blum, P.B. und Mann, J.J. (2002) The GABAergic system in schizophrenia. *Int.J.Neuropsychopharmacol.* **5**, 159-179.
- Bogerts, B. (1999) The neuropathology of schizophrenic diseases: historical aspects and present knowledge. *Eur.Arch.Psychiatry Clin.Neurosci.* **249**, 2-13.

- Braak, H. und Braak, E. (1992) The human entorhinal cortex: normal morphology and lamina-specific pathology in various diseases. *Neurosci.Res.* **15**, 6-31.
- Braff, D.L., Geyer, M.A., Light, G.A., Sprock, J., Perry, W., Cadenhead, K.S. und Swerdlow, N.R. (2001) Impact of prepulse characteristics on the detection of sensorimotor gating deficits in schizophrenia. *Schizophr.Res.* **49**, 171-178.
- Brasted, P.J., Humby, T., Dunnett, S.B. und Robbins, T.W. (1997) Unilateral lesions of the dorsal striatum in rats disrupt responding in egocentric space. *J.Neurosci.* **17**, 8919-8926.
- Breese, G.R., Knapp, D.J. und Moy, S.S. (2002) Integrative role for serotonergic and glutamatergic receptor mechanisms in the action of NMDA antagonists: potential relationships to antipsychotic drug actions on NMDA antagonist responsiveness. *Neurosci.Biobehav.Rev.* **26**, 441-455.
- Brodmann, K. (1909) *Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues*. Leipzig: J.A.Barth.
- Brown, A.S., Susser, E.S., Butler, P.D., Richardson, A.R., Kaufmann, C.A. und Gorman, J.M. (1996) Neurobiological plausibility of prenatal nutritional deprivation as a risk factor for schizophrenia. *J.Nerv.Ment.Dis.* **184**, 71-85.
- Brown, R.G. und Pluck, G. (2000) Negative symptoms: the 'pathology' of motivation and goal-directed behaviour. *Trends Neurosci.* **23**, 412-417.
- Brunello, N., Masotto, C., Steardo, L., Markstein, R. und Racagni, G. (1995) New insights into the biology of schizophrenia through the mechanism of action of clozapine. *Neuropsychopharmacology* **13**, 177-213.

- Bubser, M. und Schmidt, W.J. (1990) 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.* **37**, 157-168.
- Buresova, O. und Bures, J. (1982) Radial maze as a tool for assessing the effect of drugs on the working memory of rats. *Psychopharmacology (Berl.)* **77**, 268-271.
- Burwell, R.D. und Amaral, D.G. (1998) Cortical afferents of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat. *J.Comp.Neurol.* **398**, 179-205.
- Cain, D.P. (1997) LTP, NMDA, genes and learning. *Curr.Opin.Neurobiol.* **7**, 235-242.
- Caine, S.B., Geyer, M.A. und Swerdlow, N.R. (1995) Effects of D3/D2 dopamine receptor agonists and antagonists on prepulse inhibition of acoustic startle in the rat. *Neuropsychopharmacology* **12**, 139-145.
- Capleton, R.A. (1996) Cognitive function in schizophrenia: association with negative and positive symptoms. *Psychol.Rep.* **78**, 123-128.
- Carlson, S. und Willott, J.F. (1998) Caudal pontine reticular formation of C57BL/6J mice: responses to startle stimuli, inhibition by tones, and plasticity. *J.Neurophysiol.* **79**, 2603-2614.
- Carlsson, A., Waters, N. und Carlsson, M.L. (1999) Neurotransmitter interactions in schizophrenia-therapeutic implications. *Eur.Arch.Psychiatry Clin.Neurosci.* **249**, 37-43.
- Carlsson, A., Waters, N., Holm-Waters, S., Tedroff, J., Nilsson, M. und Carlsson, M.L. (2001) Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: new evidence. *Annu.Rev.Pharmacol.Toxicol.* **41**, 237-260.

- Carlsson, M. und Carlsson, A. (1990) Schizophrenia: a subcortical neurotransmitter imbalance syndrome? *Schizophr.Bull.* **16**, 425-432.
- Carr, D.B. und Sesack, S.R. (2000) Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. *J.Neurosci.* **20**, 3864-3873.
- Castellani, S. und Adams, P.M. (1981) Acute and chronic phencyclidine effects on locomotor activity, stereotypy and ataxia in rats. *Eur.J.Pharmacol.* **73**, 143-154.
- Chambers, R.A., Moore, J., McEvoy, J.P. und Levin, E.D. (1996) Cognitive effects of neonatal hippocampal lesions in a rat model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* **15**, 587-594.
- Chang, Q. und Gold, P.E. (2003) Switching memory systems during learning: changes in patterns of brain acetylcholine release in the hippocampus and striatum in rats. *J.Neurosci.* **23**, 3001-3005.
- Cheeta, S., Brooks, S. und Willner, P. (1995) Effects of reinforcer sweetness and the D2/D3 antagonist raclopride on progressive ratio operant performance. *Behav.Pharmacol.* **6**, 127-132.
- Cilia, J., Piper, D.C., Upton, N. und Hagan, J.J. (2001) Clozapine enhances breakpoint in common marmosets responding on a progressive ratio schedule. *Psychopharmacology (Berl.)* **155**, 135-143.
- Compton, D.M., Griffith, H.R., McDaniel, W.F., Foster, R.A. und Davis, B.K. (1997) The flexible use of multiple cue relationships in spatial navigation: a comparison of water maze performance following hippocampal, medial septal, prefrontal cortex, or posterior parietal cortex lesions. *Neurobiol.Learn.Mem.* **68**, 117-132.

- Cook, D. und Kesner, R.P. (1988) Caudate nucleus and memory for egocentric localization. *Behav. Neural Biol.* **49**, 332-343.
- Cooper, J.R., Bloom, F.E. und Roth, R.H. (2003) *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*, 8 edn. Oxford University Press.
- Coutureau, E., Galani, R., Jarrard, L.E. und Cassel, J.C. (2000) Selective lesions of the entorhinal cortex, the hippocampus, or the fimbria-fornix in rats: a comparison of effects on spontaneous and amphetamine-induced locomotion. *Exp. Brain Res.* **131**, 381-392.
- Creese, I., Burt, D.R. und Snyder, S.H. (1976) Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. *Science* **192**, 481-483.
- Csernansky, J.G. und Bardgett, M.E. (1998) Limbic-cortical neuronal damage and the pathophysiology of schizophrenia. *Schizophr. Bull.* **24**, 231-248.
- Daenen, E.W., Van der Heyden, J.A., Kruse, C.G., Wolterink, G. und Van Ree, J.M. (2001) Adaptation and habituation to an open field and responses to various stressful events in animals with neonatal lesions in the amygdala or ventral hippocampus. *Brain Res.* **918**, 153-165.
- Daenen, E.W., Wolterink, G., Gerrits, M.A. und Van Ree, J.M. (2002) Amygdala or ventral hippocampal lesions at two early stages of life differentially affect open field behaviour later in life; an animal model of neurodevelopmental psychopathological disorders. *Behav. Brain Res.* **131**, 67-78.
- Daenen, E.W., Wolterink, G., Van der Heyden, J.A., Kruse, C.G. und Van Ree, J.M. (2003) Neonatal lesions in the amygdala or ventral hippocampus disrupt prepulse inhibition of the acoustic startle response; implications for an animal model of neurodevelopmental disorders like schizophrenia. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **13**, 187-197.

- Daniels, W.M., Pietersen, C.Y., Carstens, M.E. und Stein, D.J. (2004) Maternal separation in rats leads to anxiety-like behavior and a blunted ACTH response and altered neurotransmitter levels in response to a subsequent stressor. *Metab.Brain Dis.* **19**, 3-14.
- Davis, K.L., Stewart, D.G., Friedman, J.I., Buchsbaum, M., Harvey, P.D., Hof, P.R., Buxbaum, J. und Haroutunian, V. (2003) White matter changes in schizophrenia: evidence for myelin-related dysfunction. *Arch.Gen.Psychiatry* **60**, 443-456.
- DeCoteau, W.E. und Kesner, R.P. (2000) A double dissociation between the rat hippocampus and medial caudoputamen in processing two forms of knowledge. *Behav.Neurosci.* **114**, 1096-1108.
- Deller, T. und Jucker, M. (2001) Axonsprossung im Zentralnervensystem nach einer Läsion. *Neuroforum* **1**, 11-20.
- Depatie, L. und Lal, S. (2001) Apomorphine and the dopamine hypothesis of schizophrenia: a dilemma? *J.Psychiatry Neurosci.* **26**, 203-220.
- Devan, B.D., Goad, E.H. und Petri, H.L. (1996) Dissociation of hippocampal and striatal contributions to spatial navigation in the water maze. *Neurobiol.Learn.Mem.* **66**, 305-323.
- Dolorfo, C.L. und Amaral, D.G. (1998a) Entorhinal cortex of the rat: organization of intrinsic connections. *J.Comp.Neurol.* **398**, 49-82.
- Dolorfo, C.L. und Amaral, D.G. (1998b) Entorhinal cortex of the rat: topographic organization of the cells of origin of the perforant path projection to the dentate gyrus. *J.Comp.Neurol.* **398**, 25-48.

- Druhan, J.P., Geyer, M.A. und Valentino, R.J. (1998) Lack of sensitization to the effects of d-amphetamine and apomorphine on sensorimotor gating in rats. *Psychopharmacology (Berl.)* **135**, 296-304.
- Duncan, G.E., Moy, S.S., Knapp, D.J., Mueller, R.A. und Breese, G.R. (1998) Metabolic mapping of the rat brain after subanesthetic doses of ketamine: potential relevance to schizophrenia. *Brain Res.* **787**, 181-190.
- Duncan, G.E., Sheitman, B.B. und Lieberman, J.A. (1999) An integrated view of pathophysiological models of schizophrenia. *Brain Res.Rev.* **29**, 250-264.
- Dunn, R.W., Corbett, R. und Fielding, S. (1989) Effects of 5-HT_{1A} receptor agonists and NMDA receptor antagonists in the social interaction test and the elevated plus maze. *Eur.J.Pharmacol.* **169**, 1-10.
- Eagle, D.M., Humby, T., Dunnett, S.B. und Robbins, T.W. (1999) Effects of regional striatal lesions on motor, motivational, and executive aspects of progressive-ratio performance in rats. *Behav.Neurosci.* **113**, 718-731.
- Ellenbroek, B.A. und Cools, A.R. (2000) Animal models for the negative symptoms of schizophrenia. *Behav.Pharmacol.* **11**, 223-233.
- Ellenbroek, B.A., van den Kroonenberg, P.T. und Cools, A.R. (1998) The effects of an early stressful life event on sensorimotor gating in adult rats. *Schizophr.Res.* **30**, 251-260.
- Ellison, G. (1995) The N-methyl-D-aspartate antagonists phencyclidine, ketamine and dizocilpine as both behavioral and anatomical models of the dementias. *Brain Res.Rev.* **20**, 250-267.
- Epstein, R., Harris, A., Stanley, D. und Kanwisher, N. (1999) The parahippocampal place area: recognition, navigation, or encoding? *Neuron* **23**, 115-125.

- Falkai, P., Schneider, T., Greve, B., Klieser, E. und Bogerts, B. (1995) Reduced frontal and occipital lobe asymmetry on the CT-scans of schizophrenic patients. Its specificity and clinical significance. *J.Neural Transm.Gen.Sect.* **99**, 63-77.
- Falkai, P., Honer, W.G., David, S., Bogerts, B., Majtenyi, C. und Bayer, T.A. (1999) No evidence for astrogliosis in brains of schizophrenic patients. A post-mortem study. *Neuropathol.Appl.Neurobiol.* **25**, 48-53.
- Falkai, P., Schneider-Axmann, T. und Honer, W.G. (2000) Entorhinal cortex pre-alpha cell clusters in schizophrenia: quantitative evidence of a developmental abnormality. *Biol.Psychiatry* **47**, 937-943.
- Farber, N.B., Wozniak, D.F., Price, M.T., Labruyere, J., Huss, J., St Peter, H. und Olney, J.W. (1995) Age-specific neurotoxicity in the rat associated with NMDA receptor blockade: potential relevance to schizophrenia? *Biol.Psychiatry* **38**, 788-796.
- Fass, B. (1983) Temporal changes in open-field activity following progressive lesions of entorhinal cortex: evidence for enhanced recovery. *Behav.Neural Biol.* **37**, 108-124.
- Fatemi, S.H., Earle, J., Kanodia, R., Kist, D., Emamian, E.S., Patterson, P.H., Shi, L. und Sidwell, R. (2002) Prenatal viral infection leads to pyramidal cell atrophy and macrocephaly in adulthood: implications for genesis of autism and schizophrenia. *Cell.Mol.Neurobiol.* **22**, 25-33.
- Fendt, M., Li, L. und Yeomans, J.S. (2001) Brain stem circuits mediating prepulse inhibition of the startle reflex. *Psychopharmacology (Berl.)* **156**, 216-224.
- Fendt, M., Schwienbacher, I. und Koch, M. (2000) Amygdaloid N-methyl-D-aspartate and gamma-aminobutyric acid(A) receptors regulate sensorimotor gating in a dopamine-dependent way in rats. *Neuroscience* **98**, 55-60.

- Finch, D.M., Gigg, J., Tan, A.M. und Kosoyan, O.P. (1995) Neurophysiology and neuropharmacology of projections from entorhinal cortex to striatum in the rat. *Brain Res.* **670**, 233-247.
- Finlay, J.M. (2001) Mesoprefrontal dopamine neurons and schizophrenia: role of developmental abnormalities. *Schizophr.Bull.* **27**, 431-442.
- Fiore, M., Talamini, L., Angelucci, F., Koch, T., Aloe, L. und Korf, J. (1999) Prenatal methylazoxymethanol acetate alters behavior and brain NGF levels in young rats: a possible correlation with the development of schizophrenia-like deficits. *Neuropharmacology* **38**, 857-869.
- Flores, G., Barbeau, D., Quirion, R. und Srivastava, L.K. (1996) Decreased binding of dopamine D3 receptors in limbic subregions after neonatal bilateral lesion of rat hippocampus. *J.Neurosci.* **16**, 2020-2026.
- Floresco, S.B., Seamans, J.K. und Phillips, A.G. (1997) Selective roles for hippocampal, prefrontal cortical, and ventral striatal circuits in radial-arm maze tasks with or without a delay. *J.Neurosci.* **17**, 1880-1890.
- Foong, J., Maier, M., Barker, G.J., Brocklehurst, S., Miller, D.H. und Ron, M.A. (2000) In vivo investigation of white matter pathology in schizophrenia with magnetisation transfer imaging. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry* **68**, 70-74.
- Fraser, C.M., Cooke, M.J., Fisher, A., Thompson, I.D. und Stone, T.W. (1996) Interactions between ifenprodil and dizocilpine on mouse behaviour in models of anxiety and working memory. *Eur.Neuropsychopharmacol.* **6**, 311-316.
- Frederick, D.L., Gillam, M.P., Allen, R.R. und Paule, M.G. (1995) Acute behavioral effects of phencyclidine on rhesus monkey performance in an operant test battery. *Pharmacol.Biochem.Behav.* **52**, 789-797.

- Gaffan, E.A., Bannerman, D.M. und Healey, A.N. (2003) Learning associations between places and visual cues without learning to navigate: neither fornix nor entorhinal cortex is required. *Hippocampus* **13**, 445-460.
- Gal, G., Joel, D., Gusk, O., Feldon, J. und Weiner, I. (1997) The effects of electrolytic lesions to the shell subterritory of the nucleus accumbens on delayed non-matching-to-sample and four-arm baited eight-arm radial-maze tasks. *Behav. Neuroscience* **111**, 92-103.
- Galani, R., Weiss, I., Cassel, J.C. und Kelche, C. (1998) Spatial memory, habituation, and reactions to spatial and nonspatial changes in rats with selective lesions of the hippocampus, the entorhinal cortex or the subiculum. *Behav. Brain Res.* **96**, 1-12.
- Galani, R., Obis, S., Coutureau, E., Jarrard, L. und Cassel, J.C. (2002) A comparison of the effects of fimbria-fornix, hippocampal, or entorhinal cortex lesions on spatial reference and working memory in rats: short versus long postsurgical recovery period. *Neurobiol. Learn. Mem.* **77**, 1-16.
- Geyer, M.A., Krebs-Thomson, K., Braff, D.L. und Swerdlow, N.R. (2001) Pharmacological studies of prepulse inhibition models of sensorimotor gating deficits in schizophrenia: a decade in review. *Psychopharmacology (Berl.)* **156**, 117-154.
- Goff, D.C. und Coyle, J.T. (2001) The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Am.J.Psychiatry* **158**, 1367-1377.
- Goldberg, T.E. und Gold, J.M. (1995) Neurocognitive deficits in schizophrenia. In: Hirsch, S.R. und Weinberger, D.R. (Eds.) *Schizophrenia*. Blackwell Science, S. 146-162.

- Goldman-Rakic, P.S. (1995) Cellular basis of working memory. *Neuron* **14**, 477-485.
- Goldman-Rakic, P.S. (1999) The physiological approach: functional architecture of working memory and disordered cognition in schizophrenia. *Biol.Psychiatry* **46**, 650-661.
- Good, M. und Honey, R.C. (1997) Dissociable effects of selective lesions to hippocampal subsystems on exploratory behavior, contextual learning, and spatial learning. *Behav.Neurosci.* **111**, 487-493.
- Goto, Y. und O'Donnell, P. (2002) Delayed mesolimbic system alteration in a developmental animal model of schizophrenia. *J.Neurosci.* **22**, 9070-9077.
- Goto, K., Ueki, A., Iso, H. und Morita, Y. (2004) Involvement of nucleus accumbens dopaminergic transmission in acoustic startle: Observations concerning prepulse inhibition in rats with entorhinal cortex lesions. *Psychiatry Clin.Neurosci.* **58**, 441-445.
- Grace, A.A. (2000) Gating of information flow within the limbic system and the pathophysiology of schizophrenia. *Brain Res.Rev.* **31**, 330-341.
- Grecksch, G., Bernstein, H.G., Becker, A., Holtt, V. und Bogerts, B. (1999) Disruption of latent inhibition in rats with postnatal hippocampal lesions. *Neuropsychopharmacology* **20**, 525-532.
- Greene, J.R., Kerkhoff, J.E., Guiver, L. und Totterdell, S. (2002) Structural and functional abnormalities of the hippocampal formation in rats with environmentally induced reductions in prepulse inhibition of acoustic startle. *Neuroscience* **103**, 315-323.
- Gutierrez-Figueroa, G.P., Dalmaz, C. und Izquierdo, I. (1997) Effects of entorhinal cortex lesions on memory in different tasks. *Braz.J.Med.Biol.Res.* **30**, 769-774.

- Hagan, J.J., Verheijck, E.E., Spigt, M.H. und Ruigt, G.S. (1992) Behavioural and electrophysiological studies of entorhinal cortex lesions in the rat. *Physiol.Behav.* **51**, 255-266.
- Hanlon, F.M. und Sutherland, R.J. (2000) Changes in adult brain and behavior caused by neonatal limbic damage: implications for the etiology of schizophrenia. *Behav.Brain Res.* **107**, 71-83.
- Harrison, P.J. (1999) The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain* **122**, 593-624.
- Harrop, C. und Trower, P. (2001) Why does schizophrenia develop at late adolescence? *Clin.Psychol.Rev.* **21**, 241-265.
- Hashimoto, K., Tomitaka, S., Narita, N., Minabe, Y., Iyo, M. und Fukui, S. (1996) Induction of heat shock protein (HSP)-70 in posterior cingulate and retrosplenial cortex of rat brain by dizocilpine and phencyclidine: lack of protective effects of sigma receptor ligands. *Addict.Biol.* **1**, 61-70.
- Heale, V. und Harley, C. (1990) MK-801 and AP5 impair acquisition, but not retention, of the Morris milk maze. *Pharmacol.Biochem.Behav.* **36**, 145-149.
- Heinsen, H., Gossmann, E., Rub, U., Eisenmenger, W., Bauer, M., Ulmar, G., Bethke, B., Schuler, M., Schmitt, H.P., Gotz, M., Lockemann, U. und Puschel, K. (1996) Variability in the human entorhinal region may confound neuropsychiatric diagnoses. *Acta Anat.(Basel.)* **157**, 226-237.
- Hirsch, S.R., Das, I., Garey, L.J. und de Belleruche, J. (1997) A pivotal role for glutamate in the pathogenesis of schizophrenia, and its cognitive dysfunction. *Pharmacol.Biochem.Behav.* **56**, 797-802.

- Ho, M.Y., Body, S., Kheramin, S., Bradshaw, C.M. und Szabadi, E. (2003) Effects of 8-OH-DPAT and WAY-100635 on performance on a time-constrained progressive-ratio schedule. *Psychopharmacology (Berl.)* **167**, 137-144.
- Hock, B.J.J. und Bunsey, M.D. (1998) Differential effects of dorsal and ventral hippocampal lesions. *J.Neurosci.* **18**, 7027-7032.
- Hodos, W. (1961) Progressive ratio as a measure of reward strength. *Science* **134**, 943-944.
- Hölscher, C. und Schmidt, W.J. (1994) Quinolinic acid lesion of the rat entorhinal cortex pars medialis produces selective amnesia in allocentric working memory (WM), but not in egocentric WM. *Behav.Brain Res.* **63**, 187-194.
- Horvath, Z.C., Czopf, J. und Buzsaki, G. (1997) MK-801-induced neuronal damage in rats. *Brain Res.* **753**, 181-195.
- Horvitz, J.C. (2002) Dopamine gating of glutamatergic sensorimotor and incentive motivational input signals to the striatum. *Behav.Brain Res.* **137**, 65-74.
- Hyman, B.T. und Gomez-Isla, T. (1996) Neuropathological markers of impaired cognition in the entorhinal cortex. *Neurobiol.Aging* **17**, 940-941.
- Insausti, R., Tunon, T., Sobreviela, T., Insausti, A.M. und Gonzalo, L.M. (1995) The human entorhinal cortex: a cytoarchitectonic analysis. *J.Comp.Neurol.* **355**, 171-198.
- Izquierdo, I. und Medina, J.H. (1993) Role of the amygdala, hippocampus and entorhinal cortex in memory consolidation and expression. *Braz.J.Med.Biol.Res.* **26**, 573-589.
- Jakob, H. und Beckmann, H. (1986) Prenatal developmental disturbances in the limbic allocortex in schizophrenics. *J.Neural Transm.* **65**, 303-326.

- Jakob, H. und Beckmann, H. (1994) Circumscribed malformation and nerve cell alterations in the entorhinal cortex of schizophrenics. Pathogenetic and clinical aspects. *J.Neural Transm.Gen.Sect.* **98**, 83-106.
- Jarrard, L.E. (1989) On the use of ibotenic acid to lesion selectively different components of the hippocampal formation. *J.Neurosci.Methods* **29**, 251-259.
- Jarrard, L.E. (1993) On the role of the hippocampus in learning and memory in the rat. *Behav.Neural Biol.* **60**, 9-26.
- Jarrard, L.E. (1995) What does the hippocampus really do? *Behav.Brain Res.* **71**, 1-10.
- Jentsch, J.D. und Roth, R.H. (1999) The neuropsychopharmacology of phencyclidine: from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* **20**, 201-225.
- Jentsch, J.D. und Taylor, J.R. (2001) Impaired inhibition of conditioned responses produced by subchronic administration of phencyclidine to rats. *Neuropsychopharmacology* **24**, 66-74.
- Jentsch, J.D., Tran, A., Le, D., Youngren, K.D. und Roth, R.H. (1997) Subchronic phencyclidine administration reduces mesoprefrontal dopamine utilization and impairs prefrontal cortical-dependent cognition in the rat. *Neuropsychopharmacology* **17**, 92-99.
- Jentsch, J.D., Taylor, J.R. und Roth, R.H. (1998) Subchronic phencyclidine administration increases mesolimbic dopaminergic system responsivity and augments stress- and psychostimulant-induced hyperlocomotion. *Neuropsychopharmacology* **19**, 105-113.

- Johnston, G.A., Curtis, D.R., De Groat, W.C. und Duggan, A.W. (1968) Central actions of ibotenic acid and muscimol. *Biochem.Pharmacol.* **17**, 2488-2489.
- Jongen-Rêlo, A.L., Leng, A., Luber, M., Pothuizen, H.H., Weber, L. und Feldon, J. (2004) The prenatal methylazoxymethanol acetate treatment: a neurodevelopmental animal model for schizophrenia? *Behav.Brain Res.* **149**, 159-181.
- Joyal, C.C., Laakso, M.P., Tiihonen, J., Syvalahti, E., Vilkmann, H., Laakso, A., Alakare, B., Rakkolainen, V., Salokangas, R.K. und Hietala, J. (2002) A volumetric MRI study of the entorhinal cortex in first episode neuroleptic-naive schizophrenia. *Biol.Psychiatry* **51**, 1005-1007.
- Kalivas, P.W., Churchill, L. und Klitenick, M.A. (1993) The circuitry mediating the translation of motivational stimuli into adaptive motor responses. In: Kalivas, P.W. und Barnes, C.D., (Eds.) *Limbic motor circuits and neuropsychiatry*. CRC Press: Boca Raton, S. 237-287.
- Kandel, E.R., Schwartz, J.H. und Jessell, T.M. (1996) *Neurowissenschaften: Eine Einführung*, Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
- Katsanis, J., Iacono, W.G. und Beiser, M. (1990) Anhedonia and perceptual aberration in first-episode psychotic patients and their relatives. *J.Abnorm.Psychol.* **99**, 202-206.
- Kelley, A.E. und Berridge, K.C. (2002) The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs. *J.Neurosci.* **22**, 3306-3311.
- Kempainen, S. und Pitkanen, A. (2000) Distribution of parvalbumin, calretinin, and calbindin-D(28k) immunoreactivity in the rat amygdaloid complex and colocalization with gamma-aminobutyric acid. *J.Comp.Neurol.* **426**, 441-467.

- Keseberg, U. und Schmidt, W.J. (1995) Low-dose challenge by the NMDA receptor antagonist dizocilpine exacerbates the spatial learning deficit in entorhinal cortex-lesioned rats. *Behav.Brain Res.* **67**, 255-261.
- Keshavan, M.S. (1999) Development, disease and degeneration in schizophrenia: a unitary pathophysiological model. *J.Psychiatr.Res.* **33**, 513-521.
- Keshavan, M.S. und Hogarty, G.E. (1999) Brain maturational processes and delayed onset in schizophrenia. *Dev.Psychopathol.* **11**, 525-543.
- Kesner, R.P. und Giles, R. (1998) Neural circuit analysis of spatial working memory: role of pre- and parasubiculum, medial and lateral entorhinal cortex. *Hippocampus* **8**, 416-423.
- Kesner, R.P., Farnsworth, G. und DiMattia, B.V. (1989) Double dissociation of egocentric and allocentric space following medial prefrontal and parietal cortex lesions in the rat. *Behav.Neurosci.* **103**, 956-961.
- Kesner, R.P., Bolland, B.L. und Dakis, M. (1993) Memory for spatial locations, motor responses, and objects: triple dissociation among the hippocampus, caudate nucleus, and extrastriate visual cortex. *Exp.Brain Res.* **93**, 462-470.
- Kim, J.S. und Levin, E.D. (1996) Nicotinic, muscarinic and dopaminergic actions in the ventral hippocampus and the nucleus accumbens: effects on spatial working memory in rats. *Brain Res.* **725**, 231-240.
- Kim, M. und Davis, M. (1993) Electrolytic lesions of the amygdala block acquisition and expression of fear-potentiated startle even with extensive training but do not prevent reacquisition. *Behav.Neurosci.* **107**, 580-595.
- Kiss, J., Buzsaki, G., Morrow, J.S., Glantz, S.B. und Leranth, C. (1996) Entorhinal cortical innervation of parvalbumin-containing neurons (Basket and Chandelier cells) in the rat Ammon's horn. *Hippocampus* **6**, 239-246.

- Klärner, A., Koch, M. und Schnitzler, H.-U. (1998) Induction of fos-protein in the forebrain and disruption of sensorimotor gating following N-methyl-D-aspartate infusion into the ventral hippocampus of the rat. *Neuroscience* **84**, 443-452.
- Kloosterman, F., Van Haeften, T., Witter, M.P. und Lopes, D.S.F. (2003) Electrophysiological characterization of interlaminar entorhinal connections: an essential link for re-entrance in the hippocampal-entorhinal system. *Eur.J.Neurosci.* **18**, 3037-3052.
- Koch, M. (1999) The neurobiology of startle. *Prog.Neurobiol.* **59**, 107-128.
- Koch, M. (2002) Tiermodelle in der Schizophrenie-Forschung. *Neuroforum* **8**, 236-244.
- Koch, M. und Bubser, M. (1994) Deficient sensorimotor gating after 6-hydroxydopamine lesion of the rat medial prefrontal cortex is reversed by haloperidol. *Eur.J.Neurosci.* **6**, 1837-1845.
- Koch, M. und Fendt, M. (2003) Startle response modulation as a behavioral tool in neuropharmacology. *Curr.Neuropharmacol.* **1**, 175-185.
- Koch, M. und Schnitzler, H.U. (1997) The acoustic startle response in rats--circuits mediating evocation, inhibition and potentiation. *Behav.Brain Res.* **89**, 35-49.
- Koch, M., Kungel, M. und Herbert, H. (1993) Cholinergic neurons in the pedunculo-pontine tegmental nucleus are involved in the mediation of prepulse inhibition of the acoustic startle response in the rat. *Exp.Brain Res.* **97**, 71-82.
- Kolb, B. (1990) Animal models for human PFC-related disorders. *Prog.Brain Res.* **85**, 501-519.

- Kolb, B. und Cioe, J. (2003) Recovery from early cortical damage in rats. IX. Differential behavioral and anatomical effects of temporal cortex lesions at different ages of neural maturation. *Behav.Brain Res.* **144**, 67-76.
- Kolb, B., Gibb, R., Gorny, G. und Wishaw, I.Q. (1998) Possible regeneration of rat medial frontal cortex following neonatal frontal lesions. *Behav.Brain Res.* **91**, 127-141.
- Kordower, J.H., Chu, Y., Stebbins, G.T., DeKosky, S.T., Cochran, E.J., Bennett, D. und Mufson, E.J. (2001) Loss and atrophy of layer II entorhinal cortex neurons in elderly people with mild cognitive impairment. *Ann.Neurol.* **49**, 202-213.
- Kraepelin, E., Barclay, R.M. und Robertson, G.M. (1919) *Dementia Praecox and Paraphrenia*, E and S Livingstone, Edinburgh.
- Krayniak, P.F., Meibach, R.C. und Siegel, A. (1981) A projection from the entorhinal cortex to the nucleus accumbens in the rat. *Brain Res.* **209**, 427-431.
- Kretschmer, B.D. und Fink, S. (1999) Spatial learning deficit after NMDA receptor blockade and state-dependency. *Behav.Pharmacol.* **10**, 423-428.
- Krimer, L.S., Herman, M.M., Saunders, R.C., Boyd, J.C., Hyde, T.M., Carter, J.M., Kleinman, J.E. und Weinberger, D.R. (1997) A qualitative and quantitative analysis of the entorhinal cortex in schizophrenia. *Cereb.Cortex* **7**, 732-739.
- Laruelle, M., Abi-Dargham, A., van Dyck, C.H., Gil, R., D'Souza, C.D., Erdos, J., McCance, E., Rosenblatt, W., Fingado, C., Zoghbi, S.S., Baldwin, R.M., Seibyl, J.P., Krystal, J.H., Charney, D.S. und Innis, R.B. (1996) Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* **93**, 9235-9240.

- Latysheva, N.V. und Rayevsky, K.S. (2003) Chronic neonatal N-methyl-D-aspartate receptor blockade induces learning deficits and transient hypoactivity in young rats. *Prog.Neuropsychopharmacol.Biol.Psychiatry* **27**, 787-794.
- Lauer, M., Senitz, D. und Beckmann, H. (2001) Increased volume of the nucleus accumbens in schizophrenia. *J.Neural Transm.* **108**, 645-660.
- Le Pen, G., Grottick, A.J., Higgins, G.A., Martin, J.R., Jenck, F. und Moreau, J.L. (2000) Spatial and associative learning deficits induced by neonatal excitotoxic hippocampal damage in rats: further evaluation of an animal model of schizophrenia. *Behav.Pharmacol.* **11**, 257-268.
- Lester, D. (1968) Effects of habituation to fear on the exploratory behavior of rats. *Nature* **220**, 932.
- Liddle, P.F. (1995) Brain imaging. In: Hirsch, S.R. und Weinberger, D.R., (Eds.) *Schizophrenia*. Blackwell Science, S. 425-442.
- Lillrank, S.M., Lipska, B.K., Kolachana, B.S. und Weinberger, D.R. (1999) Attenuated extracellular dopamine levels after stress and amphetamine in the nucleus accumbens of rats with neonatal ventral hippocampal damage. *J.Neural Transm.* **106**, 183-196.
- Linden, A.M., Vasainen, J., Wong, G. und Castren, E. (1997) NMDA receptor 2C subunit is selectively decreased by MK-801 in the entorhinal cortex. *Eur.J.Pharmacol* **319**, R1-R2.
- Lipska, B.K. und Weinberger, D.R. (1993) Delayed effects of neonatal hippocampal damage on haloperidol-induced catalepsy and apomorphine-induced stereotypic behaviors in the rat. *Dev.Brain Res.* **75**, 213-222.

- Lipska, B.K. und Weinberger, D.R. (1994) Subchronic treatment with haloperidol and clozapine in rats with neonatal excitotoxic hippocampal damage. *Neuropsychopharmacology* **10**, 199-205.
- Lipska, B.K. und Weinberger, D.R. (2000) To model a psychiatric disorder in animals: schizophrenia as a reality test. *Neuropsychopharmacology* **23**, 223-239.
- Lipska, B.K., Jaskiw, G.E. und Weinberger, D.R. (1993) Postpubertal emergence of hyperresponsiveness to stress and to amphetamine after neonatal excitotoxic hippocampal damage: a potential animal model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* **9**, 67-75.
- Lipska, B.K., Swerdlow, N.R., Geyer, M.A., Jaskiw, G.E., Braff, D.L. und Weinberger, D.R. (1995) Neonatal excitotoxic hippocampal damage in rats causes post-pubertal changes in prepulse inhibition of startle and its disruption by apomorphine. *Psychopharmacology (Berl.)* **122**, 35-43.
- Lipska, B.K., al-Amin, H.A. und Weinberger, D.R. (1998) Excitotoxic lesions of the rat medial prefrontal cortex. Effects on abnormal behaviors associated with neonatal hippocampal damage. *Neuropsychopharmacology* **19**, 451-464.
- Lipska, B.K., Aultman, J.M., Verma, A., Weinberger, D.R. und Moghaddam, B. (2002) Neonatal damage of the ventral hippocampus impairs working memory in the rat. *Neuropsychopharmacology* **27**, 47-54.
- Liu, P. und Bilkey, D.K. (1999) The effect of excitotoxic lesions centered on the perirhinal cortex in two versions of the radial arm maze task. *Behav. Neurosci.* **113**, 672-682.
- Lobato, M., Belmonte-De-Abreu, P., Knijnik, D., Teruchkin, B., Ghisolfi, E. und Henriques, A. (2001) Neurodevelopmental risk factors in schizophrenia. *Braz.J.Med.Biol.Res.* **34**, 155-163.

- Lohr, J.B. und Bracha, H.S. (1989) Can schizophrenia be related to prenatal exposure to alcohol? Some speculations. *Schizophr.Bull.* **15**, 595-603.
- Lopes-Machado, E.Z. und Duarte, F.A.M. (2000) Localization of genes modulating the predisposition to schizophrenia: a revision. *Genetics and Molecular Biology* **23**, 549-556.
- Löscher, W. und Honack, D. (1992) The behavioural effects of MK-801 in rats: involvement of dopaminergic, serotonergic and noradrenergic systems. *Eur.J.Pharmacol.* **215**, 199-208.
- Maguire, E.A., Burgess, N. und O'Keefe, J. (1999) Human spatial navigation: cognitive maps, sexual dimorphism, and neural substrates. *Curr.Opin.Neurobiol.* **9**, 171-177.
- Mansbach, R.S. und Geyer, M.A. (1989) Effects of phencyclidine and phencyclidine biologs on sensorimotor gating in the rat. *Neuropsychopharmacology* **2**, 299-308.
- Mansbach, R.S., Geyer, M.A. und Braff, D.L. (1988) Dopaminergic stimulation disrupts sensorimotor gating in the rat. *Psychopharmacology (Berl.)* **94**, 507-514.
- Martel, P. und Fantino, M. (1996) Mesolimbic dopaminergic system activity as a function of food reward: a microdialysis study. *Pharmacol.Biochem.Behav.* **53**, 221-226.
- Martin, P., Waters, N., Waters, S., Carlsson, A. und Carlsson, M.L. (1997) MK-801-induced hyperlocomotion: differential effects of M100907, SDZ PSD 958 and raclopride. *Eur.J.Pharmacol.* **335**, 107-116.

- Martinez, Z.A., Ellison, G.D., Geyer, M.A. und Swerdlow, N.R. (1999) Effects of sustained phencyclidine exposure on sensorimotor gating of startle in rats. *Neuropsychopharmacology* **21**, 28-39.
- Maruki, K., Izaki, Y., Hori, K., Nomura, M. und Yamauchi, T. (2001) Effects of rat ventral and dorsal hippocampus temporal inactivation on delayed alternation task. *Brain Res.* **895**, 273-276.
- Matthiessen, A. und Wright, C.R.A. (1869) Researches into the chemical constitutions of the opium bases. Part 1. On the action of hydrochloric acid on morphia. *Proc.Roy.Soc.Lond.Ser B* **17**, 455-460.
- Maynard, T.M., Sikich, L., Lieberman, J.A. und LaMantia, A.S. (2001) Neural development, cell-cell signaling, and the "two-hit" hypothesis of schizophrenia. *Schizophr.Bull.* **27**, 457-476.
- McDonald, A.J. und Mascagni, F. (2001) Colocalization of calcium-binding proteins and GABA in neurons of the rat basolateral amygdala. *Neuroscience* **105**, 681-693.
- McDonald, C. und Murray, R.M. (2000) Early and late environmental risk factors for schizophrenia. *Brain Res.Rev.* **31**, 130-137.
- McGrath, J., Chapple, B. und Wright, M. (2001) Working memory in schizophrenia and mania: correlation with symptoms during the acute and subacute phases. *Acta Psychiatr.Scand.* **103**, 181-188.
- Meador-Woodruff, J.H. und Healy, D.J. (2000) Glutamate receptor expression in schizophrenic brain. *Brain Res.Rev.* **31**, 288-294.
- Meier, S., Brauer, A.U., Heimrich, B., Nitsch, R. und Savaskan, N.E. (2004) Myelination in the hippocampus during development and following lesion. *Cell Mol.Life Sci.* **61**, 1082-1094.

- Mele, A., Thomas, D.N. und Pert, A. (1998) Different neural mechanisms underlie dizocilpine maleate- and dopamine agonist-induced locomotor activity. *Neuroscience* **82**, 43-58.
- Menon, V., Anagnoson, R.T., Mathalon, D.H., Glover, G.H. und Pfefferbaum, A. (2001) Functional neuroanatomy of auditory working memory in schizophrenia: relation to positive and negative symptoms. *Neuroimage* **13**, 433-446.
- Meredith, G.E., Wouterlood, F.G. und Pattiselanno, A. (1990) Hippocampal fibers make synaptic contacts with glutamate decarboxylase-immunoreactive neurons in the rat nucleus accumbens. *Brain Res.* **513**, 329-334.
- Meyer-Lindenberg, A., Miletich, R.S., Kohn, P.D., Esposito, G., Carson, R.E., Quarantelli, M., Weinberger, D.R. und Berman, K.F. (2002) Reduced prefrontal activity predicts exaggerated striatal dopaminergic function in schizophrenia. *Nat.Neurosci.* **5**, 267-271.
- Michaelis, E.K. (1998) Molecular biology of glutamate receptors in the central nervous system and their role in excitotoxicity, oxidative stress and aging. *Prog.Neurobiol.* **54**, 369-415.
- Miettinen, R., Sirvio, J., Riekkinen, P.S., Laakso, M.P., Riekkinen, M. und Riekkinen, P.J. (1993) Neocortical, hippocampal and septal parvalbumin- and somatostatin-containing neurons in young and aged rats: correlation with passive avoidance and water maze performance. *Neuroscience* **53**, 367-378.
- Miller, D.W. und Abercrombie, E.D. (1996) Effects of MK-801 on spontaneous and amphetamine-stimulated dopamine release in striatum measured with in vivo microdialysis in awake rats. *Brain Res.Bull.* **40**, 57-62.
- Mink, J.W. (1999) Basal ganglia. In: Zigmond, M.J., Bloom, F.E., Landis, S.C., Roberts, J.L. und Squire, L.R. (Eds.) *Fundamental neuroscience*. Academic Press: San Diego, S. 951-972.

- Mobini, S., Chiang, T.J., Ho, M.Y., Bradshaw, C.M. und Szabadi, E. (2000) Comparison of the effects of clozapine, haloperidol, chlorpromazine and d-amphetamine on performance on a time-constrained progressive ratio schedule and on locomotor behaviour in the rat. *Psychopharmacology (Berl.)* **152**, 47-54.
- Mogenson, G.J. und Nielsen, M. (1984) Neuropharmacological evidence to suggest that the nucleus accumbens and subpallidal region contribute to exploratory locomotion. *Behav. Neural Biol.* **42**, 52-60.
- Mogenson, G.J., Jones, D.L. und Yim, C.Y. (1980) From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Prog. Neurobiol.* **14**, 69-97.
- Mogenson, G.J., Brudzynski, S.M., Wu, M., Yang, C.R. und Yim, C.C.Y. (1993) From motivation to action: a review of dopaminergic regulation of limbic - nucleus accumbens - ventral pallidum - pedunculopontine nucleus circuitries involved in limbic-motor integration. In: Kalivas, P.W. und Barnes, C.D. (Eds.) *Limbic motor circuits and neuropsychiatry*. CRC Press: Boca Raton, S. 193-236.
- Morris, R.G., Schenk, F., Tweedie, F. und Jarrard, L.E. (1990) Ibotenate lesions of hippocampus and/or subiculum: dissociating components of allocentric spatial learning. *Eur.J.Neurosci.* **2**, 1016-1028.
- Nagahara, A.H., Otto, T. und Gallagher, M. (1995) Entorhinal-perirhinal lesions impair performance of rats on two versions of place learning in the Morris water maze. *Behav. Neurosci.* **109**, 3-9.
- Newcomer, J.W., Farber, N.B., Jevtovic-Todorovic, V., Selke, G., Melson, A.K., Hershey, T., Craft, S. und Olney, J.W. (1999) Ketamine-induced NMDA receptor hypofunction as a model of memory impairment and psychosis. *Neuropsychopharmacology* **20**, 106-118.

- Nitsch, R., Bergmann, I., Koppers, K., Mueller, G. und Frotscher, M. (1990) Late appearance of parvalbumin-immunoreactivity in the development of GABAergic neurons in the rat hippocampus. *Neurosci.Lett.* **118**, 147-150.
- O'Donnell, P. und Grace, A.A. (1998) Dysfunctions in multiple interrelated systems as the neurobiological bases of schizophrenic symptom clusters. *Schizophr.Bull.* **24**, 267-283.
- Oakley, N.R., Hayes, A.G. und Sheehan, M.J. (1991) Effect of typical and atypical neuroleptics on the behavioural consequences of activation by muscimol of mesolimbic and nigro-striatal dopaminergic pathways in the rat. *Psychopharmacology (Berl.)* **105**, 204-208.
- Olney, J.W. und Farber, N.B. (1995) Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Arch.Gen.Psychiatry* **52**, 998-1007.
- Olney, J.W., Labruyere, J., Wang, G., Wozniak, D.F., Price, M.T. und Sesma, M.A. (1991) NMDA antagonist neurotoxicity: mechanism and prevention. *Science* **254**, 1515-1518.
- Olney, J.W., Newcomer, J.W. und Farber, N.B. (1999) NMDA receptor hypofunction model of schizophrenia. *J.Psychiatr.Res.* **33**, 523-533.
- Olton, D.S. (1979) Mazes, maps, and memory. *Am.Psychol.* **34**, 583-596.
- Olton, D.S. und Samuelson, R.J. (1976) Remembrance of places past: spatial memory in rats. *Animal Behav.Proc.* **2**, 97-116.
- Pantelis, C., Velakoulis, D., McGorry, P.D., Wood, S.J., Suckling, J., Phillips, L.J., Yung, A.R., Bullmore, E.T., Brewer, W., Soulsby, B., Desmond, P. und McGuire, P.K. (2003) Neuroanatomical abnormalities before and after onset of psychosis: a cross-sectional and longitudinal MRI comparison. *Lancet* **361**, 281-288.

- Paule, M.G. (1994) Acute behavioral toxicity of MK-801 and phencyclidine: effects on rhesus monkey performance in an operant test battery. *Psychopharmacol.Bull.* **30**, 613-621.
- Paxinos, G. und Watson, C. (1998) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press: San Diego.
- Pijnenburg, A.J., Honig, W.M., Van der Heyden, J.A. und Van Rossum, J.M. (1976) Effects of chemical stimulation of the mesolimbic dopamine system upon locomotor activity. *Eur.J.Pharmacol.* **35**, 45-58.
- Pochon, J.B., Levy, R., Fossati, P., Lehericy, S., Poline, J.B., Pillon, B., Le Bihan, D. und Dubois, B. (2002) The neural system that bridges reward and cognition in humans: an fMRI study. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* **99**, 5669-5674.
- Poltorak, M., Sadoul, R., Keilhauer, G., Landa, C., Fahrig, T. und Schachner, M. (1987) Myelin-associated glycoprotein, a member of the L2/HNK-1 family of neural cell adhesion molecules, is involved in neuron-oligodendrocyte and oligodendrocyte-oligodendrocyte interaction. *J.Cell Biol.* **105**, 1893-1899.
- Poncelet, M., Chermat, R., Soubrie, P. und Simon, P. (1983) The progressive ratio schedule as a model for studying the psychomotor stimulant activity of drugs in the rat. *Psychopharmacology (Berl.)* **80**, 184-189.
- Potegal, M. (1969) Role of the caudate nucleus in spatial orientation of rats. *J.Comp.Physiol.Psychol.* **69**, 756-764.
- Pouzet, B., Welzl, H., Gubler, M.K., Broersen, L., Veenman, C.L., Feldon, J., Rawlins, J.N. und Yee, B.K. (1999) The effects of NMDA-induced retrohippocampal lesions on performance of four spatial memory tasks known to be sensitive to hippocampal damage in the rat. *Eur.J.Neurosci.* **11**, 123-140.

- Ragozzino, M.E., Detrick, S. und Kesner, R.P. (1999) Involvement of the prelimbic-infralimbic areas of the rodent prefrontal cortex in behavioral flexibility for place and response learning. *J.Neurosci.* **19**, 4585-4594.
- Ramón y Cajal, S. (1901) *Studie über die Hirnrinde des Menschen*, Leipzig: J.A.Barth.
- Ramón y Cajal, S. (1911) *Histologie du Système Nerveux de l'Homme et des Vertébrés*, Maloine: Paris.
- Rao, S.G., Williams, G.V. und Goldman-Rakic, P.S. (2000) Destruction and creation of spatial tuning by disinhibition: GABA(A) blockade of prefrontal cortical neurons engaged by working memory. *J.Neurosci.* **20**, 485-494.
- Reilly, S. (1999) Reinforcement value of gustatory stimuli determined by progressive ratio performance. *Pharmacol.Biochem.Behav.* **63**, 301-311.
- Rice, D. und Barone, S.J. (2000) Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environ.Health Perspect.* **108**, 511-533.
- Robbins, T.W. und Everitt, B.J. (1996) Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Curr.Opin.Neurobiol.* **6**, 228-236.
- Roberts, D.C. (1989) Breaking points on a progressive ratio schedule reinforced by intravenous apomorphine increase daily following 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens. *Pharmacol.Biochem.Behav.* **32**, 43-47.
- Rothblat, L.A., Vnek, N., Gleason, T.C. und Kromer, L.F. (1993) Role of the parahippocampal region in spatial and non-spatial memory: effects of parahippocampal lesions on rewarded alternation and concurrent object discrimination learning in the rat. *Behav.Brain Res.* **55**, 93-100.

- Salamone, J.D. und Correa, M. (2002) Motivational views of reinforcement: implications for understanding the behavioral functions of nucleus accumbens dopamine. *Behav.Brain Res.* **137**, 3-25.
- Salamone, J.D., Cousins, M.S., McCullough, L.D., Carriero, D.L. und Berkowitz, R.J. (1994) Nucleus accumbens dopamine release increases during instrumental lever pressing for food but not free food consumption. *Pharmacol.Biochem.Behav.* **49**, 25-31.
- Sarter, M. und Steckler, T. (1989) Spontaneous exploration of a 6-arm radial tunnel maze by basal forebrain lesioned rats: effects of the benzodiazepine receptor antagonist beta-carboline ZK 93 426. *Psychopharmacology (Berl.)* **98**, 193-202.
- Savaskan, N.E., Plaschke, M., Ninnemann, O., Spillmann, A.A., Schwab, M.E., Nitsch, R. und Skutella, T. (1999) Myelin does not influence the choice behaviour of entorhinal axons but strongly inhibits their outgrowth length in vitro. *Eur.J.Neurosci.* **11**, 316-326.
- Schacter, G.B., Yang, C.R., Innis, N.K. und Mogenson, G.J. (1989) The role of the hippocampal-nucleus accumbens pathway in radial-arm maze performance. *Brain Res.* **494**, 339-349.
- Schroeder, H., Grecksch, G., Becker, A., Bogerts, B. und Hoell, V. (1999) Alterations of the dopaminergic and glutamatergic neurotransmission in adult rats with postnatal ibotenic acid hippocampal lesion. *Psychopharmacology (Berl.)* **145**, 61-66.
- Schulz, B., Fendt, M., Pedersen, V. und Koch, M. (2001) Sensitization of prepulse inhibition deficits by repeated administration of dizocilpine. *Psychopharmacology (Berl.)* **156**, 177-181.

- Schwabe, K. und Koch, M. (2004) Role of the medial prefrontal cortex in N-methyl-D-aspartate receptor antagonist induced sensorimotor gating deficit in rats. *Neurosci.Lett.* **355**, 5-8.
- Schwienbacher, I., Fendt, M., Hauber, W. und Koch, M. (2002) Dopamine D(1) receptors and adenosine A(1) receptors in the rat nucleus accumbens regulate motor activity but not prepulse inhibition. *Eur.J.Pharmacol.* **444**, 161-169.
- Seress, L., Gulyas, A.I., Ferrer, I., Tunon, T., Soriano, E. und Freund, T.F. (1993) Distribution, morphological features, and synaptic connections of parvalbumin- and calbindin D28k-immunoreactive neurons in the human hippocampal formation. *J.Comp.Neurol.* **337**, 208-230.
- Sesack, S.R. und Pickel, V.M. (1990) In the rat medial nucleus accumbens, hippocampal and catecholaminergic terminals converge on spiny neurons and are in apposition to each other. *Brain Res.* **527**, 266-279.
- Sewards, T.V. und Sewards, M.A. (2003) Input and output stations of the entorhinal cortex: superficial vs. deep layers or lateral vs. medial divisions? *Brain Res.Rev.* **42**, 243-251.
- Shapiro, M.L. und O'Connor, C. (1992) N-methyl-D-aspartate receptor antagonist MK-801 and spatial memory representation: working memory is impaired in an unfamiliar environment but not in a familiar environment. *Behav.Neurosci.* **106**, 604-612.
- Sharkey, J., Ritchie, I.M., Butcher, S.P. und Kelly, J.S. (1996) Comparison of the patterns of altered cerebral glucose utilisation produced by competitive and non-competitive NMDA receptor antagonists. *Brain Res.* **735**, 67-82.
- Shi, L., Fatemi, S.H., Sidwell, R.W. und Patterson, P.H. (2003) Maternal influenza infection causes marked behavioral and pharmacological changes in the offspring. *J.Neurosci.* **23**, 297-302.

- Sircar, R. (2000) Developmental maturation of the N-methyl-D-aspartic acid receptor channel complex in postnatal rat brain. *Int.J.Dev.Neurosci.* **18**, 121-131.
- Skinner, R.D. und Garcia-Rill, E. (1993) Mesolimbic interactions with mesopontine modulation of locomotion. In: Kalivas, P.W und Barnes, C.D. (Eds.) *Limbic motor circuits and neuropsychiatry*. CRC Press: Boca Raton. S. 155-191.
- Solbach, S. und Celio, M.R. (1991) Ontogeny of the calcium binding protein parvalbumin in the rat nervous system. *Anat.Embryol.(Berl.)* **184**, 103-124.
- Spanagel, R. und Weiss, F. (1999) The dopamine hypothesis of reward: past and current status. *Trends Neurosci.* **22**, 521-527.
- Stafford, D. und Branch, M.N. (1998) Effects of step size and break-point criterion on progressive-ratio performance. *J.Exp.Anal.Behav.* **70**, 123-138.
- Stewart, W.J. (1975) Progressive reinforcement schedules: a review and evaluation. *Austr.J.Psychology* **27**, 9-22.
- Strauss, C.V., Maissonette, S.S., Coimbra, N.C. und Zangrossi, H.J. (2003) Effects of N-methyl-D-aspartate-induced amygdala lesion in rats submitted to the elevated T-maze test of anxiety. *Physiol.Behav.* **78**, 157-163.
- Suzuki, M. und Raisman, G. (1994) Multifocal pattern of postnatal development of the macroglial framework of the rat fimbria. *Glia* **12**, 294-308.
- Suzuki, T., Yamamoto, T., Hori, T., Abe, S., Moroji, T., Shiraishi, H., Ito, T. und Ho, I.K. (1995) Quantitative autoradiographic localization of [3H]3-OH-PCP (1-(1(3-hydroxyphenyl)cyclohexyl)piperidine) binding sites in rat brain. *Brain Res.Bull.* **37**, 431-435.

- Swanson, L.W. (2000) Cerebral hemisphere regulation of motivated behavior. *Brain Res.* **886**, 113-164.
- Swerdlow, N.R. und Geyer, M.A. (1993) Prepulse inhibition of acoustic startle in rats after lesions of the pedunculo-pontine tegmental nucleus. *Behav. Neurosci.* **107**, 104-117.
- Swerdlow, N.R., Braff, D.L., Masten, V.L. und Geyer, M.A. (1990) Schizophrenic-like sensorimotor gating abnormalities in rats following dopamine infusion into the nucleus accumbens. *Psychopharmacology (Berl.)* **101**, 414-420.
- Swerdlow, N.R., Braff, D.L., Taaid, N. und Geyer, M.A. (1994) Assessing the validity of an animal model of deficient sensorimotor gating in schizophrenic patients. *Arch. Gen. Psychiatry* **51**, 139-154.
- Swerdlow, N.R., Lipska, B.K., Weinberger, D.R., Braff, D.L., Jaskiw, G.E. und Geyer, M.A. (1995) Increased sensitivity to the sensorimotor gating-disruptive effects of apomorphine after lesions of medial prefrontal cortex or ventral hippocampus in adult rats. *Psychopharmacology (Berl.)* **122**, 27-34.
- Swerdlow, N.R., Taaid, N., Halim, N., Randolph, E., Kim, Y.K. und Auerbach, P. (2000) Hippocampal lesions enhance startle gating-disruptive effects of apomorphine in rats: a parametric assessment. *Neuroscience* **96**, 523-536.
- Swerdlow, N.R., Geyer, M.A. und Braff, D.L. (2001a) Neural circuit regulation of prepulse inhibition of startle in the rat: current knowledge and future challenges. *Psychopharmacology (Berl.)* **156**, 194-215.
- Swerdlow, N.R., Halim, N., Hanlon, F.M., Platten, A. und Auerbach, P.P. (2001b) Lesion size and amphetamine hyperlocomotion after neonatal ventral hippocampal lesions: more is less. *Brain Res. Bull.* **55**, 71-77.

- Taber, M.T., Das, S. und Fibiger, H.C. (1995) Cortical regulation of subcortical dopamine release: mediation via the ventral tegmental area. *J.Neurochem.* **65**, 1407-1410.
- Talalaenko, A.N., Abramets, I.A., Stakhovskii, YuV, Shekhovtsov, A.A., Chernikov, A.V. und Shevchenko, S.L. (1994) The role of dopaminergic mechanisms on the brain in various models of anxious states. *Neurosci.Behav.Physiol.* **24**, 284-288.
- Talamini, L.M., Koch, T., Ter Horst, G.J. und Korf, J. (1998) Methylazoxymethanol acetate-induced abnormalities in the entorhinal cortex of the rat; parallels with morphological findings in schizophrenia. *Brain Res.* **789**, 293-306.
- Talamini, L.M., Koch, T., Luiten, P.G., Koolhaas, J.M. und Korf, J. (1999) Interruptions of early cortical development affect limbic association areas and social behaviour in rats; possible relevance for neurodevelopmental disorders. *Brain Res.* **847**, 105-120.
- Tamminga, C.A., Schaffer, M.H., Smith, R.C. und Davis, J.M. (1978) Schizophrenic symptoms improve with apomorphine. *Science* **200**, 567-568.
- Thomas, S.R., Assaf, S.Y. und Iversen, S.D. (1984) Amygdaloid complex modulates neurotransmission from the entorhinal cortex to the dentate gyrus of the rat. *Brain Res.* **307**, 363-365.
- Tkachev, D., Mimmack, M.L., Ryan, M.M., Wayland, M., Freeman, T., Jones, P.B., Starkey, M., Webster, M.J., Yolken, R.H. und Bahn, S. (2003) Oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia and bipolar disorder. *Lancet* **362**, 798-805.
- Tolman, E.C. (1948) Cognitive maps in rats and men. *Psychol.Rev.* **55**, 189-208.

- Totterdell, S. und Meredith, G.E. (1997) Topographical organization of projections from the entorhinal cortex to the striatum of the rat. *Neuroscience* **78**, 715-729.
- Tsien, J.Z., Huerta, P.T. und Tonegawa, S. (1996) The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory. *Cell* **87**, 1327-1338.
- Turner, E.E., Fedtsova, N. und Jeste, D.V. (1997) Cellular and molecular neuropathology of schizophrenia: new directions from developmental neurobiology. *Schizophr.Res.* **27**, 169-180.
- Uehara, T., Tanii, Y., Sumiyoshi, T. und Kurachi, M. (2000) Neonatal lesions of the left entorhinal cortex affect dopamine metabolism in the rat brain. *Brain Res.* **860**, 77-86.
- Van den Buuse, M., Garner, B. und Koch, M. (2003) Neurodevelopmental animal models of schizophrenia: effects on prepulse inhibition. *Curr.Mol.Med.* **3**, 459-471.
- Vanderschuren, L.J. und Kalivas, P.W. (2000) Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. *Psychopharmacology (Berl.)* **151**, 99-120.
- Vollenweider, F.X., Leenders, K.L., Scharfetter, C., Antonini, A., Maguire, P., Missimer, J. und Angst, J. (1997) Metabolic hyperfrontality and psychopathology in the ketamine model of psychosis using positron emission tomography (PET) and [18F]fluorodeoxyglucose (FDG). *Eur.Neuropsychopharmacol.* **7**, 9-24.
- Vollenweider, F.X., Vontobel, P., Oye, I., Hell, D. und Leenders, K.L. (2000) Effects of (S)-ketamine on striatal dopamine: a [11C]raclopride PET study of a model psychosis in humans. *J.Psychiatr.Res.* **34**, 35-43.

- Voruganti, L.N., Heslegrave, R.J. und Awad, A.G. (1997) Neurocognitive correlates of positive and negative syndromes in schizophrenia. *Can.J.Psychiatry* **42**, 1066-1071.
- Waddington, J.L. (1995) The clinical psychopharmacology of antipsychotic drugs in schizophrenia. In: Hirsch, S.R. und Weinberger, D.R. (Eds.) *Schizophrenia*. Blackwell Science, S. 341-357.
- Wall, P.M. und Messier, C. (2001) The hippocampal formation--orbitomedial prefrontal cortex circuit in the attentional control of active memory. *Behav.Brain Res.* **127**, 99-117.
- Wan, F.J. und Swerdlow, N.R. (1993) Intra-accumbens infusion of quinpirole impairs sensorimotor gating of acoustic startle in rats. *Psychopharmacology (Berl.)* **113**, 103-109.
- Wan, F.J. und Swerdlow, N.R. (1997) The basolateral amygdala regulates sensorimotor gating of acoustic startle in the rat. *Neuroscience* **76**, 715-724.
- Wan, R.Q., Giovanni, A., Kafka, S.H. und Corbett, R. (1996) Neonatal hippocampal lesions induced hyperresponsiveness to amphetamine: behavioral and in vivo microdialysis studies. *Behav.Brain Res.* **78**, 211-223.
- Wang, X. und Lambert, N.A. (2003) Membrane properties of identified lateral and medial perforant pathway projection neurons. *Neuroscience* **117**, 485-492.
- Ward, M.T., Oler, J.A. und Markus, E.J. (1999) Hippocampal dysfunction during aging I: deficits in memory consolidation. *Neurobiol.Aging* **20**, 363-372.
- Weinberger, D.R. (1995) Schizophrenia as a neurodevelopment disorder. In: Hirsch, S.R. und Weinberger, D.R. (Eds.) *Schizophrenia*. Blackwell Science, S. 293-323.

- Weinberger, D.R. und Lipska, B.K. (1995) Cortical maldevelopment, anti-psychotic drugs, and schizophrenia: a search for common ground. *Schizophr.Res.* **16**, 87-110.
- Weiner, I., Gal, G., Rawlins, J.N. und Feldon, J. (1996) Differential involvement of the shell and core subterritories of the nucleus accumbens in latent inhibition and amphetamine-induced activity. *Behav.Brain Res.* **81**, 123-133.
- Wenzel, A., Fritschy, J.M., Mohler, H. und Benke, D. (1997) NMDA receptor heterogeneity during postnatal development of the rat brain: differential expression of the NR2A, NR2B, and NR2C subunit proteins. *J.Neurochem.* **68**, 469-478.
- West, M.J. (1993) New stereological methods for counting neurons. *Neurobiol.Aging* **14**, 275-285.
- West, M.J. (1999) Stereological methods for estimating the total number of neurons and synapses: issues of precision and bias. *Trends.Neurosci.* **22**, 51-61.
- Whishaw, I.Q. und Auer, R.N. (1989) Immediate and long-lasting effects of MK-801 on motor activity, spatial navigation in a swimming pool and EEG in the rat. *Psychopharmacology (Berl.)* **98**, 500-507.
- Whishaw, I.Q., McKenna, J.E. und Maaswinkel, H. (1997) Hippocampal lesions and path integration. *Curr.Opin.Neurobiol.* **7**, 228-234.
- White, N.M. (1997) Mnemonic functions of the basal ganglia. *Curr.Opin.Neurobiol.* **7**, 164-169.
- Whitton, P.S. (1997) Glutamatergic control over brain dopamine release in vivo and in vitro. *Neurosci.Biobehav.Rev.* **21**, 481-488.

- Wichmann, T. und DeLong, M.R. (1996) Functional and pathophysiological models of the basal ganglia. *Curr.Opin.Neurobiol.* **6**, 751-758.
- Wilkinson, L.S., Killcross, S.S., Humby, T., Hall, F.S., Geyer, M.A. und Robbins, T.W. (1994) Social isolation in the rat produces developmentally specific deficits in prepulse inhibition of the acoustic startle response without disrupting latent inhibition. *Neuropsychopharmacology* **10**, 61-72.
- Witter, M.P., Groenewegen, H.J., Lopes, D.S.F. und Lohman, A.H. (1989) Functional organization of the extrinsic and intrinsic circuitry of the parahippocampal region. *Prog.Neurobiol.* **33**, 161-253.
- Wolf, M.E. (1998) The role of excitatory amino acids in behavioral sensitization to psychomotor stimulants. *Prog.Neurobiol.* **54**, 679-720.
- Wolterink, G., Daenen, E.W.P.M. und Van Ree, J.M. (2000) Animal models for schizophrenia. *Neurosci.Res.Communications* **27**, 143-154.
- Woods, B.T. (1998) Is schizophrenia a progressive neurodevelopmental disorder? Toward a unitary pathogenetic mechanism. *Am.J.Psychiatry* **155**, 1661-1670.
- World Health Organization (1992) *The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders: clinical descriptions and diagnostic guidelines*, 10 edn. Geneva.
- Worrel, J.A., Marken, P.A., Beckman, S.E. und Ruehler, V.L. (2000) Atypical antipsychotic agents: a critical review. *Am.J.Health Syst.Pharm.* **57**, 238-255.
- Wright, I.C., Rabe-Hesketh, S., Woodruff, P.W., David, A.S., Murray, R.M. und Bullmore, E.T. (2000) Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *Am.J.Psychiatry* **157**, 16-25.

- Xu, X. und Domino, E.F. (1994) Phencyclidine-induced behavioral sensitization. *Pharmacol.Biochem.Behav.* **47**, 603-608.
- Yeomans, J.S. und Frankland, P.W. (1996) The acoustic startle reflex: neurons and connections. *Brain Res.Rev.* **21**, 301-314.
- Yin, X., Crawford, T.O., Griffin, J.W., Tu, P., Lee, V.M., Li, C., Roder, J. und Trapp, B.D. (1998) Myelin-associated glycoprotein is a myelin signal that modulates the caliber of myelinated axons. *J.Neurosci.* **18**, 1953-1962.
- Young, B.J., Otto, T., Fox, G.D. und Eichenbaum, H. (1997) Memory representation within the parahippocampal region. *J.Neurosci.* **17**, 5183-5195.
- Zhang, Z.J. und Reynolds, G.P. (2002) A selective decrease in the relative density of parvalbumin-immunoreactive neurons in the hippocampus in schizophrenia. *Schizophr.Res.* **55**, 1-10.
- Zola-Morgan, S. und Squire, L.R. (1993) Neuroanatomy of memory. *Annu.Rev.Neurosci.* **16**, 547-563.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Michael Koch danke ich für die Überlassung des Themas, die wissenschaftliche Anleitung bei der Durchführung der Versuche und der Abfassung dieser Dissertation sowie für die jederzeit gewährte freundliche und geduldige Unterstützung.

Bei Frau Dr. Kerstin Schwabe bedanke ich mich für die jederzeit gewährte Hilfe und die Anleitung zur praktischen Durchführung der Experimente sowie für die geduldige Beantwortung zahlreicher Fragen und die kritische Durchsicht des Manuskripts. Insbesondere möchte ich ihr für ihre freundschaftliche Unterstützung danken.

Frau Dr. Astrid Matthews danke ich für die unermüdliche Durchsicht des Manuskripts und für die jederzeit gewährte Unterstützung und Hilfsbereitschaft.

Herrn Martin Harich danke ich für die Hilfe beim Korrekturlesen, vor allem aber für die moralische Unterstützung in vielen aufmunternden und kurzweiligen Telefonaten, die vor allem in der Endphase so manchen trüben Tag etwas freundlicher gemacht haben.

Bei Frau Maja Brandt und Herrn Jan Brosda bedanke ich mich für die hilfreiche Unterstützung bei der Färbung der vielen Hirnschnitte.

Frau PD Dr. Ursula Dicke danke ich für die Übernahme des 2. Gutachtens.

Bei meinen Eltern möchte ich mich herzlich für die moralische Unterstützung und für das in mich gesetzte Vertrauen bedanken.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, die mich als wissenschaftliche Mitarbeiterin im Teilprojekt A11 des Sonderforschungsbereiches 517 („Neuronale Grundlagen kognitiver Leistungen“) gefördert hat, danke ich für die finanzielle Unterstützung.