

**Einfluss emotionaler Deprivation auf die neurochemische und  
strukturelle Entwicklung limbischer Strukturen und auf das emotionale  
Verhalten bei Nagern (*Octodon degus*)**

**Dissertation**  
**zur Erlangung des akademischen Grades**

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

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

von Dipl.-Psych./Dipl.-Neurowiss. Katja Seidel, geb. Becker

geb.am 08.06.1975                      in Jena

Gutachter:    Prof. Dr. Anna Katharina Braun  
                  Prof. Dr. Hans-Joachim Bischof

eingereicht am: 23.04.2007

verteidigt am: 02.07.2007

**Eidesstattliche Erklärung**

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe.

Magdeburg, 23.04.2007

Besonderer Dank gilt Frau Prof. Katharina Braun und Frau Dr. Carina Helmeke für die Stellung des interessanten Themas, die wissenschaftliche Betreuung und ihre allzeitige Diskussionsbereitschaft.

Danken möchte ich auch meiner Tochter Helena für ihre Ausgeglichenheit und ihren gesegneten Schlaf und meinem Mann für seine ausdauernde Unterstützung.

---

**Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>9</b>
2.1	Zielsetzung und Fragestellungen .....	9
2.2	Bedeutung des Vaters, Vaterentbehrung und Verhaltensentwicklung .....	15
2.3	Funktionelle Hirnsysteme für die Emotionsregulation .....	17
2.4	Funktionelle Neuronen- und Fasersysteme .....	26
2.5	Abschließende Zusammenstellung der einzelnen Fragestellungen .....	37
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>39</b>
3.1	Versuchstiere .....	39
3.2	Verhaltensanalyse .....	40
3.2.1	<i>Soziales Verhalten im Familienverband</i> .....	40
3.2.2	<i>Analyse des Verhaltens in der Open-Field-Arena: Exploration, Angstverhalten.</i>	44
3.2.3	<i>Analyse des Lernverhaltens und impulsiver Verhaltensweisen</i> .....	46
3.3	<b>Neuroanatomische Analysen</b> .....	<b>53</b>
3.3.1	<i>Golgi-Imprägnierung - Analyse des exzitatorischen Inputs auf Pyramidenzellen</i>	53
3.3.2	<i>Immunhistochemische Analyse inhibitorischer und modulatorischer Neuronenpopulationen</i> .....	58
3.3.3	<i>Hirn- und Körpergewichte</i> .....	65
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>66</b>
4.1	<b>Soziales Verhalten im Familienverband</b> .....	<b>66</b>
4.2	<b>Verhaltenstests</b> .....	<b>71</b>
4.2.1	<i>Explorations- und Angstverhalten</i> .....	71
4.2.2	<i>Skinner-Box</i> .....	77
4.2.2.1	<i>Lernleistungen</i> .....	77
4.2.2.2	<i>Impulsivität</i> .....	78
4.3	<b>Neuroanatomische Ergebnisse</b> .....	<b>80</b>
4.3.1	<i>Orbitofrontaler Cortex</i> .....	80
4.3.1.1	<i>Morphologische Änderungen an Pyramidenzellen der Schichten II/III</i> .....	80
4.3.1.2	<i>Modifikationen des inhibitorischen Systems</i> .....	83

4.3.1.3	<i>Änderungen des extra-hypothalamischen CRF-Systems</i>	85
4.3.1.4	<i>Veränderung katecholaminerger Fasersysteme</i>	87
4.3.1.5	<i>Zusammenfassung der Ergebnisse im orbitofrontalen Cortex</i>	88
4.3.2	<i>Amygdala</i>	89
4.3.2.1	<i>Morphologische Änderungen pyramidaler Neurone</i>	89
4.3.2.2	<i>Modifikationen des inhibitorischen Systems</i>	92
4.3.2.3	<i>Änderungen des extra-hypothalamischen CRF-Systems</i>	96
4.3.2.4	<i>Umgestaltung katecholaminerger Fasersysteme</i>	99
4.3.2.5	<i>Zusammenfassung der Ergebnisse in der Amygdala</i>	101
4.3.3	<i>Hippocampus</i>	102
4.3.3.1	<i>Morphologische Änderungen hippocampaler Projektionsneurone</i>	102
4.3.3.2	<i>Modifikationen des inhibitorischen Systems</i>	103
4.3.3.3	<i>Änderungen des extra-hypothalamischen CRF-Systems</i>	107
4.3.3.4	<i>Umgestaltung katecholaminerger Fasersysteme</i>	110
4.3.3.5	<i>Zusammenfassung der Ergebnisse im Hippocampus</i>	111
4.3.4	<i>Vergleich der Gehirn- und Körpergewichte</i>	112
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>113</b>
5.1	<b>Methodologische Überlegungen</b>	<b>113</b>
5.2	<b>Die Bedeutung väterlicher Fürsorge bei der Entwicklung sozialer und kognitiver Verhaltensweisen seiner Nachkommen</b>	<b>119</b>
5.3	<b>Der Einfluss väterlicher Fürsorge auf die Ausreifung neuronaler Strukturen</b>	<b>124</b>
5.4	<b>Allgemeine Diskussion und Ausblick</b>	<b>137</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>140</b>

**Abbildungsverzeichnis**

**Tabellenverzeichnis**

**Abkürzungsverzeichnis**

**Anhang**

Tabellen

Curriculum vitae

## 1 Zusammenfassung

Ohne Vater herangewachsene Kinder sind einer deutlich erhöhten Gefahr ausgesetzt, Entwicklungsstörungen, Drogen- und Alkoholmissbrauch, schlechte schulische und berufliche Leistungen, sowie Kriminalität zu entwickeln. Ziel dieser Arbeit war, Verhaltenskonsequenzen und neuronale Strukturen zu untersuchen, die dieser Entwicklung zugrunde liegen. Anhand eines biparentalen Tiermodells *Octodon degus* wurde der Einfluss väterlicher Fürsorge im Familienverband auf das Sozial-, Angst-, Lern- und impulsive Verhalten, sowie die neuromorphologischen und neurochemischen Korrelate dieser Verhaltensänderungen in corticalen und subcorticalen Hirnarealen untersucht. Diese Resultate unterstützen die Arbeitshypothese dieser Dissertation, dass fehlende väterliche Fürsorge eine veränderte neuronale Entwicklung der präfrontalen und limbischen Areale induziert, die zu manifesten Veränderungen des Verhaltensrepertoires vaterdeprivierter Tiere führen können. Demzufolge könnte die paternale Deprivation in der frühen Entwicklung hochentwickelter Tierarten ein geeignetes Modell für zahlreiche psychopathologische Störungen und Defizite in der Persönlichkeitsentwicklung oder intellektueller und sozialer Fähigkeiten darstellen, die eng mit dem Verlust väterlicher Fürsorge in Verbindung gebracht werden.

Der quantitative Vergleich des Sozialverhaltens von Degufamilien mit beiden Elternteilen und vaterdeprivierter Familien zeigte, dass „allein erziehende“ Degumütter das Fehlen des Vaters nicht kompensieren, d.h. ihren Jungen nicht mehr Fürsorge entgegenbringen als Mütter aus biparentalen Familien. Ohne Vater aufgewachsene Degujunge erhalten demnach weniger elterliche Fürsorge und wachsen in einer sozio-emotionalen „Teildeprivation“ auf. Vaterdeprivierte Jungtiere, die unter einer verminderten elterlichen Fürsorge aufwuchsen, zeigen eine Verringerung der Kontakte zu den Eltern, entwickeln eine erhöhte Frequenz kämpferischen Spielverhaltens und zeigen später als Erwachsene impulsive Verhaltensweisen, schlechtere Lernleistungen, sowie vermehrte angstkorrelierte Verhaltensweisen in einer fremden Umgebung. Auf neuromorphologischer und neurochemischer Ebene zeigten vaterdeprivierte im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Tieren eine verringerte absolute Zahl und Dichte dendritischer Spines, d.h. exzitatorischer Synapsen, an Pyramidenzellen der Schicht II/III des orbitofrontalen Cortex (juvenile und adulte Tiere), wie auch kürzere Dendritenlängen (adulte Tiere). Pyramidenzellen der lateralen Amygdala wiesen ebenfalls verminderte absolute Spinezahlen und Spinedichten auf (juvenile und adulte Tiere), während im Hippocampus

keine neuronalen Veränderungen exzitatorischer Projektionsneurone nachweisbar waren. In bezug auf die inhibitorischen neuronalen Systeme wurden in allen analysierten Regionen Unterschiede in der Dichte  $\gamma$ -Aminobuttersäure-(GABA)erger Interneurone, neurochemisch charakterisiert durch die calciumbindenden Proteine Parvalbumin und Calbindin-D28k und den exzitatorischen Neuromodulator Corticotropin-Releasing-Factor-(CRF), festgestellt: im orbitofrontalen Cortex, sowie dem basolateralen Kernkomplex der Amygdala vaterdeprivierter Tiere zeigte sich eine erhöhte Dichte Parvalbumin-haltiger GABAerger Interneurone, wie auch CRF-exprimierender Zellen (juvenile und adulte Tiere). In der primären Outputstruktur der Amygdala, dem zentralen Kern, konnte ebenfalls eine erhöhte Dichte Parvalbumin-immunopositiver Interneurone nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu Untersuchungen an der Ratte waren in der zentralen Amygdala keine CRF-exprimierenden Zellen nachzuweisen, stattdessen zeigte sich ein dichtes Netzwerk CRF-haltiger Fasern, die keine Änderungen hinsichtlich ihrer Dichte zwischen vaterdeprivierten und biparental aufgewachsenen Tieren aufwiesen. Im Hippocampus vaterdeprivierter Degus war ebenfalls eine Zunahme der Dichte Parvalbumin-exprimierender GABAerger Interneurone in der Molekularschicht des Gyrus dentatus und in der Pyramidenzellschicht der CA1-Region (juvenile Tiere) zu beobachten. Im Erwachsenenalter zeigte sich bei den vaterdeprivierten Tieren hingegen eine Abnahme der Zelldichte Parvalbumin-exprimierender GABAerger Neurone in der Pyramidenzellschicht und der gesamten CA1-Region, sowie eine Abnahme der Dichte CRF-haltiger Zellen in der Pyramidenzellschicht, im stratum oriens, sowie im Gyrus dentatus des Hippocampus im Vergleich zu biparental aufgezogenen Tieren. Im basolateralen Kernkomplex, wie auch dem zentralen Kern der Amygdala vaterdeprivierter Tiere konnte eine Abnahme der Dichte Calbindin-D28k-exprimierender Neurone nachgewiesen werden, wohingegen in der Granulärzellschicht des Hippocampus eine Zunahme der Zelldichte im Vergleich zu den biparental aufgewachsenen Tieren bestimmt wurde. Keine Änderungen waren innerhalb der Subpopulation der Calbindin-D28k-exprimierenden GABAergen Neurone im orbitofrontalen Cortex nachweisbar. Neben Veränderungen des inhibitorischen Systems zeigten vaterdeprivierte im Vergleich zu biparental herangewachsenen Tieren Veränderungen hinsichtlich der Dichte Tyrosinhydroxylase(TH)-Fasern: im lateralen OFC, im zentralen Kern der Amygdala (juvenile Degus), sowie in beiden Regionen (Gyrus dentatus und CA1-Region), insbesondere auch in fast allen Schichten des Hippocampus wiesen vaterlos herangewachsene Degus eine Zunahme der Dichte TH-immunopositiver Fasern auf,

wohingegen im basolateralen Kernkomplex der Amygdala eine Verringerung in der Dichte TH-immunreaktiver Fasern festgestellt werden konnte.

Unter Berücksichtigung der in der Literatur vorliegenden Befunde weisen die Ergebnisse dieser Arbeit auf eine veränderte Funktionalität corticaler und subcorticaler limbischer Hirnstrukturen, insbesondere der eng miteinander verknüpften Regionen des orbitofrontalen Cortex und der Amygdala vaterdeprivierter im Vergleich zu biparental herangewachsenen Tieren hin, die möglicherweise ihren Ausdruck in den beobachteten Änderungen der Verhaltensweisen, im Hinblick auf eine Steigerung impulsiven Verhaltens, verschlechterten Lernleistungen, sowie einem verstärkten Angstverhalten finden.

## **Summary**

Fatherless children are at dramatically greater risk of developmental maladaptation, drug and alcohol abuse, poor educational performance and criminality. The aim of this study was to test our working hypothesis that the absence of paternal care interferes with the neuronal development of prefrontal and limbic areas, which most likely results in behavioral changes. Animal models for paternal deprivation represent a unique model to analyze psychopathological disorders and deficits in the development of personality or of intellectual and social capabilities associated with the loss of paternal care.

In this study I identified the behavioral consequences and the neuronal substrate, which underly such an abnormal development. In the biparental animal model *Octodon degus* the influence of paternal care on social, anxiety, learning and impulsive behavior and the establishment of synaptic wiring and neurochemical characteristics were analyzed in cortical and subcortical brain regions. The quantitative comparison of biparental and single-mother families revealed that single-mothers do not compensate the lack of paternal care, i.e. the pups which are raised in single-mother families experience significantly less parental care and consequently are raised under partly socio-emotional deprivation. Paternally deprived, juvenile animals showed decreased durations of pup-parent allogrooming and increased frequencies of play-fighting episodes. Furthermore, adult fatherless animals displayed higher levels of anxiety, impaired learning performance and components of impulsive behavior. On the neuromorphological/neurochemical level fatherless pups displayed a reduced number and density of dendritic spines, which represent excitatory synapses, on layer II/III pyramidal neurons in the orbitofrontal cortex (juvenile and adult) and lateral amygdala (juvenile). In addition, apical dendrites in the orbitofrontal cortex were significantly shorter in father-deprived adult animals, whereas neither changes of dendritic lengths were observed in the juvenile orbitofrontal cortex or on amygdalar

pyramidal neurons (juvenile and adult), nor deprivation-related changes in neuronal morphology in the hippocampal formation. Concerning the inhibitory GABAergic system neurochemically characterized by their expression of the calcium-binding proteins Parvalbumin and Calbindin-D28k and CRF-containing cells differences in all analyzed regions were prominent in the father-deprived animals compared to biparentally raised animals: juvenile and adult fatherless animals showed an increased density of Parvalbumin-expressing and CRF-containing neurons in the orbitofrontal cortex as well as in the basolateral amygdaloid complex. In the primary output region of the amygdala, the central nucleus, also an increased density of Parvalbumin-expressing interneurons was found. In contrast to observations in the laboratory rat virtually no CRF-immunostained neurons, but heavily immunoreactive, dense clusters of CRF-positive fibers were found in the central nucleus, whose density remained unchanged in the fatherless animals. The hippocampal formation of fatherless animals showed an enhanced density of Parvalbumin-expressing interneurons in the dentate molecular layer and in the pyramidal cell layer of the CA1 region (juvenile animals), whereas in adult fatherless animals a reduced density was observable in the pyramidal cell layer and the CA1 region compared to biparentally raised animals. Furthermore, father-deprived animals showed a decreased cell density of Calbindin-D28k-expressing GABAergic neurons in the basolateral amygdaloid complex and the central nucleus, whereas an increased density of this GABAergic subpopulation was seen in the hippocampal granule cell layer. No changes were observed of Calbindin-D28k-expressing GABAergic interneurons in the orbitofrontal cortex of fatherless animals. A reduced density of CRF-containing cells in the dentate gyrus (adult animals), in the pyramidal oriens cell layer of father-deprived animals was observed. In addition, the density of Tyrosinehydroxylase (TH)-containing fibers was altered in fatherless degus: father-deprived animals displayed an increased density of TH-positive fibers in the lateral orbitofrontal cortex, the central nucleus of the amygdala (juvenile animals) and in the hippocampal formation, whereas a decrease density of TH fiber density was obvious in the basolateral amygdaloid complex.

I interpret those findings as indication of an altered function of cortical and subcortical limbic brain structures in the fatherless animals, which correlate with the observed changes in impulsivity, learning and anxiety-related behaviors of father-deprived animals.



## 2 Einleitung

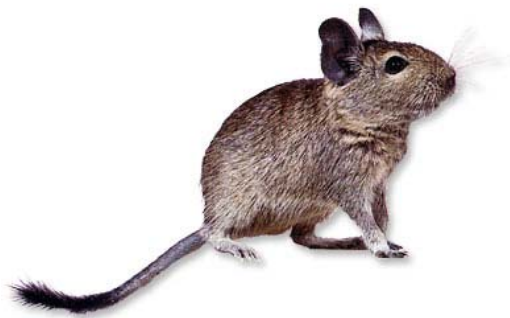
### 2.1 Zielsetzung und Fragestellungen

Aus Studien der vergangenen 30 Jahre wurde zunehmend die Erkenntnis gewonnen, dass die Fürsorge, die ein Kind in den ersten Lebensjahren von den Eltern erhält, für seine spätere seelische Gesundheit von lebenswichtiger Bedeutung ist. Schon in den fünfziger/sechziger Jahren des 20. Jahrhunderts wurde bei Kindern, die ohne Bezugsperson aufwuchsen, beobachtet, dass eine fehlende oder gestörte Mutter-Kind-Beziehung zu Fehlentwicklungen und Entwicklungsstörungen bis hin zum Hospitalismus (auch Deprivationssyndrom genannt) führen kann (Spitz, 1945; Coleman & Provenca, 1957). Im späteren Entwicklungsverlauf kann dies zu Sprachstörungen, Störungen der Persönlichkeitsentwicklung und zu Defiziten der intellektuellen und sozialen Fähigkeiten (Brodbeck & Irwin, 1946), bis hin zu psychischen Erkrankungen, wie der Depression oder Schizophrenie (Agid et al., 2000; Heim & Nemeroff, 2001) führen. Bisherige Forschungen, die sich mit der Untersuchung familiärer Beziehungsmuster oder aber auch der emotionalen Bindung zwischen Eltern und ihren Nachkommen befassen, fokussieren jedoch hauptsächlich auf die Rolle der Mutter während der frühen Kindheit. *Worin liegt dies begründet?* Bei etwa 90% aller Säugetierarten leistet das männliche Elternteil wenig oder keinen Beitrag bei der Aufzucht des Nachwuchses (Libhaber & Eilam, 2004; Schradin & Pillay, 2003). Väter scheinen demzufolge eine Reproduktionsstrategie entwickelt zu haben, die auf das Brutpflegeverhalten fast völlig verzichtet. Beim Menschen, aber auch anderen Säugetieren zeigt das väterliche Brutpflegeverhalten hingegen vielfältige Ausprägungen. Die Entwicklung der männlichen Bereitschaft, sich in die Aufzucht der Nachkommen einzubringen, wird unter anderem mit dem zunehmend komplexer werdenden sozialen Gefüge und einem durch die Anwesenheit des Vaters erhöhten Reproduktionserfolg in Zusammenhang gebracht. Neben dem Menschen finden sich einige weitere Säugetiere, bei denen die Bedeutung des Vaters über die Funktion des Erzeugers hinausgeht. In zahlreichen nicht-humanen Primaten, aber auch bei Nagern ist der Vater an der Aufzucht der Jungen beteiligt (Jantschke et al., 1998; Lonstein & De Vries, 1999). Die Forschung über frühe Vater-Kind-Beziehungen und vor allem die Konsequenzen eines Entbehrens der väterlichen Fürsorge in früher Kindheit steht jedoch noch relativ in den Anfängen. Aus Humanstudien ist bekannt, dass das Fehlen väterlicher Fürsorge, vor allem während der frühkindlichen Entwicklung, mit einem erhöhtem Risiko einhergeht, emotionale und Verhaltensdefizite zu entwickeln. Die Abwesenheit des Vaters erhöht die Wahrscheinlichkeit von schlechten

schulischen Leistungen, kriminellen Handlungen, psychopathologischen Erkrankungen, oder aber auch Suizidalität (Baskerville 2002; O'Neill 2002). Defizite finden ihren Ausdruck zudem in erhöhtem impulsiven, aber auch aggressivem Verhalten (Erhard & Janig, 2003).

Verhaltensweisen sind das Ergebnis von Aktivitätsmustern des Zentralnervensystems. Die wissenschaftliche Erforschung der emotionalen Bindung und Untersuchung familiärer Beziehungsmuster als biologische Funktion des zentralen Nervensystems ist gegenwärtig ein bedeutender Teil der aktuellen Hirnforschung, wobei die hirnbioologischen Korrelate psychischer Erkrankungen, induziert durch ein pathogenes psychosoziales Umfeld in der frühen Entwicklung, bisher aufgrund methodischer Einschränkungen im Bereich der Humanbiologie noch unzureichend untersucht sind. Tierexperimentelle Ansätze zeigen, dass im noch unreifen Gehirn des Neugeborenen die bei der Interaktion mit der oder den Bezugspersonen aktivierten neuronalen Verschaltungen „gebahnt“ werden. Damit werden höchstwahrscheinlich die körperliche, intellektuelle und emotionale Entwicklung und die damit verbundenen Verhaltensweisen determiniert (z.B. Braun & Bogerts, 2001). Es konnte bspw. gezeigt werden, dass kurze Trennungsepisoden von den Eltern (vom postnatalen Tag 1 bis 21, täglich für eine Stunde) bei den Jungtieren Veränderungen der synaptischen Verbindungen in Regionen des präfrontalen Cortex, des Hippocampus und der Amygdala hervorrufen (Helmeke et al. 2001a,b; Ovtscharoff & Braun, 2001; Poeggel et al. 2003). Zudem ergaben Analysen elterndeprivierter und anschließend sozial isolierter Tiere, d.h. Tieren, die bereits kurz nach der Geburt mehrfach emotionalem Stress ausgesetzt waren, dass im Pubertätsalter (Postnataltag 45) eine veränderte Dichte monoaminerger Fasern im orbitofrontalen (Poeggel et al., 2003) und im medialen präfrontalen Cortex (Braun et al., 2000), sowie im Nucleus accumbens, der Amygdala und dem Hippocampus (Gos et al., 2006) messbar ist. Auf Rezeptorebene führt bei den elterndeprivierten Nagern bereits eine einmalige, sehr kurze Trennung von Eltern und Geschwistern zu einer signifikanten Erhöhung dopaminerger D1- und serotonerger 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren im Präfrontalcortex, in der Amygdala und im Hippocampus (Ziabreva et al., 2003). Diese Störungen der Entwicklung des limbischen Systems korrelieren mit Veränderungen, die auf Verhaltensebene nachweisbar sind. So zeigen elterndeprivierte Tiere motorische Hyperaktivität wenn sie sich einzeln, d.h. getrennt vom Familienverband, in einer fremden und daher höchstwahrscheinlich angstinduzierenden Umgebung (Open-Field) befinden (Braun et al., 2003).

Zur Bedeutung der väterlichen Fürsorge für die Entwicklung von Gehirn und Verhalten ist bisher noch auffallend wenig bekannt. Ziel dieser Arbeit war es demzufolge, anhand des biparentalen Tiermodells *Octodon degus* zu untersuchen, ob und wie sich das Fehlen väterlicher Fürsorge in modifizierten Verhaltensmustern -in Parallelität zu den beobachteten Veränderungen im Humanbereich-, d.h., den Interaktionen der Eltern mit ihren Nachkommen, im adulten impulsiven, im Lern-, sowie im Angstverhalten vaterdeprivierter Tiere widerspiegeln. Weiterhin sollte untersucht werden, inwieweit die Vernetzung der noch ausreifenden limbischen Hirnregionen zu verschiedenen Zeitpunkten der Postnatalentwicklung beeinflusst wird, und welche Bedeutung dies auf die Ausreifung bestimmter neuronaler Zellpopulationen und Neurotransmittersysteme in diesen Systemen besitzt. Zur Untersuchung der Auswirkungen des Fehlens väterlicher Fürsorge auf die Entwicklung des Verhaltens und hirnbioologischer Korrelate wurde ein Tiermodell etabliert, bei dem beide Elternteile an der Pflege und Aufzucht der Jungen beteiligt sind und die auch in anderen Eigenschaften dem Menschen „ähnlich“ sind. Gleich diesem lebt der Degu



(*Octodon degus*) (Abbildung 1) in komplexen familiären und sozialen Strukturen und zeigt ein ausgeprägtes Spiel- und Vokalisationsverhalten (Wilson, 1982).

Abbildung 1: Degu (*Octodon degus*)

Bei Degus, die auch als Strauchratten bezeichnet werden, sind die Väter intensiv an der Pflege und Aufzucht der Jungen beteiligt (Reynolds & Wright, 1979; Wilson, 1982). Männliche Degus investieren in die Aufzucht ihrer Nachkommen. Während die Kontakte zwischen der Mutter und den Jungtieren sich innerhalb der ersten postnatalen Wochen graduell verringern, steigen die Kontakte zwischen Jungtieren und Vater (Wilson, 1982). Dies konnte ebenfalls bei der biparentalen kalifornischen Maus (*Peromyscus californicus*) beobachtet werden (Wright & Brown, 2000) und auch bei Menschen nimmt die erzieherische Bedeutung des Vaters mit dem Alter des Kindes zu (Blanz et al., 1986). Der Kontakt, den Strauchrattenväter zu ihren Jungen haben, beinhaltet unter anderem die Pflege der Jungtiere (Reynolds & Wright, 1979). Damit liefert der Vater seinen Nachkommen ein vermutlich "angereichertes" sensorisches und vor allem ein komplexes sozio-emotionales Umfeld.

***Für diese Arbeit ergibt sich somit folgende Arbeitshypothese:***

Fehlende väterliche Fürsorge induziert eine unzulängliche familiäre Situation. Dies resultiert in einer veränderten sozio-emotionalen Umwelt, die zusätzlich auch durch veränderte (adaptive oder pathologische?) Verhaltensweisen der „vom Vater verlassenen“ Mutter gekennzeichnet ist. Dadurch reifen Verhaltensrepertoires und die dafür relevanten Hirnareale bei den vaterdeprivierten Tieren verzögert bzw. in unterschiedliche Richtungen. Die Veränderungen des Verhaltens sollten daher mit einer veränderten neuronalen Entwicklung präfrontaler und limbischer Areale der vaterdeprivierten Tiere korrelieren.

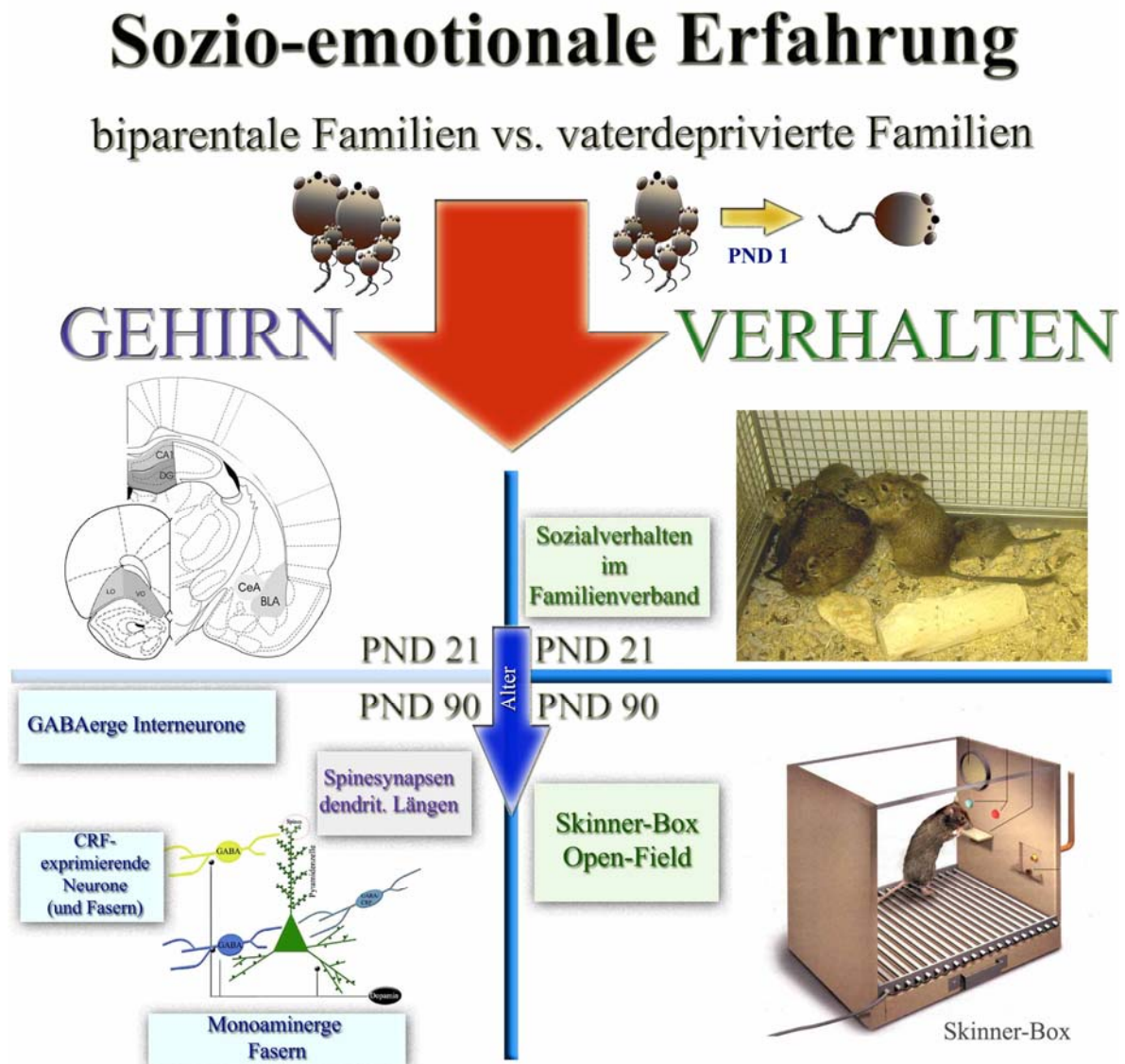


Abbildung 2: Übersicht zu den Fragestellungen

**Legende:** Die Abbildung illustriert die aus der Arbeitshypothese abgeleiteten Fragestellungen dieser Dissertation. Sowohl im juvenilen (PND21), als auch im Erwachsenenalter (PND 90) werden vaterdeprivierte und biparental aufgewachsene Degus hinsichtlich ihrer Neuromorphologie (Spinesynapsen/dendritische Längen/dendritische Verzweigungen der Projektionsneurone; Nachweis anhand der Golgi-Methode) und Neurochemie (immunhistochemischer Nachweis GABAerger Interneurone, CRF-exprimierender Zellen und Fasern, sowie Tyrosinhydroxylase-immunreaktiver Fasern) analysiert. Parallel dazu werden Verhaltensanalysen zum Sozialverhalten im Familienverband, zum Lern-, zum impulsiven (Verhaltensapparat ist die Skinnerbox), als auch zum Angstverhalten (Verhaltensapparat ist die Open-Field-Arena) durchgeführt.

**Abkürzungen:** BLA, basolateraler Kernkomplex der Amygdala; CA1, CA1-Region des Hippocampus; CeA, zentraler Kern der Amygdala; CRF, Corticotropin-Releasing Factor; GD, Gyrus dentatus; GABA,  $\gamma$ -Aminobuttersäure; OFC, orbitofrontaler Cortex; PND, postnataler Tag; TH, Tyrosinhydroxylase. Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.

Es galt folgende Fragestellungen zu beantworten:

**A. Veränderungen im Sozialverhalten im Familienverband, Impulskontrolle, Lern- und Angstverhalten**

Führt das Fehlen väterlicher Fürsorge während der frühen Postnatalentwicklung zu Änderungen des sozialen Verhaltens im Familienverband (Eltern-Jungtier-, Jungtier-Eltern- und Jungtier-Jungtier-Interaktionen)? Ist beispielsweise eine erhöhte Pflege der Nachkommen durch die Mutter, die das Fehlen väterlicher Fürsorge kompensieren könnte, beobachtbar? Welchen Einfluss hat das Aufwachsen ohne Vater und die damit assoziierten Änderungen des sozio-emotionalen Umfelds auf das Lern- und Angstverhalten im Erwachsenenalter? Sind vaterdeprivierte Degus impulsiver (Abbildung 2 und 3)?

**B. Veränderungen exzitatorischer, inhibitorischer und katecholaminerger Systeme**

Kann der Verlust des Vaters während der frühen Postnatalentwicklung in die funktionelle Reifung limbischer Strukturen eingreifen? Wird durch das Fehlen väterlicher Fürsorge, das heißt eine sozio-emotionale Teildeprivation, das Gleichgewicht zwischen exzitatorischen, inhibitorischen und katecholaminerger Synapsen im orbitofrontalen Cortex, der Amygdala und des Hippocampus verändert? Wird die Innervation von Prinzipalzellen durch lokale GABAerge Interneurone, Zellen/Fasern, die den exzitatorischen Corticotropin-Releasing

Factor exprimieren und durch Tyrosinhydroxylase-immunreaktive Fasern in diesen Hirngebieten in positive oder negative Richtung ausgelenkt (Abbildung 2 und 3)?

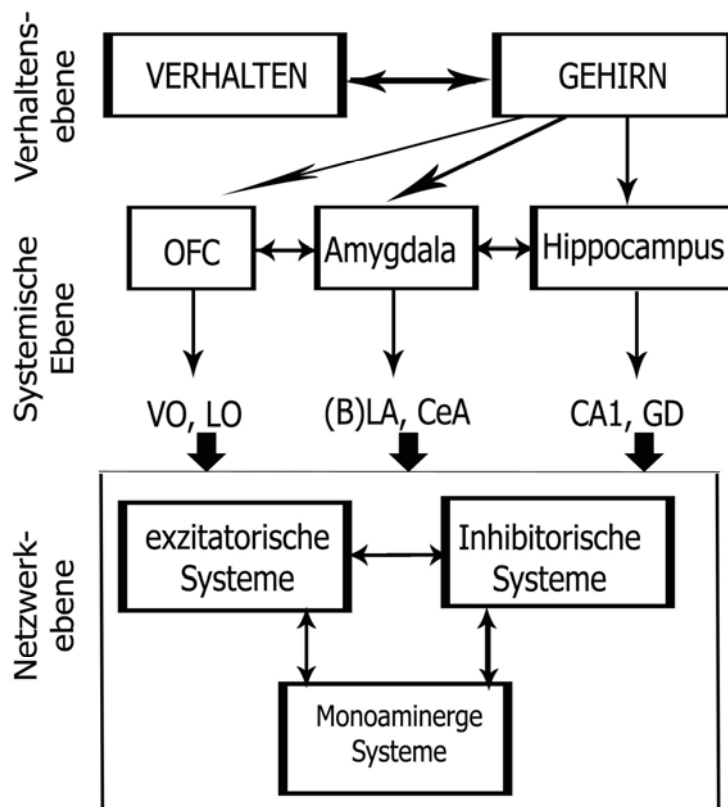


Abbildung 3: Analyseeinheiten

**Legende:** Die Abbildung zeigt die Zusammenhänge zwischen den einzelnen Analyseeinheiten dieser Dissertation und damit die enge Beziehung zwischen Verhaltens- und neurobiologischer Analyse.

**Abkürzungen:** BLA, basolateraler Kernkomplex der Amygdala; CA1, CA1-Region des Hippocampus; CeA, zentraler Kern der Amygdala; CRF, Corticotropin-Releasing Factor; GD, Gyrus dentatus; GABA,  $\gamma$ -Aminobuttersäure; LO, lateraler orbitofrontaler Cortex; OFC, orbitofrontaler Cortex; VO, ventromedialer orbitofrontaler Cortex

## 2.2 Bedeutung des Vaters, Vaterentbehrung und Verhaltensentwicklung

Elterliches Brutpflegeverhalten ist nicht nur bei Primaten, sondern auch bei anderen Wirbeltieren beobachtbar (Lonstein & De Vries, 1999). Insbesondere bei Säugetieren ist elterliches Verhalten markant ausgeprägt, da insbesondere das mütterliche Verhalten für das Überleben der Jungtiere von unabdingbarer Notwendigkeit ist (Libhaber & Eilam, 2004). Das Verhalten des Vaters scheint dem gegenüber auf den ersten Blick nicht obligatorisch zu sein und ist dementsprechend bei nur bei ca. 10% aller Säugetierspezies beobachtbar (Libhaber & Eilam, 2004; Schradin & Pillay, 2003). *Was ist der Vorteil, wenn beide Eltern an der Aufzucht der Jungtiere/Kinder beteiligt sind?* Es ist bekannt, dass mütterliches Verhalten nicht nur für das Überleben der Nachkommen von enormer Bedeutung ist, sondern zudem einen Einfluss auf die neurologische und die Verhaltensentwicklung ausübt (Rees et al., 2005) und die Qualität und Quantität des Pflegeverhaltens, wie das Säubern der Jungtiere, eng mit der Entwicklung des Stress- und endokrinen Systems, der Hirnentwicklung, sowie kognitiven, affektiven und sozialen Verhaltensweisen der Jungtiere

assoziiert ist (Rees et al., 2005).



Abbildung 4: Degufamilie

**Legende:** Die Abbildung zeigt eine Degufamilie in einer typischen Aufzuchtvoliere der Zuchtanlage des Leibniz Instituts für Neurobiologie in Magdeburg. Gekennzeichnet sind beide Elterntiere, wobei gut zu erkennen ist, dass sowohl die Mutter, als auch der Vater ihren Nachwuchs umsorgen.

Der Vater spielt insofern eine bedeutende Rolle, da Väter in biparentalen Spezies, außer dem Säugen, alle mütterlichen Verhaltensweisen (unter anderem Nestbau, Pflege der Jungtiere) zeigen (Rees et al., 2005; Libhaber & Eilam, 2004; Gubernick & Teferi, 2000; Lonstein & De Vries, 1999; Thomas & Birney, 1979) und die Mutter insofern entlasten - bspw. durch die Beschaffung von Nahrung-, dass ein höherer Anteil ihrer Energie in die erfolgreiche Aufzucht, vor allem in das Säugen, ihrer Nachkommen investiert werden kann (Thomas & Birney, 1979). Demzufolge ist die Bedeutung des Vaters nicht zu unterschätzen und auch Humanstudien unterstreichen die Wichtigkeit väterlicher Fürsorge insofern, dass positive sozio-emotionale, kognitive und Verhaltenseigenschaften der Kinder, wie ein

höherer Bildungsabschluss und geringere depressive, Angst- und kriminelle Verhaltensweisen, mit väterlichem Involvement assoziiert werden und die Abwesenheit des Vaters die Wahrscheinlichkeit von psycho-pathologischen Erkrankungen, Suizidalität, schlechten schulischen Leistungen, aber auch unreifer Impulskontrolle zu erhöhen scheint (Garfield & Isacco, 2006; Kindler & Grossman, 2004; Franz et al., 1999; Erhard & Janig, 2003; Baskerville, 2002; O'Neill 2002).

**Zusammengefasst bedeutet dies, dass:**

- Mütter für das Überleben der Nachkommen von essentieller Bedeutung sind und zudem Einfluss auf die neurologische und die Verhaltensentwicklung ausüben
- Väter in biparentalen Spezies zahlreiche Komponenten mütterlichen Verhaltens zeigen
- väterliche Fürsorge die positive sozio-emotionale, kognitive und Verhaltenseigenschaften der Kinder fördert



### 2.3 Funktionelle Hirnsysteme für die Emotionsregulation

Aus Untersuchungen am Menschen ist bekannt, dass das Heranwachsen ohne den Vater zu kognitiven und emotionalen Verhaltensdefiziten führen kann (Abschnitt 2.2). Es ist anzunehmen, dass diese Verhaltensdefizite ihren Ursprung in einer veränderten bzw. gestörten/verzögerten funktionellen Reifung präfrontaler und limbischer Strukturen haben. Diese Hypothese sollte in der vorliegenden Dissertation experimentell geprüft werden.

Schon in der Mitte des letzten Jahrhunderts wurde festgestellt, dass Affekte und Emotionen der Ausdruck neuronaler Aktivität des sogenannten limbischen Systems sind (Cardinal, 2003; Trepel, 1999; Kandel et al., 1996). Im Laufe der Jahre wurde dieses Konzept zunehmend verfeinert und zahlreiche weitere Hirnregionen implementiert, so dass sowohl Strukturen des Frontallappens (präfrontaler Cortex, PFC), des medialen Temporallappens (z.B. Amygdala, Hippocampus), des basalen Vorderhirns, die anterioren und medialen

Kerne des Thalamus, der Hypothalamus und der Nucleus accumbens zum limbischen System gerechnet werden (Cardinal, 2003).

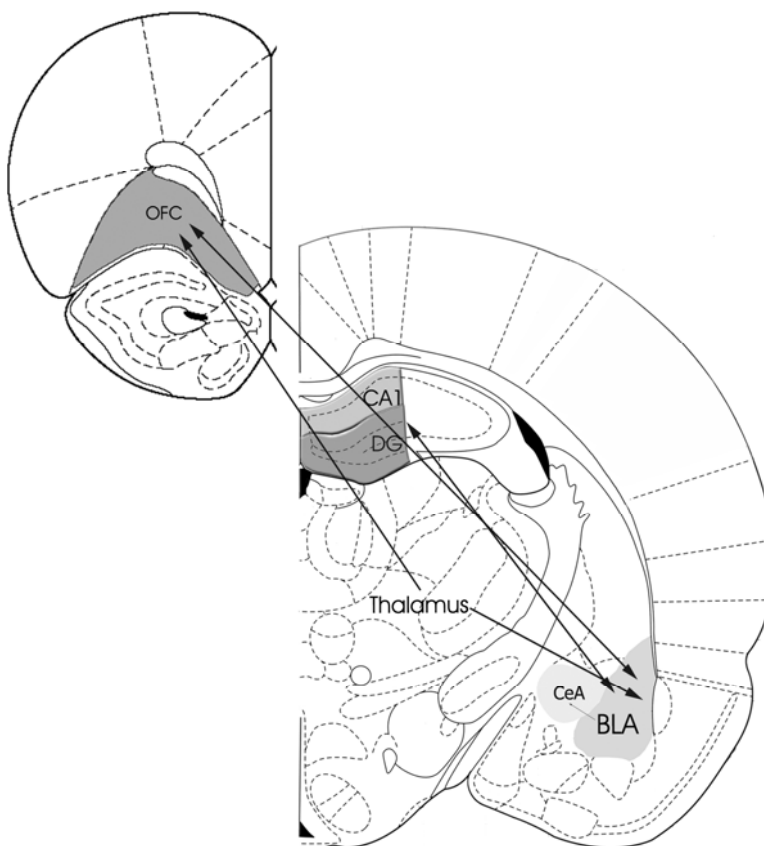


Abbildung 5: Verschaltung ausgewählter Strukturen des limbischen Systems (vereinfachtes Schema)

**Legende:** In der Abbildung sind die in dieser Arbeit analysierten Hirnregionen und ihre Verbindungen auszugsweise dargestellt. Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.

**Abkürzungen:** BLA, basolateraler Kernkomplex der Amygdala; CA1, CA1-Region des Hippocampus; CeA, zentraler Kern der Amygdala; DG, Gyrus dentatus; OFC, orbitofrontaler Cortex.

Wie aus Abbildung 5 ersichtlich, stehen diese Strukturen (nur eine Auswahl dargestellt) in enger wechselseitiger funktioneller Beziehung (vgl. auch folgende Abschnitte). Insbesondere der *orbitofrontale Cortex* als Substruktur des PFC, der unter anderem beim Erkennen der sozialen und emotionalen Relevanz von Situationen, der Fehlerabschätzung

und Fehlerkorrektur, der Abschätzung von Konsequenzen und des Risikos sozialen Verhaltens (u.a. Rolls, 2004; vgl. folgende Abschnitte) beteiligt ist, aber auch die *Kerngebiete der Amygdala* im Hinblick auf angstbesetzte Verhaltensweisen und der emotionalen Einschätzung von Situationen (u.a. Sah et al., 2003; vgl. folgende Abschnitte), sowie der *Hippocampus* als eine der wesentlichen Regionen für Lernprozesse und die Bildung von Gedächtnisinhalten des Kurz- und Langzeitgedächtnisses (u.a. Trepel, 1999; vgl. folgende Abschnitte) sind hinsichtlich der Entwicklung von Emotionalität, Angst/Ängstlichkeit, Lernen, Gedächtnis, sowie Impulskontrolle unter sozio-emotionalen Deprivationsbedingungen von besonderem Interesse. Aufgrund dieser Eigenschaften wurden sowohl der orbitofrontale Cortex, Subregionen der Amygdala und des Hippocampus zur neuronalen Analyse einer sozio-emotionalen Teildeprivation am Tiermodell herangezogen. In den folgenden Abschnitten werden diese Gebiete hinsichtlich ihrer Funktionalität, ihrer Konnektivitäten, ihrer Cytoarchitektur und bezüglich ihrer Plastizität in der postnatalen Entwicklung näher beleuchtet und abschließend, in Anlehnung an die Arbeitshypothese, die für diese Dissertation geltenden Fragestellungen aufgestellt.

### ***Orbitofrontaler Cortex:***

Den stammesgeschichtlich jüngsten Teil der Großhirnrinde bildet der Neocortex (Kahle & Frotscher, 2002), wobei insbesondere der präfrontale Cortex (PFC) zu den höchsten assoziativ-integrativen Zentren gerechnet wird. Der PFC besteht sowohl beim Menschen, wie auch bei Nagetieren aus funktionell voneinander abgrenzbaren Regionen, wobei sich neben den medialen (mPFC) und insulären Subregionen, der orbitofrontale Cortex (OFC) unterscheiden lässt (Fuster, 2000; Gabbott et al., 2005). Da die medialen und orbitalen Bereiche des PFC direkte Verbindungen zu limbischen Strukturen wie bspw. dem Hippocampus oder der Amygdala (vgl. folgende Abschnitte) aufweisen, werden beide auch als „limbische“ Cortices bezeichnet (Van Eden & Uylings, 1985). Trotz dieser Definition besitzen beide corticalen Regionen grundsätzliche Unterschiede, die vor allem in ihrer unterschiedlichen Funktionalität verankert sind (Van Eden & Uylings, 1985). Insbesondere besitzt der OFC einen besonderen Stellenwert im Hinblick auf die Verarbeitung von Emotionen, aber auch für die Generierung sozialer Verhaltensweisen. Studien am Menschen, nicht-humanen Primaten, aber auch Nagetieren zeigen, dass der OFC vor allem an Prozessen des Lernens, an der Etablierung motivationalen, emotionalen und sozialen Verhaltens (Rolls, 2004; Kolb et al., 2004; Hornak et al., 2003), bspw. des Spielverhaltens - insbesondere des kämpferisches Spielverhaltens (*Play fighting*) (Pellis et al., 2006)-, aber

auch an der Generierung impulsiven Verhaltens beteiligt ist (Davidson et al., 2000; Berlin et al., 2004).

Untersuchungen am Affen haben gezeigt, dass die Charakterisierung des OFC neben den funktionellen Eigenschaften zudem aufgrund der Konnektivitäten vorgenommen werden kann, wobei in der Literatur z.T. beide Subregionen voneinander differenziert betrachtet werden. Der ventromediale OFC (VO) ist vor allem in hohem Maß mit dem posterioren cingulären Cortex und dem Hippocampus verbunden, wohingegen der laterale OFC (LO) mit prämotorischen Regionen, sensorischen Arealen, sowie insulären und temporalen Cortices verknüpft ist (Cavada et al., 2000) (Abbildung 6). Ebenso bestehen Unterschiede der afferenten Verbindungen innerhalb des limbischen Systems. Bspw. projiziert die Amygdala im verstärkten Ausmaß in den LO und weniger umfassend in den VO, der Hippocampus dagegen projiziert massiver in den VO als in den LO (Cavada et al., 2000) (Abbildung 6). Diese Differenzierung der afferenten und efferenten Konnektivitäten wird in der Literatur jedoch wenig berücksichtigt, d.h. die überwiegende Zahl der Beschreibungen dieser Verbindungen wird überwiegend für den gesamten OFC beschrieben (bspw. Öngür & Price, 2000).

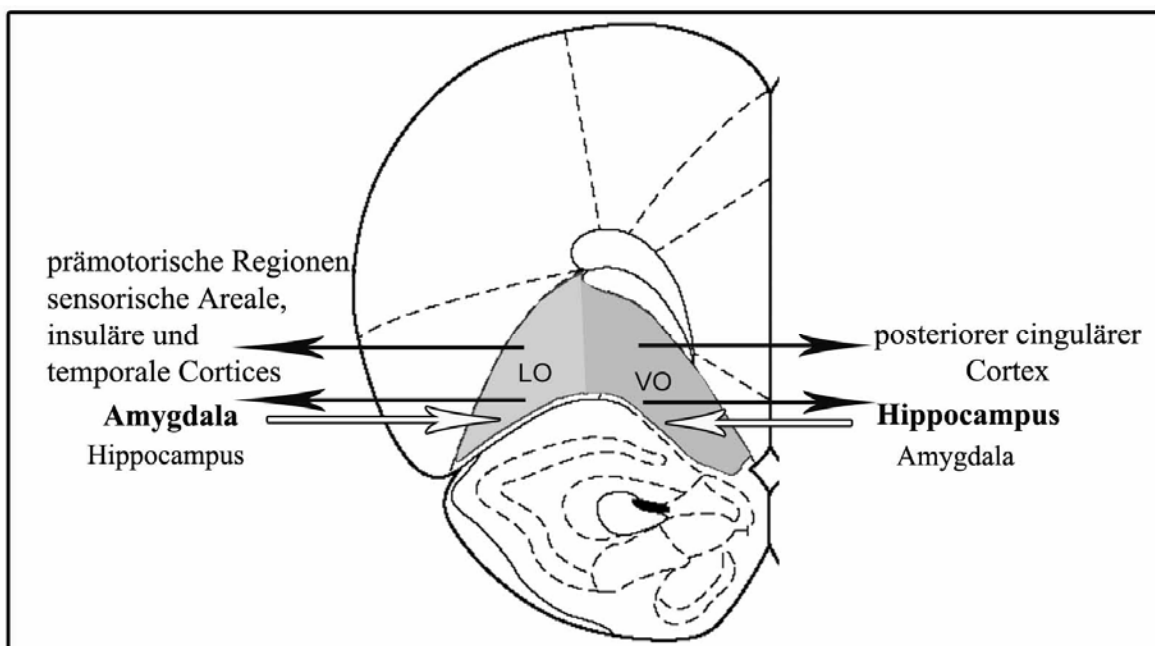
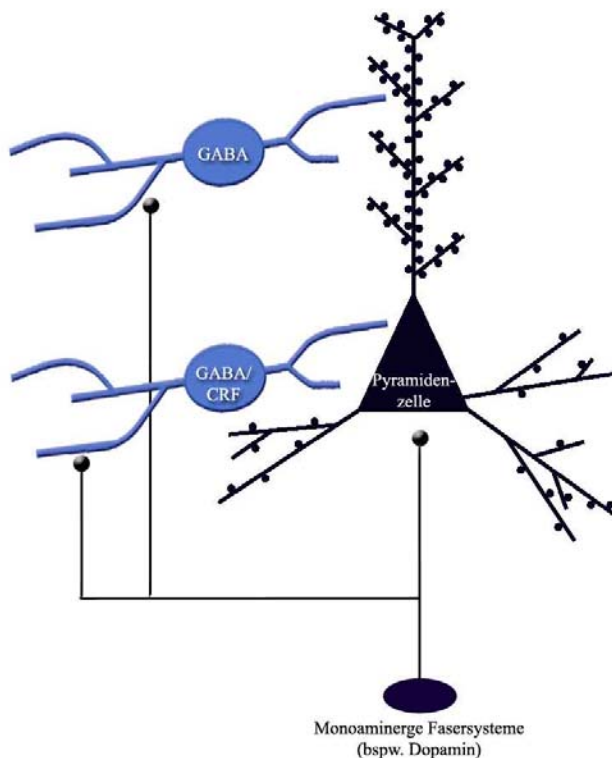


Abbildung 6: Subregionen und afferente/efferente Verbindungen des OFC (keine Vollständigkeit)

**Legende:** In der Abbildung sind beide Subregionen des orbitofrontalen Cortex und deren spezifische Konnektivitäten zu corticalen und subcorticalen Regionen dargestellt. Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.

**Abkürzungen:** LO, lateraler orbitofrontaler Cortex; VO, ventromedialer orbitofrontaler Cortex; Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004).

Cytoarchitektonisch gehört der OFC zum Neocortex mit dessen charakteristischen Zellformen, d.h. langaxonigen Projektionsneuronen (exzitatorische glutamaterge Pyramidenzellen; vgl. auch folgende Abschnitte) und kurzaxonigen Neuronen (hemmende GABAerge Interneurone; vgl. auch folgende Abschnitte), in denen z.T. Neuromodulatoren, zumeist Peptide, exprimiert werden (Kahle & Frotscher, 2002; Gabbott et al., 2005; vgl. auch folgende Abschnitte) (Abbildung 7). Diese beiden stetig miteinander kommunizierenden Hauptzelltypen des Cortex bilden zudem synaptische Kontakte mit



modulatorischen Fasersystemen, deren Ursprungsneurone im Hirnstamm liegen (vgl. auch folgende Abschnitte; Kahle & Frotscher, 2002; Grace, 2002; Abbildung 7).

Abbildung 7: Innervationsschema einer corticalen Pyramidenzelle

**Legende:** Die Abbildung zeigt schematisch und vereinfacht dargestellt die Innervation einer spinebesetzten Pyramidenzelle (schwarz) des Cortex durch lokale GABAerge Interneurone (blau), die axo-dendritische, wie auch axo-somatische Kontakte etablieren und z.T. Neuromodulatoren (bspw. hier CRF) exprimieren. Ebenso terminieren modulatorische Fasersysteme (bspw. hier Dopamin) sowohl auf exzitatorische Projektionsneurone, wie auch GABAerge Interneurone (grau). Innervationsschema adaptiert nach Freund (2003) und Grace (2002).

**Abkürzungen:** GABA,  $\gamma$ -Amino-Buttersäure; CRF, Corticotropin-Releasing-Factor

Die Ausbildung cytoarchitektonischer Eigenschaften folgt dabei einem typischen Entwicklungsmuster. Im Vergleich zu anderen corticalen bspw. cortical-sensorischen Regionen kennzeichnet den PFC der Ratte eine verzögerte Reifung, insbesondere auch den OFC, trotz dessen früher erreichten Reife im Vergleich zum mPFC (Van Eden & Uylings, 1985). Die beschriebenen neuronalen Strukturen des PFC und deren Verschaltung sind ebenfalls beim Menschen erst vollständig im Erwachsenenalter entwickelt (Huttenlocher, 1979). Eine lange Ausreifung, ob regions- oder schichtenspezifisch betrachtet, bedeutet, dass es ein relativ langes Zeitfenster gibt, adaptiv auf Veränderungen zu reagieren (Winterfeld et al., 1998), was die Sensibilität und eine mögliche Reaktivität auf sozio-emotionale Veränderungen ermöglicht.

**Zusammengefasst bedeutet dies, dass der OFC:**

- an der Verarbeitung von Emotionen, aber auch an der Generierung sozialer Verhaltensweisen beteiligt ist
- Verbindungen sowohl zur Amygdala, als auch zum Hippocampus unterhält
- eine typische Cytoarchitektur aufweist, d.h. exzitatorische glutamaterge Pyramidenzellen, sowie hemmende Interneurone, sowie Afferenzen aus den modulatorisch wirkenden Systemen (Dopamin – ventrale tegmentale Area, Serotonin – Raphe, Noradrenalin – Locus coeruleus) besitzt
- eine verzögerte, insbesondere auch schichtenspezifische Reifung aufzeigt (Schicht V vor den Schichten II/III)

**Amygdala:**

Die Amygdala, lokalisiert im medialen Temporallappen, besteht aus 13 Einzelkernen (siehe z.B. Abbildung 8), wobei insbesondere der basolaterale Kernkomplex (lateraler und basaler Kern) und der zentrale Kern eine besondere Rolle im Zusammenhang mit emotionalem Verhalten spielen (Swanson & Petrovich, 1998). Diese Subregionen sind auch an der Angstkonditionierung (Sah et al., 2003; Davis & Whalen, 2001; Maren, 1999), am

Belohnungslernen (Baxter & Murray, 2002) und der Gedächtnisbildung (McGaugh et al., 2002; McGaugh, 2002) beteiligt.

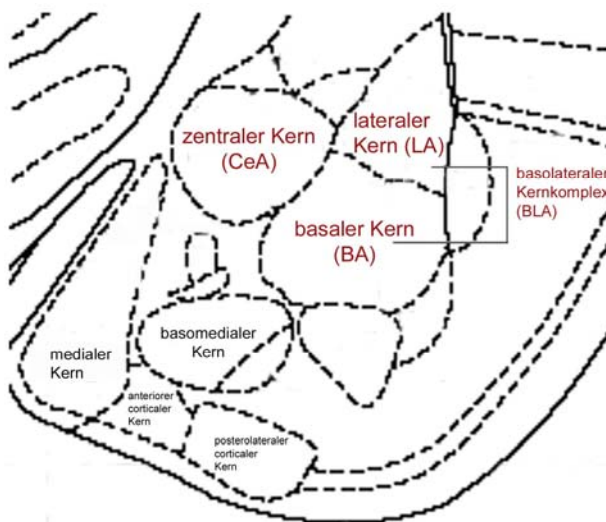


Abbildung 8: Einzelne Subkerne der Amygdala

**Legende:** Die Abbildung zeigt einige der Subkerne der Amygdala, wobei die in dieser Arbeit analysierten Regionen rot markiert sind. Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.

Der laterale Teil des basolateralen Kernkomplexes der Amygdala (Abbildung 8) erhält unter anderem die stärksten Eingänge aus den sensorischen Cortexarealen, sowie Afferenzen aus dem Thalamus, Hypothalamus und dem OFC (Aggleton & Saunders, 2000; Pitkänen et al., 1997; Swanson & Petrovich, 1998; Sah et al., 2003) (Abbildung 9). In den basalen Teil (Abbildung 8) fließen ebenso Informationen aus limbisch-corticalen Regionen, wie dem mPFC oder auch OFC (Abbildung 9; Aggleton & Saunders, 2000). Der zentrale Kern (Abbildung 8) dagegen erhält massive Afferenzen aus hypothalamischen Gebieten

und aus dem Hirnstamm, in die er auch dichte Efferenzen zurücksendet (Abbildung 9). Anhand dieser Konnektivitäten ist der zentrale Kern in der Lage, autonome Verhaltensreaktionen zu generieren (Pitkänen et al., 1997; Swanson & Petrovich, 1998; Sah et al., 2003). Reziproke Verbindungen des gesamten basolateralen Komplexes und auch des zentralen Kerns bestehen unter anderem zum Hippocampus, aber auch zum präfrontalen Cortex (wie bspw. dem OFC), wobei der basale Teil die dichtesten Verbindungen (der gesamten Amygdala) unterhält (Aggleton & Saunders, 2000; Pitkänen et al., 1997; Swanson & Petrovich, 1998; Sah et al., 2003) (Abbildung 9). Efferenzen des lateralen Kerns verlaufen bspw. zum basalen Kern (Abbildung 9), der selbst Efferenzen zum Nucleus accumbens und zum Striatum, sowie innerhalb der Amygdala vor allem zum zentralen Kern etabliert, der, wie bereits erwähnt, mit hypothalamischen und autonomen Hirnzentren in Verbindung steht (Pitkänen et al., 1997; Swanson & Petrovich, 1998; Sah et al., 2003) (Abbildung 9). Bezüglich der Konnektivitäten lässt sich dementsprechend zusammenfassen, dass vor allem der basolaterale Kernkomplex die zentrale Eingangsstation der Amygdala darstellt, wohingegen der zentrale Kern die entscheidende Ausgangsinstanz repräsentiert.

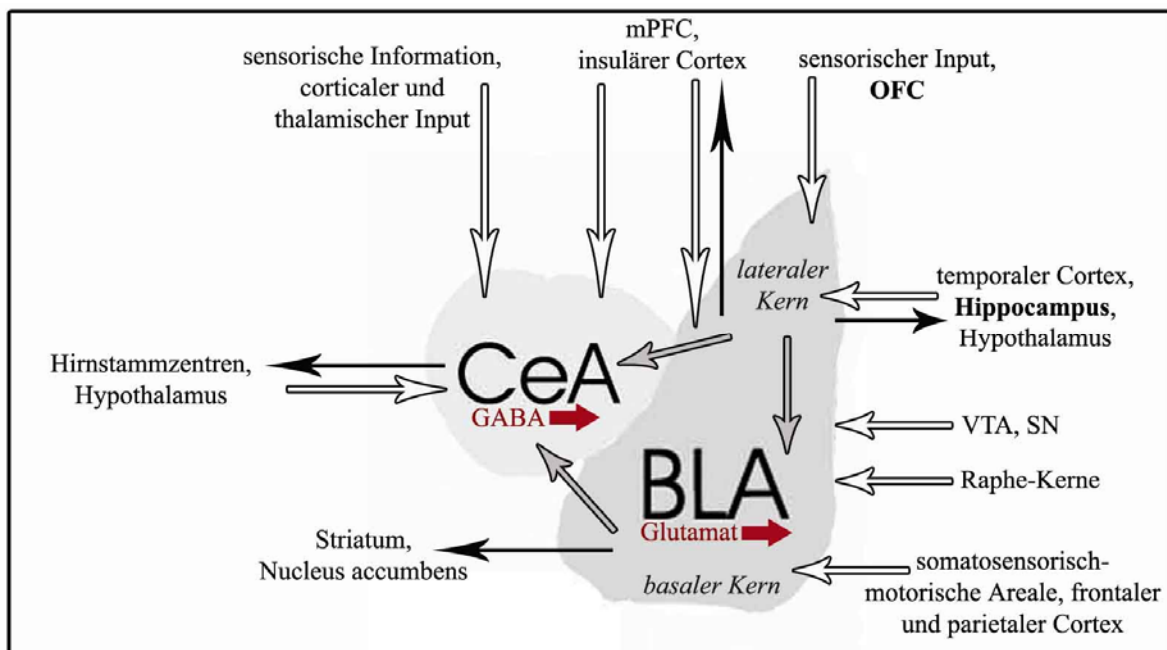


Abbildung 9: Analyisierte Subregionen und afferente/efferente Verschaltung der Amygdala (keine Vollständigkeit)

**Legende:** Die Abbildung zeigt die in dieser Dissertation analysierten Subregionen der Amygdala, sowie ihre Afferenzen (weiße Pfeile) und Efferenzen (schwarze Pfeile) zu corticalen und subcorticalen Regionen. GABA und Glutamat kennzeichnen den vorherrschenden Neurotransmitter der Efferenzen (rote Pfeile).

**Abkürzungen:** BLA, basolateraler Kernkomplex; CeA, zentraler Kern der Amygdala; mPFC, medialer präfrontaler Cortex; OFC, orbitofrontaler Cortex; SN, Substantia nigra; VTA, ventrale tegmentale Area

Neben Unterschieden in der Funktionalität und hinsichtlich ihrer Konnektivitäten zu corticalen und subcorticalen Regionen sind zudem zwischen dem basolateralen Kernkomplex und zentralen Kern Differenzen im cytoarchitektonischen Aufbau vorhanden. Der basolaterale Komplex ähnelt morphologisch-neurochemisch dem Cortex (glutamaterge Projektionsneurone, GABAerge Interneurone (Sah et al., 2003; Swanson & Petrovich, 1998), Innervation durch modulatorische Fasersysteme (Grace, 2002); vgl. Abbildung 7), wohingegen der zentrale Kern Eigenschaften des angrenzenden Striatums aufweist (GABAerge Projektionsneurone, Innervation durch modulatorische Fasersysteme) (Sah et al., 2003; Swanson & Petrovich, 1998) (Abbildung 9). Im zentralen Kern erreichen zudem katecholaminerge Afferenzen CRF-exprimierende Neurone, deren Aktivität eng mit stress- und angstbezogenen Verhaltensweisen assoziiert wird (Eliava et al., 2003).

Insbesondere die relativ späte funktionelle Reifung der Amygdala, bspw. werden in der basolateralen Amygdala der Ratte adulte Zelldichten um den Postnataltag 14 erreicht (Berdel et al., 1997), lässt erwarten, dass diese Schaltkreise gegenüber emotionalen Deprivationsbedingungen vulnerabel sind. Strukturelle Veränderungen innerhalb der Amygdala führen vermutlich zu Fehlfunktionen, wie bspw. Angststörungen (File et al., 1998) oder impulsivem Verhalten (Winstanley et al., 2004).

**Zusammengefasst bedeutet dies, dass:**

- der basolaterale Kernkomplex und der zentrale Kern der Amygdala eine besondere Rolle im Zusammenhang mit emotionalen Verhalten spielen und an Prozessen der Angstkonditionierung, am Belohnungslernen und an der (emotionalen) Gedächtnisbildung beteiligt sind
- ausgeprägte afferente und efferente Verbindungen zwischen Amygdala, OFC und Hippocampus, aber auch zahlreichen anderen, vor allem limbischen Gehirnregionen bestehen
- der basolaterale Komplex in seinen morphologisch-neurochemischen Eigenschaften dem Cortex äußerst ähnlich ist, der zentrale Kern hingegen morphologisch eher dem angrenzenden Striatum gleicht
- die Amygdala funktionell spät reift

**Hippocampus:**

Sowohl der orbitofrontale Cortex, als auch die Amygdala sind mit einer der phylogenetisch ältesten Strukturen des Gehirns verbunden, dem Hippocampus. Neben den Subfeldern des Ammonshorns (*Cornu ammonis*, CA), z.B. der CA1-Region, wird dem Hippocampus zudem der Gyrus dentatus und das Subiculum zugeordnet (Trepel, 1999; Kahle & Frotscher, 2002; Kandel et al., 1996).

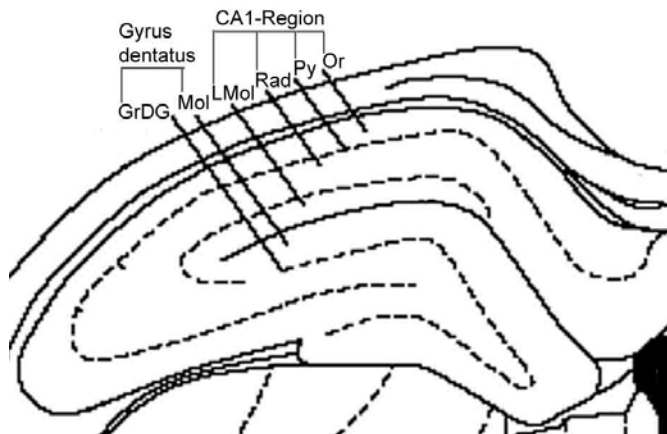


Abbildung 10: Schichtung des Gyrus dentatus und CA1-Region des Hippocampus

**Legende:** Die Abbildung zeigt die in dieser Dissertation untersuchten Subregionen des Hippocampus, den Gyrus dentatus und die CA1-Region, sowie deren unterschiedliche Schichtung. Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.

**Abkürzungen:** GrGD, stratum granulosum des Gyrus dentatus; Mol, stratum moleculare des Gyrus dentatus; LMol, stratum lacunosum-moleculare der CA1-Region; Rad, stratum radiatum der CA1-Region; Py, stratum pyramidale der CA1-Region; Or, stratum oriens der CA1-Region.

In den Hippocampus fließen Informationen verschiedenster Systeme zusammen, die dort verarbeitet und zu corticalen Feldern zurückgesandt werden (vgl. dazu

Abbildung 11). Unter anderem unterhält die *Amygdala* zahlreiche reziproke Verbindungen zur Hippocampusformation (Pitkänen, 2000; Trepel, 1999).

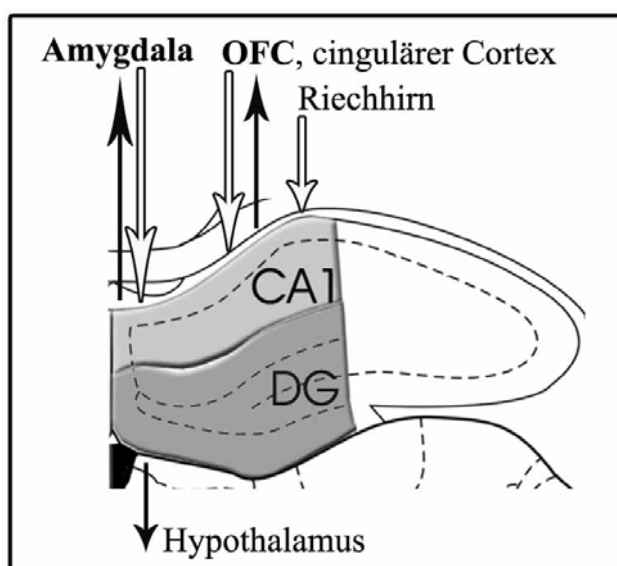


Abbildung 11: Afferente/efferente Verschaltungen des Gyrus dentatus und der CA1-Region des Hippocampus (keine Vollständigkeit)

**Legende:** Die Abbildung zeigt die in dieser Arbeit analysierten Subregionen des Hippocampus, sowie die afferenten (weiße Pfeile) und efferenten (schwarze Pfeile) Verbindungen zu corticalen und subcorticalen Regionen. Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.

**Abkürzungen:** CA1, CA1-Region des Hippocampus; DG, Gyrus dentatus; OFC, orbitofrontaler Cortex; Weiße Pfeile beschreiben die Afferenzen in die entsprechende Region, schwarze Pfeile die Efferenzen.



Vor allem ist der basolaterale Kernkomplex der Amygdala mit dem Hippocampus (mit Ausnahme des Gyrus dentatus) verbunden (Pitkänen, 2000) (Abbildung 11). Weitere Afferenzen erhält der Hippocampus bspw. vom Riechhirn aber auch dem Neocortex, wie bspw. dem orbitofrontalen oder aber auch cingulären Cortex (Kahle & Frotscher, 2002; Cavada et al., 2000; Trepel, 1999) (Abbildung 11). Ein Teil hippocampaler Efferenzen zieht zur Amygdala, zum Neocortex, aber auch zum Hypothalamus (Kahle & Frotscher, 2002; Trepel, 1999) (Abbildung 11).

Sowohl das Ammonshorn, als auch der Gyrus dentatus weisen eine typische, wenn auch unterschiedliche Schichtung auf (Abbildung 10) (Trepel, 1999). In den Schichten sind ebenso wie im Neocortex oder der Amygdala spezifische Zellen vorzufinden, die über verschiedene Neurotransmitter miteinander kommunizieren. Im Gyrus dentatus bzw. der CA1-Region stellen die im stratum granulosum zu findenden Granulärzellen und im stratum pyramidale angesiedelten Pyramidenzellen exzitatorische Projektionsneurone dar, die synaptische Kontakte mit hemmenden GABAergen Interneuronen unterhalten (Kahle & Frotscher, 2002), die z.T. den exzitatorischen Neuromodulator CRF exprimieren (Chen et al., 2004). Zudem etablieren modulatorische Fasersysteme synaptische Kontakte mit sowohl exzitatorischen Projektionsneuronen, als auch mit GABAergen Interneuronen (Frotscher & Leranth, 1988).

Die Strukturen des Hippocampus weisen eine umfassend untersuchte strukturelle und funktionelle Plastizität auf, die bis in das Erwachsenenalter erhalten bleibt (McEwen, 1999; Kim & Yoon, 1998) und vor allem mit Lernvorgängen und der Speicherung von Gedächtnisinhalten assoziiert wird (Squire & Kandel, 1999). Innerhalb des limbischen Systems ist der Hippocampus essentiell im Kontext von Lernen, Gedächtnis, sowie Motivation und Affektverhalten (Trepel, 1999), insbesondere auch im Hinblick auf die Genese psychopathologischer Störungen wie der Schizophrenie, dissoziativer Erkrankungen (Heckers & Konradi, 2002; Vermetten et al., 2006), oder der Aggression (Trepel, 1999; Kandel et al., 1996; Bremner et al., 2000).

**Zusammengefasst bedeutet dies, dass:**

- der Hippocampus eine wichtige Rolle im Kontext von räumlichen Lernen, Gedächtnis und Motivation, aber auch hinsichtlich des Affektverhaltens spielt
- der Hippocampus sowohl Verbindungen zum OFC, als auch zur Amygdala unterhält
- die Subregionen des Hippocampus eine typische Schichtung aufweisen, die eine charakteristische Cytoarchitektur besitzen
- der Hippocampus eine hohe strukturelle und funktionelle Plastizität aufweist

## 2.4 Funktionelle Neuronen- und Fasersysteme

Wie im vorangegangenen Abschnitt beschrieben, sind der orbitofrontale Cortex, die Amygdala und der Hippocampus aufgrund ihrer Konnektivitäten, ihrer grundlegenden funktionellen, wie auch cytoarchitektonischen Eigenschaften zur neuronalen Analyse einer sozio-emotionalen Teildeprivation (z.B. Vaterlosigkeit) von besonderem Interesse (Abschnitt 2.3). Um die Auswirkungen dieser Deprivationssituation auf die neuronale Entwicklung dieser, zum Teil bis in das Erwachsenenalter hoch plastischen Regionen analysieren zu können, werden in dieser Dissertation neben den funktionell voneinander differenzierbaren beiden Hauptzelltypen, den Projektionsneuronen und den hemmenden GABAergen Interneuronen, zusätzlich modulatorische (Tyrosinhydroxylase-haltige) Fasersysteme untersucht. Exzitatorische Projektionsneurone und GABAerge Interneurone werden hauptsächlich anhand ihrer morphologischen Eigenschaften und den Substraten, mit denen Informationen von einer Zelle zur nächsten übertragen werden, voneinander unterschieden. Informationen werden von einer Nervenzelle zur anderen an den Synapsen mit Hilfe von Neurotransmittern weitergegeben (Trepel, 1999). Der wichtigste erregende Neurotransmitter ist die Aminosäure Glutamat, welche vor allem an exzitatorischen Projektionsneuronen, wie bspw. von den Pyramidenzellen des Cortex, ausgeschüttet wird (Trepel, 1999). Die  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA) dagegen zählt zu der Gruppe der hemmenden Transmitter (Trepel, 1999). Modulatorische Neurotransmitter, deren unterschiedliche Wirkungsweise (erregend oder hemmend) z.T. vom nachgeschalteten Rezeptor abhängig ist und die ihren Ursprung hauptsächlich im Hirnstamm haben, sind Dopamin, Serotonin, Noradrenalin oder auch das Acetylcholin (Trepel, 1999). Neben diesen wichtigen Transmittern existieren weitere Substrate im ZNS, die die Wirkung dieser Neurotransmitter modifizieren (Trepel, 1999). Hierzu zählen zahlreiche Peptide, bspw. der Corticotropin-Releasing Factor (CRF) (Yan et al., 1998; Chen et al., 2004).

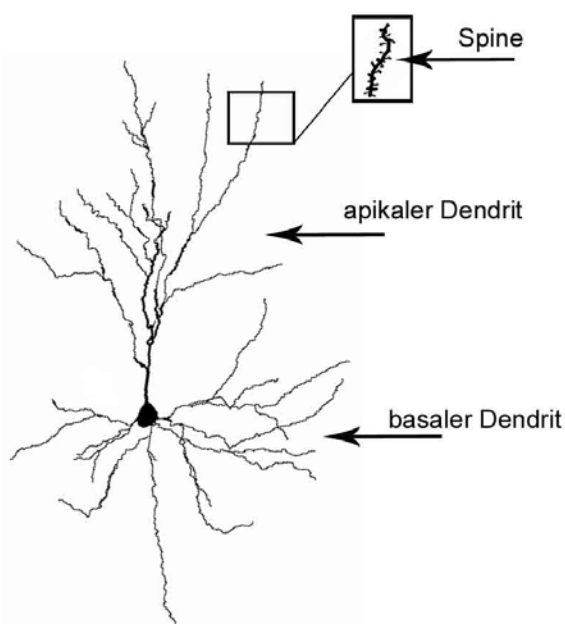
Im Neocortex, dem Hippocampus und dem basolateralen Kernkomplex der Amygdala terminieren hemmende GABAerge Interneurone auf erregende Projektionszellen (Pyramiden- bzw. Granulärzellen), innervieren sich aber zudem untereinander und erhalten exzitatorischen Input (Kahle & Frotscher, 2002; Freund, 2003; Gulyàs et al., 1999; Gulyàs et al., 1996). Modulatorische Fasersysteme (bspw. dopaminerge oder noradrenerge Bahnen) terminieren in diesen Regionen sowohl auf GABAerge Inter-, als auch auf exzitatorische Projektionsneurone (Grace, 2002; Oleskevich et al., 1989). CRF wird im Neocortex, im Hippocampus und vermutlich auch in der Amygdala in GABAergen Interneuronen exprimiert und fungiert an dieser Stelle als erregender Neuromodulator (Yan et al., 1998;

Chen et al., 2004), wobei das Innervationsschemata exzitatorischer Projektionszellen und GABAerger Interneurone, sowie die Expressierung von CRF in diesen Zellen im basolateralen Kernkomplex der Amygdala zum jetzigen Zeitpunkt weitestgehend unerforscht ist, kann aufgrund der morphologischen Ähnlichkeit zum Neocortex (Swanson & Petrovich, 1998) von einer entsprechenden Verschaltung ausgegangen werden. Dagegen existieren zahlreiche Untersuchungen zu modulatorischen Fasersystemen, wie der dopaminergen Innervation in diesem Kerngebiet. Es wird beschrieben, dass Dopamin als Neurotransmitter sowohl an exzitatorischen pyramidalen Zellen als auch an inhibitorischen Interneuronen agiert (Brinley-Reed & McDonald, 1999). Der zentrale Kern der Amygdala dagegen ähnelt in seinen Eigenschaften dem Striatum, in dem GABAerge Projektionsneurone vorzufinden sind (Prensa et al., 1998; Gerfen et al., 1985). Auch das Vorkommen CRF-positiver Zellen (Ratte)/Fasern (Maus) (Asan et al., 2005), die von einem dichten dopaminergen Fasernetzwerk innerviert werden (Asan et al., 2005), ist bereits an der Ratte beschrieben, beim Degu jedoch bisher nicht dargestellt.

In den folgenden Abschnitten werden diese funktionellen Neuronenpopulationen bzw. Fasersysteme hinsichtlich ihrer grundlegenden Eigenschaften und Bedeutung für die neuronale Aktivität im Netzwerk näher beleuchtet und schließlich in bezug auf die Arbeitshypothese die für diese Dissertation relevanten Fragestellungen erarbeitet.

### ***Exzitatorische Projektionsneurone:***

Exzitatorische Projektionsneurone, wie die Pyramidenzellen des Neocortex, der CA1-Region des Hippocampus oder der Amygdala (Abbildung 12), aber auch die Granulärzellen



des Gyrus dentatus (Hippocampus) weisen eine typische Morphologie auf. Ihr Axon entspringt an der Basis des Zellkörpers, an deren Enden sich die basalen Dendriten verzweigen. An der Spitze des Somas entspringt ein starker Dendrit, der Apikaldendrit (Kahle & Frotscher, 2002; Golgi et al., 2001).

Abbildung 12: Pyramidenzelle des OFC

**Legende:** Die Abbildung zeigt eine Pyramidenzelle, inklusive eines spinebesetzten Dendritenabschnitts des OFC in höherer Vergrößerung. Die Zeichnungen wurden mit dem NeuroLucida-System, MicroBrightfield erstellt.

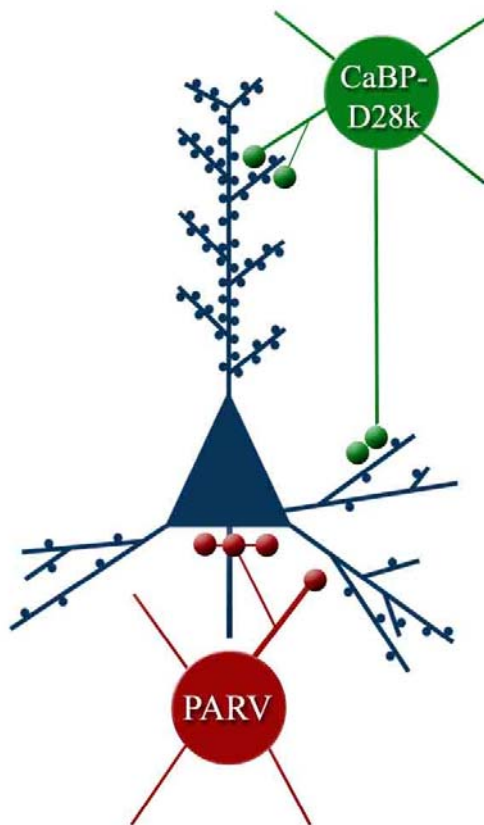
Sowohl die Basaldendriten, als auch der Apikaldendrit sind mit einer Vielzahl von „Dornen“ besetzt. Diese Dornen, sogenannte *Spines* (Abbildung 12) sind kleine dendritische Ausstülpungen exzitatorischer Neurone, die das primäre postsynaptische Ziel erregenden glutamatergen Inputs darstellen (Harms & Dunaevsky, 2006; McKinney, 2005). Spines sind äußerst dynamische Strukturen, so dass Veränderungen in der Spinedichte, Morphologie oder aber auch ihrer Motilität im Laufe der Entwicklung während der Synaptogenese oder Synapseneliminierung auftreten können (Harms & Dunaevsky, 2006; Grutzendler et al., 2002; Bourgeois et al., 1994), aber auch bei verschiedenartigen Paradigmen beobachtet werden, die bspw. synaptische Plastizität induzieren (Harms & Dunaevsky, 2006; McKinney, 2005). Aus Studien an Laborratten und am Degu ist bekannt, dass frühe prä- oder postnatale Stresserfahrungen, wie zum Beispiel die wiederholte Trennung der Jungtiere von den Eltern/der Mutter, langfristige regions- und neuronspezifische Änderungen an dendritischen Spinesynapsen im Cortex, der Amygdala und dem Hippocampus auslösen kann (Ovtscharoff et al., 2006; Murmu et al., 2006; Bock et al., 2005; Brown et al., 2005; Helmeke et al., 2001; Poeggel et al., 2003; Ovtscharoff & Braun, 2001). Diese Veränderungen im synaptischen Netzwerk führen sehr wahrscheinlich zu Umgestaltungen der synaptischen Konnektivität und damit neuronaler Aktivitätsmuster (Harms & Dunaevsky, 2006), wobei qualitative (bspw. die Form der Spines) und/oder quantitative Modifikationen an Spines vor allem mit der Etablierung von Gedächtnisinhalten (Harms & Dunaevsky, 2006; Segal, 2005), aber auch im Falle abnorm veränderter Spines, mit pathologischen Zuständen, wie der Schizophrenie (Garey et al., 1998), bipolaren Störungen und Epilepsie in Zusammenhang gebracht werden (McKinney, 2005; Fiala et al., 2002).

**Zusammengefasst bedeutet dies, dass:**

- Spines dendritische Ausstülpungen sind, die das primäre postsynaptische Ziel erregenden glutamatergen Inputs darstellen
- Spines hoch plastisch sind
- Stresserfahrungen zu regions- und neuronspezifischen Änderungen dendritischer Spines führen können
- diese Änderungen mit der Etablierung von Gedächtnisinhalten, aber auch mit pathologischen Zuständen in Verbindung gebracht werden

### ***Inhibitorische GABAerge Interneurone:***

Neben den exzitatorischen Projektionsneuronen werden im Zentralnervensystem inhibitorische  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA)erge Interneurone unterschieden (Kahle & Frotscher, 2002), wobei GABA den wichtigsten inhibitorischen Neurotransmitter darstellt. GABAerge Interneurone sind Zellen des Nervensystems, deren Hauptfunktion, vereinfacht definiert, vor allem darin besteht, in lokalen Netzwerken die Aktivität erregender Projektionsneurone zu regulieren (Mott & Dingledine, 2003; Maccaferri & Lacaille, 2003). Um die Definition der Gruppe lokaler Netzwerkneurone exakter zu umschreiben, können diese morphologisch, physiologisch, mittels ihrer Verbindungen im Netzwerk oder neurochemisch, d.h. an Hand ihres Gehaltes an bestimmten, selektiv exprimierten Proteinen oder anderer neurochemischer Marker charakterisiert werden (Mott & Dingledine, 2003; Maccaferri & Lacaille, 2003). GABAerge Interneurone enthalten bspw. die



calciumbindenden Proteine Calbindin-D28k (CaBP-D28k), Parvalbumin (PARV) oder Calretinin (Maccaferri & Lacaille, 2003; Heizmann & Braun, 1995; Andressen et al., 1993). Die Expression unterschiedlicher calciumbindender Proteine als morphologisches Unterscheidungsmerkmal weist diesen Zellen nicht nur neurochemische Unterschiede zu, sondern markiert gleichzeitig deren unterschiedliche Funktionalität.

Abbildung 13: Innervationsschema einer Pyramidenzelle durch CaBP-D28k- und PARV-exprimierende Interneurone

**Legende:** Die Abbildung zeigt schematisch eine Pyramidenzelle des Hippocampus mit spinebesetzten Dendriten (schwarz), ein CaBP-D28k-positives (gelb), sowie ein PARV-positives Neuron (blau). Innervationsschema adaptiert nach Freund (2003).

Arbeiten am Hippocampus und Neocortex zeigen, dass zwischen CaBP-D28k- und PARV-exprimierenden Interneuronen eine funktionelle Dichotomie besteht. CaBP-D28k-haltige Interneurone, die vor allem die Dendriten der Projektionszellen innervieren, beeinflussen vor allem die Wirksamkeit und Plastizität des Inputs dieser Zellen, PARV-exprimierende Neurone terminieren insbesondere auf das Soma, proximale Dendriten und das

Axoninitialsegment und regulieren auf diese Weise den Output der Projektionszellen, d.h. die Synchronisation großer neuronaler Populationen (Freund, 2003; Gulyàs & Freund, 1996; Gulyàs et al., 1999; Zaitsev et al., 2005) (Abbildung 13). CaBP-D28k wird jedoch nicht exklusiv von Interneuronen exprimiert, sondern ist auch in Prinzipalzellen nachweisbar (McDonald, 1997; Miettinen et al., 1992; Gulyás et al., 1991; Andressen et al., 1993), so unter anderem in den Granulärzellen des Gyrus dentatus (Scharfman et al., 2000). Prinzipal- und lokale inhibitorische Zellen können jedoch aufgrund histochemischer Färbecharakteristika (schwächere Markierung der Prinzipalzellen im Vergleich zu Interneuronen; z.B. McDonald, 1997) und den morphologischen Eigenschaften der Zellen voneinander differenziert werden. Zudem scheinen CaBP-D28k-positive Neurone im zentralen Kern der Amygdala GABAerge Projektionsneurone zu sein, da diese amygdaläre Subregion zahlreiche Eigenschaften des angrenzenden Striatums zeigt (Swanson & Petrovich, 1998), in welchem CaBP-D28k in GABAergen Projektionsneuronen exprimiert wird (Prensa et al., 1998; Gerfen et al., 1985).

Exzitatorische Projektionsneurone und GABAerge Interneurone unterscheiden sich nicht nur funktionell und neurochemisch voneinander. Es ist bekannt, dass GABAerge Neurone bereits frühzeitig ihre Funktionalität als Pyramidenzellen erreichen, wobei die Wirkungsweise von GABA zunächst exzitatorisch ist (Ben-Ari et al., 2004) und das endgültige Verteilungsmuster, wie es im Erwachsenenalter zu beobachten ist, erst in den frühen postnatalen Wochen, bspw. bei der Ratte um den 21. Tag, erreicht wird (Hof et al., 1999; Yoon et al., 2000; Moon et al., 2002). Die pränatale, wie auch frühe postnatale Entwicklungsphase, d.h. der Zeitraum, in der sich die Zahl und spezifische Eigenschaften der Interneurone herausbilden, ist somit vielleicht die kritischste Zeit, um die Balance zwischen exzitatorischen Projektionsneuronen und inhibitorischen Interneuronen zu beeinflussen (Levitt et al., 2004).

**Zusammengefasst bedeutet dies, dass:**

- GABA als hemmender Neurotransmitter die Aktivität erregender Projektionsneurone reguliert
- die Expression unterschiedlicher calciumbindender Proteine als morphologisch-funktionelles Unterscheidungsmerkmal dient
- GABAerge Interneurone (erst) postnatal ihr endgültiges Verteilungs- und Innervationsmuster erreichen

***Corticotropin-Releasing Factor-haltige Zellen und Fasern:***

Wie auf den vorangegangenen Seiten beschrieben, exprimieren GABAerge Interneurone calciumbindende Proteine, anhand derer funktionell verschiedene GABAerge Subpopulationen differenziert werden können. Neben diesen Proteinen exprimieren GABAerge Interneurone häufig auch Peptide, die unter anderem die Funktion eines Cotransmitters ausüben und eine modulierende Funktion erfüllen (Kahle & Frotscher, 2002). Eines dieser Peptide ist der Corticotropin-Releasing Factor (CRF). CRF ist ein 41-Aminosäuren-Neuropeptid, von dem bekannt ist, dass es als Neurohormon an der Stressantwort über die Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse beteiligt ist (Erb et al., 2001). Studien der letzten Jahren haben jedoch gezeigt, dass CRF ebenso in extra-hypothalamischen Regelkreisen, wie dem zentralen Kern der Amygdala, dem Hippocampus oder limbisch-corticalen Bereichen (Avishai-Eliner, 2002; Carrasco & Van de Kar, 2002) vorzufinden ist und -wie bisher für den Hippocampus bekannt-, an dieser Stelle vermutlich als exzitatorischer Neuromodulator fungiert (Baram & Hatalski, 1998; Chen et al., 2004).

Weitere Untersuchungen (im Hippocampus und Neocortex der Ratte) zur Funktionalität und vor allem zur morphologischen Charakterisierung extra-hypothalamischer CRF-exprimierender Neurone haben schließlich nachgewiesen, dass CRF in GABAergen, insbesondere Parvalbumin- exprimierenden Zellen coexprimiert wird (Yan et al., 1998; Chen et al., 2004). Immunhistochemische Doppelmarkierungen haben zudem gezeigt, dass CRF in diesen Neuronen vorrangig in Axonterminalien lokalisiert ist, die Kontakte mit nicht-GABAergen, vermutlich exzitatorischen Prinzipalzellen, etablieren (Chen et al., 2004). Aufgrund der Lokalisation des CRF-Rezeptors 1 (CRF-R1) auf dendritischen Spines exzitatorischer Projektionsneurone ist CRF somit in der Lage, die synaptische Effektivität zu erhöhen und die dendritische Differenzierung zu beeinflussen (Abbildung 14; Baram & Hatalski, 1998; Chen et al., 2004). Im Falle einer exzessiven Freisetzung scheint CRF darüber hinaus eine bedeutende Rolle im Zusammenhang mit neuronalem Zelltod oder der Schädigung unreifer hippocampaler and amygdalärer Zellen zu besitzen (Baram & Hatalski, 1998; Avishai-Eliner, 2002), was unter anderem durch Beobachtungen gestützt wird, dass CRF in der Lage ist, epileptische Anfälle zu generieren (Chen et al., 2001).

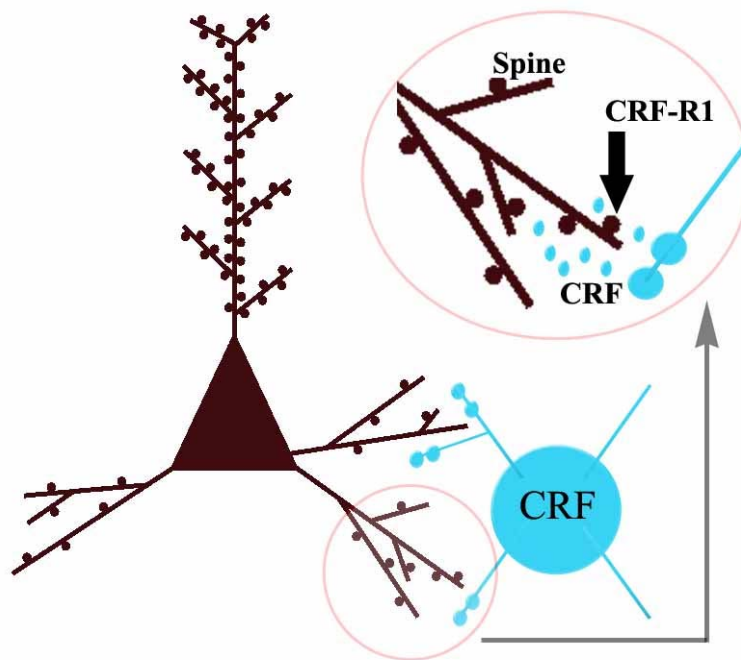


Abbildung 14:  
Innervationsschema einer hippocampalen Pyramidenzelle durch ein CRF-exprimierendes Neuron

**Legende:** Die Abbildung zeigt schematisch eine Pyramidenzelle des Hippocampus mit spinebesetzten Dendriten (braun), die synaptische Kontakte mit einem CRF-positive Neuron (blau) etabliert. CRF agiert als exzitatorischer Neuromodulator an CRF-R1-Rezeptoren, die auf dendritischen Spines lokalisiert sind. Innervationsschema in Anlehnung an Chen et al. (2004).

Diese Eigenschaften begründen vermutlich das entwicklungsabhängig variable Auftreten CRF-positiver GABAerger Zellen. Nach der *dritten postnatalen Woche* ist ein Rückgang der GABAergen CRF-Population (im Hippocampus der Ratte) zu beobachten, was vermuten lässt, dass insbesondere CRF eine wichtige Rolle bei der Entwicklung und funktionellen Reifung hippocampaler Verschaltungen spielt (Chen et al., 2001). Bekannt ist, dass gerade während der ersten drei postnatalen Entwicklungswochen im Hippocampus der Ratte, GABAerge Interneurone ihre hemmende Funktion erreichen und die exzitatorische glutamaterge synaptische Transmission exzitatorischer Projektionsneurone etabliert wird (Chen et al., 2001). Demzufolge erscheint es möglich, dass CRF insbesondere bei diesen Prozessen eine entscheidene Funktion übernimmt, die nach abgeschlossener Reife ihre Wichtigkeit verliert (Chen et al., 2001). Vergleichbare Detailstudien für den Neocortex oder aber die Amygdala liegen bis zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht vor, so dass nur spekuliert werden kann, dass diese Eigenschaften auch für diese Regionen zutreffen.

**Zusammengefasst bedeutet dies, dass:**

- CRF in GABAergen Interneuronen im Hippocampus, dem Neocortex und vermutlich auch in der Amygdala exprimiert wird
- CRF als exzitatorischer Neuromodulator seine erregende Wirkung am CRF-R1, lokalisiert auf dendritischen Spines exzitatorischer Projektionsneurone entfaltet und demzufolge eine Rolle bei der dendritischen Differenzierung übernimmt (Hippocampus)



- CRF in GABAergen Interneuronen entwicklungsabhängig variabel nachweisbar ist und seine Bedeutung „verliert“ wenn Interneurone ihre hemmende Funktion erreichen und die exzitatorische glutamaterge synaptische Transmission exzitatorischer Projektionsneurone etabliert ist (Hippocampus)
- diese Eigenschaften vermutlich auch auf CRF-exprimierende Neurone des Neocortex und der Amygdala zutreffen

***Tyrosinhydroxylase-haltige Fasern:***

Exzitatorische Projektionsneurone, wie auch GABAerge Interneurone bilden nicht nur untereinander synaptische Kontakte, sondern werden zudem von modulatorischen, monoaminergen Fasersystemen aus dem Hirnstamm innerviert (bspw. Grace, 2002).

Zur Analyse modulatorischer, katecholaminerger Fasersysteme wurde in dieser Arbeit das Enzym Tyrosinhydroxylase (TH) genutzt. TH ist das erste Enzym in der Synthese aller Katecholamine (Abbildung 16) und ist demzufolge überwiegend in dopaminergen und in

Abhängigkeit von der Hirnregion auch in noradrenergen Fasern nachweisbar. Studien haben jedoch gezeigt, dass TH-markierte Fasern zumeist dopaminerg sind: Doppelfärbungen an Primaten mit Antikörpern gegen TH und gegen das Enzym Dopamin-β-Hydroxylase (DBH, hydroxyliert Dopamin zu Noradrenalin und ist demzufolge ein spezieller Marker für noradrenerge Neurone und Fasern) zeigen nur einen minimalen Anteil doppelt markierter Fasern (Akil & Lewis, 1993; Lewis et al., 1987; Brinley-Reed & McDonald, 1999), mit Ausnahme des Hippocampus in der TH-immunoreaktive Fasern überwiegend noradrenerg sind (Moudy et a., 1993).

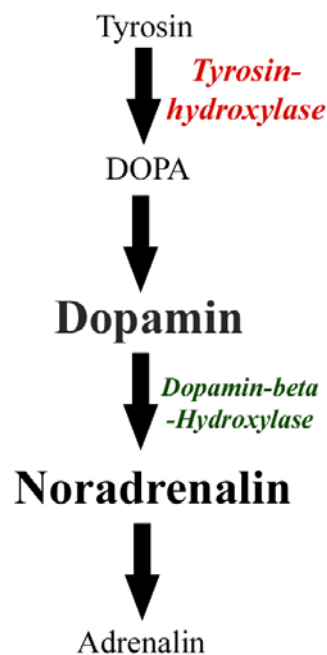


Abbildung 15: Dopamin-/Noradrenalin-Synthese

**Legende:** Die Abbildung zeigt schematisch die Synthese der Neurotransmitter Dopamin und Noradrenalin, wobei das Enzym Tyrosinhydroxylase (TH) das erste Enzym in der Synthese der Katecholamine darstellt. Untersuchungen haben gezeigt, dass TH-haltige Fasern im Neocortex der Amygdala vor allem dopaminerg und im Hippocampus überwiegend noradrenerg sind.

*Dopaminerge Bahnen* entspringen vor allem aus zwei spezifischen Quellen: aus Zellen in der ventralen tegmentalen Area (VTA) und der Substantia nigra, wobei Neurone der VTA ihre Axone unter anderem zur Amygdala oder dem Neocortex entsenden (Gu, 2002; Hasue & Shammah-Lagnado, 2002), um dort, wie bspw. im präfrontalen Cortex oder dem basolateralen Kernkomplex der Amygdala, auf dendritische Spinesynapsen exzitatorischer

Projektionsneurone und GABAerge Interneurone zu terminieren (Abbildung 16; Grace, 2002; Asan, 1998; Brinley-Reed & McDonald, 1999; Rosenkranz & Grace, 1999).

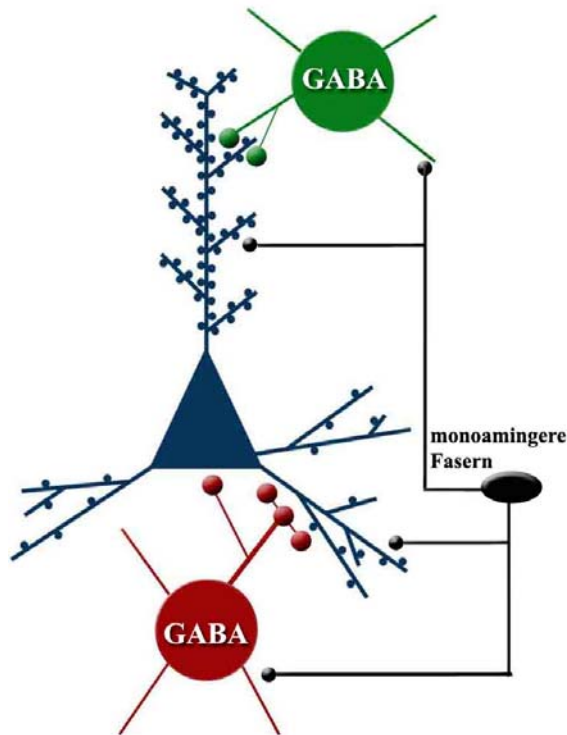


Abbildung 16: Dopaminerge Innervation des präfrontalen Cortex und des basolateralen Kernkomplexes der Amygdala (schematisch)

**Legende:** Die Abbildung zeigt schematisch die Innervation einer spines besetzten Pyramidenzelle und GABAerger Interneurone durch dopaminerge Fasern, die der ventralen tegmentalen Area des Hirnstamms entspringen. Innervationsschema in Anlehnung an Grace (2002).

**Abkürzungen:** VTA, ventrale tegmentale Area

Dopamin moduliert die corticale und amygdaläre (basolateraler Kernkomplex) Aktivität über die Hemmung von Pyramidenzellen, sowie über die Erregung

GABAerger Neurone (Sesack et al., 1998; Ohara et al., 2003; Gao et al., 2003; Grace, 2002; Strange, 2000).

Auslenkungen des dopaminergen Systems werden bspw. mit zahlreichen psychopathologischen Störungen assoziiert. Schizophrene Erkrankungen (Kandel et al., 1996), aber auch bipolare Störungen (Friedel, 2004; Gu, 2002) gehen mit Dysfunktionen des dopaminergen Systems einher (Kandel et al., 1996). Die dopaminerge Modulation spielt zudem eine unerlässliche Rolle bei der Verarbeitung emotionaler Information, kognitiven Prozessen und insbesondere der Impulskontrolle (Friedel, 2004; Gu, 2002).

Untersuchungen zur funktionellen Reifung dopaminergere Afferenzen (bspw. am Gerbil, *Meriones unguiculatus*) haben gezeigt, dass die Innervation des PFC oder aber auch der Amygdala eine deutlich prolongierte Reifung aufweist, die äußerst sensitiv gegenüber Umwelteinflüssen ist (Brummelte & Teuchert-Noodt, 2006; Winterfeld et al., 1998; Busche et al., 2004). Auch *Octodon degus* weist eine postnatale Reifung der dopaminergen Innervation im PFC auf: bereits am Tag der Geburt sind dopaminerge Fasern nachzuweisen, die adulte Faserdichte wird jedoch erst um den postnatalen Tag 14 erreicht (Braun et al., 2000). Darüber hinaus wird beschrieben, dass Dopamin eine trophische Wirkung während corticaler Reifungsprozesse besitzt, die die spätere Funktionalität der insbesondere

präfrontalen corticalen Region determiniert (Nieoullon, 2002; Nieoullon. & Coquerel, 2003). Ein Hinweis auf eine langanhaltende Plastizität.

Bei Primaten und anderen Säugern ist der präfrontale Cortex reich an dopaminergen Fasern (Kandel et al., 1996), die funktionell vor allem kognitive Prozesse modulieren (Nieoullon, 2002). Nur eines von vielen Beispielen zeigt, dass bspw. die Blockade von Dopaminrezeptoren im OFC instrumentelles Lernen bei Ratten beeinträchtigt (Cetin et al., 2004). Dies spiegelt zum einen die Bedeutung Dopamins bei der Ausführung kognitiver Verhaltenstests, aber auch bei der Verstärkung von Verhaltensweisen wider. Dies wurde zudem durch Selbstverabreichungsexperimente am Tier bestärkt, in denen gezeigt wurde, dass Tiere eine Selbstverabreichung dopaminverstärkender Pharmaka sogar gegenüber der Aufnahme von Nahrung bevorzugen (Kandel et al., 1996).

*Noradrenalin*, produziert in den Zellen des Locus coeruleus (LC) im Hirnstamm, übernimmt die Funktion eines Transmitters, dessen Wirkungsweise sich über das gesamte Hirn bis ins Rückenmark erstreckt (Kandel et al., 1996; Gu, 2002). Studien haben gezeigt, dass unter anderem der Hippocampus relativ dicht von noradrenergen Fasern innerviert wird, vor allem der Gyrus dentatus als Haupteingangsstelle afferenter Bahnen, wohingegen die CA1-Region die geringste Innervationsdichte aufweist (Oleskevich et al., 1989). Die Wirkungsbreite des Noradrenalins umfasst vor allem die inhibitorische Wirkung über die Erregung inhibitorischer Neurone aller Schichten (Bergles et al., 1996; Milner & Bacon, 1989) und die, wenn auch nur schwach ausgeprägte Innervation der Granulär- und Pyramidenzellen des Hippocampus (Oleskevich et al., 1989).

Untersuchungen an der Ratte zur Entwicklung des noradrenergen Innervationsmusters im Hippocampus zeigen deutliche Veränderungen in der postnatalen Entwicklung, was auf eine Unreife dieses Systems in der frühen postnatalen Entwicklung schließen lässt: während am vierten postnatalen Tag nur wenige noradrenerge Fasern vorzufinden sind, ist unter anderem am postnatalen Tag 21 eine deutliche Zunahme der Faserdichte zu beobachten (Moudy et al., 1993). Untersuchungen an adulten Ratten wiesen eine deutliche Reduktion noradrenerger Axonterminalien im Gyrus dentatus des Hippocampus mit zunehmenden Alter der Tiere nach (Ishida et al., 2000), was auf eine kontinuierliche Plastizität des Systems schließen lässt.

Abschließend sei bemerkt, dass Noradrenalin eine bedeutende Funktion bei der Genese psychischer und neurologischer Fehlfunktionen, wie sie unter anderem bei Depressionen oder Angststörungen vorzufinden sind, zukommt (Kandel et al., 1996). Der Hippocampus

spielt bspw. eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie der generalisierten Angst- oder aber auch Panikstörung, was in der Literatur unter anderem auf eine exzessive Erhöhung des noradrenergen Einflusses in dieser Region zurückgeführt wird (Teicher et al., 2003).

**Zusammengefaßt bedeutet dies, dass:**

- TH das erste Enzym in der Synthese aller Katecholamine und demzufolge in *dopaminergen* (z.B. Cortex, Amygdala) und z.T. in noradrenergen Fasern (Hippocampus) nachweisbar ist
- dopaminerge Afferenzen zum PFC oder aber auch der Amygdala eine deutlich prolongierte Reifung aufweisen; noradrenerge Innervationsmuster deutliche Veränderungen in der postnatalen Entwicklung zeigen
- die dopaminerge Aktivität eine unerlässliche Rolle bei der Verarbeitung emotionaler Information, der Impulskontrolle und kognitiven Prozessen spielt; Noradrenalin eine bedeutende Position bei psychischen und neurologischen Fehlfunktionen besitzt

## 2.5 Abschließende Zusammenstellung der einzelnen Fragestellungen

### A. Sozialverhalten im Familienverband, sowie Lern-, impulsives, und angstbesetztes Verhalten im Erwachsenenalter

*Hypothese:* Vaterdeprivierte Jungtiere und „allein erziehende“ Mütter zeigen veränderte soziale Verhaltensweisen im Familienverband, wobei Degumütter das Fehlen väterlicher Fürsorge kompensieren. *Fragestellungen:* Zeigen vaterdeprivierte Jungtiere veränderte soziale Verhaltensweisen im Familienverband? Verändern „allein erziehende“ Degumütter ihre sozialen Verhaltensweisen im Familienverband? Kompensieren Degumütter das Fehlen väterlicher Fürsorge? (Abbildung 17)

*Hypothese:* Erwachsene vaterdeprivierte Tiere zeigen *Verhaltensdefizite* im Lernverhalten, der Impulskontrolle, sowie Ängstlichkeit. *Fragestellungen:* Beeinflusst das Fehlen väterlicher Fürsorge die Emotionalität/Ängstlichkeit vaterdeprivierter Tiere? Zeigen vaterdeprivierte Tiere Defizite im Erlernen einer operanten Konditionierungsaufgabe? Zeigen vaterdeprivierte Tiere impulsive Verhaltensweisen (Abbildung 17)?



#### Soziales Verhalten im Familienverband (Jungtiere im Familienverband)



#### Kognitives Verhalten (im Erwachsenenalter)



Abbildung 17: Analyse des Verhaltens

**Legende:** Die Abbildung zeigt auf der linken Seite eine Degufamilie in einer typischen Aufzuchtvoliere und auf der rechten Seite die beiden Verhaltensanalyseeinheiten: bis die Jungtiere 21 Tage alt sind, wird das soziale Verhalten im Familienverband analysiert, wohingegen im Erwachsenenalter das kognitive Verhalten deprivierter im Vergleich zu biparental aufgezogenen Degus untersucht wird.

### B. Morphologische und neurochemische Postnatalentwicklung im orbitofrontalem Cortex, der Amygdala und dem Hippocampus

*Hypothese:* Die hohe strukturelle und funktionelle Plastizität des OFC, der Amygdala und des Hippocampus führt bei vaterdeprivierten Tieren zu einer veränderten neuronalen Entwicklung präfrontaler und limbischer Hirnareale, die mit Veränderungen des Verhaltens

korrelieren. *Fragestellungen:* Beeinflusst das Fehlen väterlicher Fürsorge während der frühen Postnatalentwicklung die Ausreifung von Projektionsneuronen in corticalen (orbitofrontaler Cortex) und subcorticalen Zentren (Amygdala, Hippocampus)? Beeinflusst das Aufwachsen ohne Vater die Ausreifung funktionell differenzierbarer inhibitorischer GABAerger Interneurone, CRF-exprimierender Neurone/Fasern und/oder die Innervation durch modulatorische, katecholaminerge Fasersysteme?

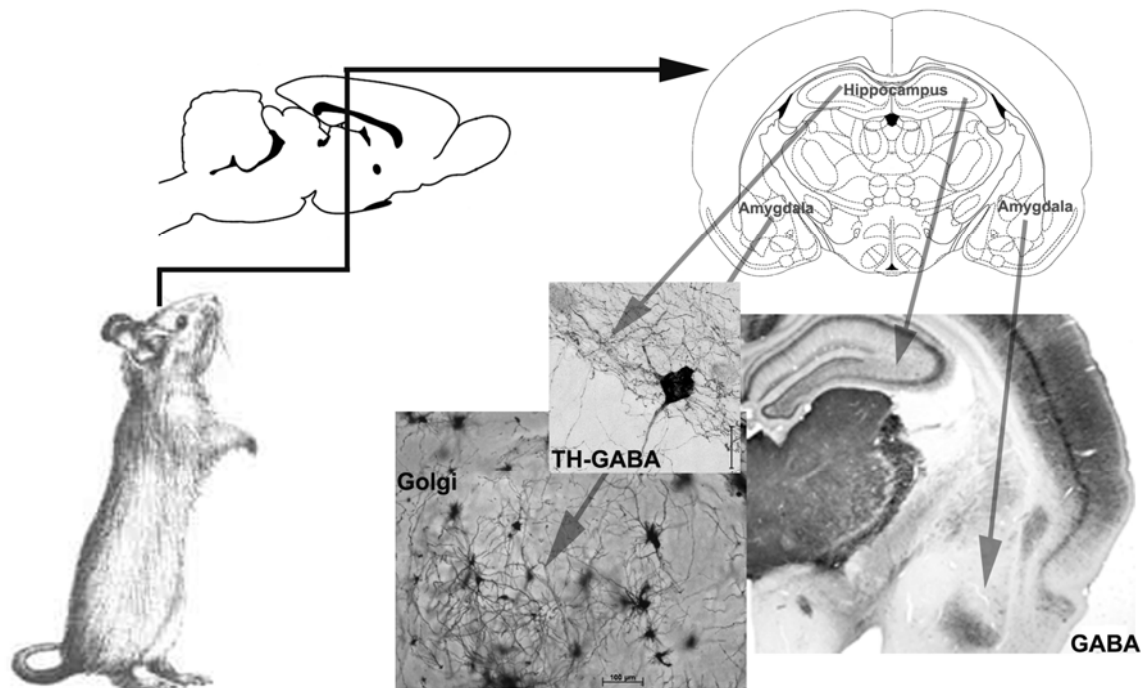


Abbildung 18: Morphologische und neurochemische Analyse (keine Vollständigkeit der analysierten Regionen und neurochemischen Marker)

**Legende:** Die Abbildung zeigt vereinfacht die Untersuchung neuromorphologischer und neurochemischer Eigenschaften vaterdeprivierter und biparental aufzogener Tiere am Beispiel des Hippocampus und der Amygdala. Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Versuchstiere

##### *Haltung der Tiere:*

Die Tiere (*Octodon degus*; siehe auch Abschnitt 2.1) stammen aus der Kolonie am Leibniz Institut für Neurobiologie in Magdeburg. Die Familien, d.h. ein erwachsenes Zuchtpaar und deren Nachwuchs, befanden sich in Gehegen mit einer Größe von 51 x 42 x 68 cm (Abbildung 19), die in einem Raum untergebracht waren, der in einem Hell-Dunkel-Zyklus von jeweils 12 Stunden beleuchtet und auf ca. 22 °C temperiert wurde. Neben zusätzlichem Nagematerial, wie Hölzer oder Zellstoff (Abbildung 19), stand den Tieren zudem eine Röhre aus Keramik als Unterschlupf zur Verfügung (nicht während der Verhaltensbeobachtung, Abschnitt 3.2). Untersuchte Jungtiere wurden bis zum postnatalen Tag (PND) 21, erwachsene Tiere (PND 90) bis zum PND 45 im Heimkäfig belassen. Die PND 45 Tiere wurden anschließend mit ihren gleichgeschlechtlichen Geschwistern (mindestens 2 Tiere pro Gehege) ohne die Eltern in neuen Gehegen bis zum PND 90 untergebracht. Die Tiere hatten stets frisches Trinkwasser, Rattenpellets (SSNIFF Spezialdiäten GmbH, Deutschland) und frisches Gemüse *ad libitum* verfügbar.

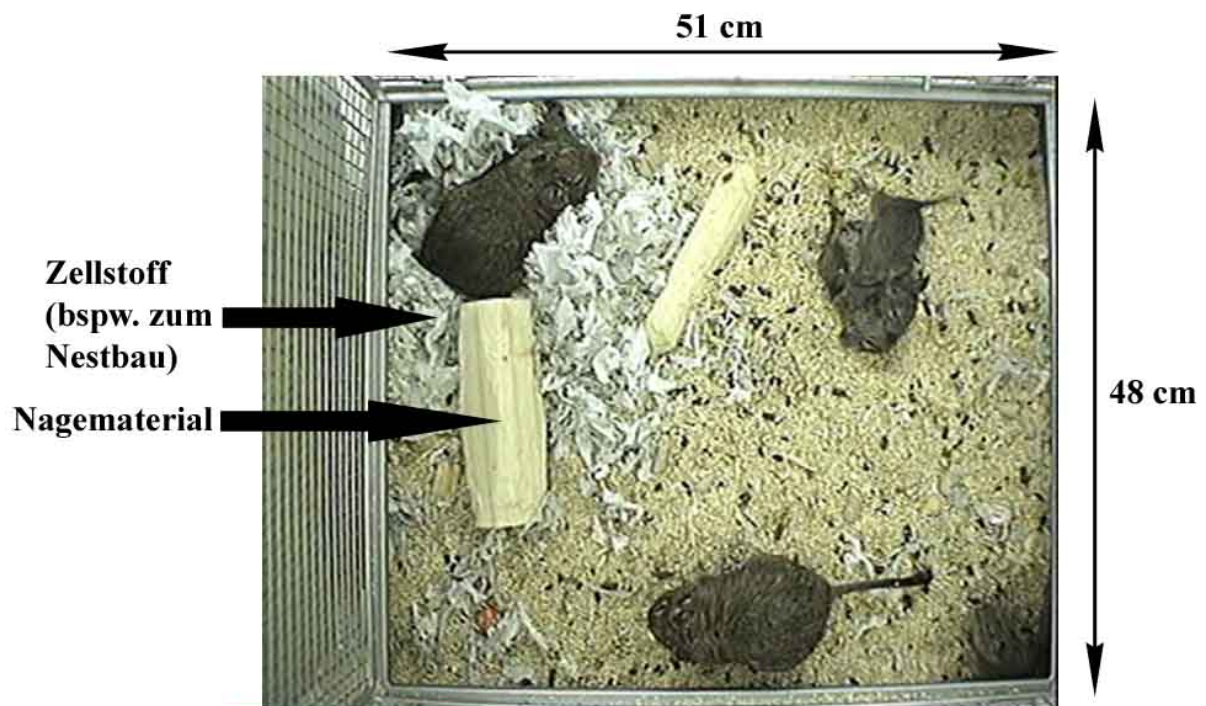


Abbildung 19: Gehege

**Legende:** Die Abbildung zeigt ein typisches Aufzuchtgehege, sowie das Zuchtpaar und deren Nachwuchs.

***Untersuchungsgruppen:***

**Gruppe 1 - Tiere mit beiden Eltern / biparentale Kontrollgruppe:** Die Jungtiere werden von beiden Elternteilen aufgezogen.

**Gruppe 2 - Tiere ohne Vater / vaterdeprivierte Gruppe:** Am ersten Tag nach der Geburt der Nachkommen wird der Vater aus dem Familienverband entnommen und in einen separaten Raum platziert, so dass die Tiere von einer „allein erziehenden Mutter“ aufgezogen wurden.

### **3.2 Verhaltensanalyse**

Wie einleitend in Abschnitt 2.2 erläutert, weisen zahlreiche Untersuchungen am Tiermodell darauf hin, dass das Verhalten der Mutter für das Überleben der Nachkommen von enormer Bedeutung ist und die Qualität, wie auch die Quantität ihres Brutpflegeverhaltens eng mit der Hirnentwicklung, sowie kognitiven, affektiven und sozialen Verhaltensweisen der Jungtiere verknüpft ist. Zahlreiche mütterliche Verhaltensweisen werden in biparentalen Spezies ebenso vom Vater gezeigt (Abschnitt 2.2) und Humanstudien weisen darauf hin, dass das Fehlen väterlicher Fürsorge vermutlich den Ausgangspunkt bspw. schlechter Lernleistungen, aber auch gesteigerter unreifer Impulskontrolle der Nachkommen darstellt (Abschnitt 2.2).

In Anlehnung an die Arbeitshypothese dieser Dissertation ergeben sich folgende Schwerpunkte der Verhaltensanalyse: inwieweit sind durch das Fehlen väterlicher Fürsorge während der frühen Postnatalentwicklung Änderungen sozialer Verhaltensweisen im Familienverband (Abschnitt 3.2.1) beobachtbar, d.h. ändert sich durch das Fehlen väterlicher Fürsorge das Brutpflegeverhalten der Mutter (Mutter-Jungtier-Interaktionen), zeigen ohne Vater herangewachsene Jungtiere Auffälligkeiten sozialer Verhaltensweisen gegenüber den Eltern (Jungtier-Eltern-Interaktionen) oder aber den Geschwistern (Jungtier-Jungtier-Interaktionen)? Besitzt das Fehlen väterlicher Fürsorge einen langfristigen Einfluss auf das kognitive, d.h. Lern-, impulsives und angstbesetztes Verhalten im Erwachsenenalter (Abschnitt 3.2.2 und 3.2.3)?

Die Ergebnisse der Verhaltensanalyse sollen anschließend mit möglichen Änderungen funktioneller Hirnsysteme (Abschnitt 3.3) erörtert werden.

#### **3.2.1 Soziales Verhalten im Familienverband**

Ziel der Verhaltensanalyse im Familienverband ist es zu analysieren, welchen Einfluss das Fehlen väterlicher Fürsorge -eine sozio-emotionale Teildeprivation- auf das soziale Verhalten der Jungtiere hat. Insbesondere wurde auch das Verhalten der Mutter analysiert, nachdem der Vater aus dem Familienverband entnommen wurde, d.h. ein Vergleich des mütterlichen Brutpflegeverhaltens zwischen „allein erziehenden“ Müttern und Müttern aus biparentalen Familien.



**Es wurden folgende Familien den Untersuchungsgruppen zugeordnet:**

<i>Biparentale Kontrollgruppe</i>			<i>Vaterdeprivierte Gruppe</i>		
Familie	Wurfdatum	Wurfgröße / Geschlechter- verteilung (♂/♀)	Familie	Wurfdatum	Wurfgröße / Geschlechter- verteilung (♂/♀)
V 11/04	05.12.2004	(5/2)	V 12/03	08.09.2004	(4/3)
V 35/04	10.01.2005	(2/1)	V 16/04	25.11.2004	(2/4)
V 14/02	20.01.2005	(2/4)	V 3/04	02.12.2004	(2/3)
V 34/03	18.02.2005	(3/2)	V 15/04	13.12.2004	(3/1)
V 36/04	22.02.2005	(3/4)	V 27/04	12.02.2005	(5/3)
		Σ (15/13)			Σ (16/14)

Tabelle 1: Untersuchungsgruppen der Verhaltensanalyse - Sozialverhalten im Familienverband

**Erstellung der Verhaltensaufnahmen:**

Kontroll- und vaterdeprivierte Tiere wurden zu diesem Zweck anhand von Videoaufnahmen hinsichtlich ausgewählter Verhaltensparameter analysiert (Tabelle 2). Es wurden für 20 Minuten fünfmal am Tag (7:00, 9:00, 13:00, 14:00, 16:00 Uhr) am postnatalen Tag (PND) 15, 18 und 21 Aufnahmen von 5 intakten und 5 vaterlosen Familien aufgezeichnet (vgl. Tabelle 1). Um die Dauer des Verhaltens zu bestimmen, wurden die verschiedenen Verhaltensparameter jede Minute über die Gesamtzeit von 300 min analysiert und als Prozentsatz des gezeigten Verhaltens bestimmt (vgl. Liu et al., 2000). Zur Bestimmung der Frequenz eines Verhaltens wurden die Aufnahmen kontinuierlich über die gesamte Aufnahmezeit ausgewertet (vgl. auch folgende Abschnitte).

**Die Untersuchung des Sozialverhaltens im Familienverband umfasste folgende Analysen:**

*Verhaltensanalyse 1: Analyse der Eltern-Jungtier-Interaktionen im Familienverband*

Fragestellung: Wie ist das Brutpflegeverhalten von Mutter- und Vattertier im Familienverband charakterisiert?

Mütterliches und väterliches Verhalten, wie Putzen der Jungtiere, Säugen und Körperkontakt („Aneinanderschmiegen“), aber auch das Spielen mit den Nachkommen, wurde jede Minute über 300 Minuten analysiert und der mittlere Prozentsatz auf Unterschiede zwischen den Gruppen geprüft, um die Dauer des elterlichen Verhaltens auszuwerten (Tabelle 2).

<i>Parameter</i>	<i>Erfassung und Analyse</i>
<i>Putzen</i>	→ Vater oder Mutter leckt/putzt das/die Jungtier/e.
<i>Körperkontakt</i>	→ Mutter und/oder Vater liegt in engem Kontakt zusammen mit den Jungtieren („Aneinanderschmiegen“).
<i>Säugen</i>	→ Die Mutter säugt die Jungtiere.

Tabelle 2: Parameter der Eltern-Jungtier-Interaktionen

**Verhaltensanalyse 2: Analyse der Jungtier-Eltern-Interaktionen im Familienverband**

Fragestellung: Welche Unterschiede lassen sich im Putz- und Spielverhaltens der Jungtiere gegenüber ihren Eltern beobachten?

Putzen und Pflegen, initiiert von den Jungtieren und Spielverhalten (siehe dazu Verhaltensanalyse 3; Tabelle 3) mit den Eltern wurde, um die Dauer des Verhaltens auszuwerten, jede Minute über 300 Minuten analysiert und ebenfalls der mittlere Prozentsatz errechnet und auf signifikante Unterschiede zwischen beiden Experimentalgruppen untersucht. Zur Bestimmung der Frequenz des Putz- und Spielverhaltens mit den Eltern wurde das Verhalten kontinuierlich über 300 Minuten beobachtet und auf signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen getestet.

<i>Parameter</i>	<i>Erfassung und Analyse</i>
<i>Putzen</i>	→ Ein oder mehrere Jungtiere lecken/putzen Vater oder Mutter.
<i>Spielen</i>	→ Ein oder mehrere Jungtiere spielen mit Mutter und/oder Vater, z.B. auf dem Rücken reiten.

Tabelle 3: Parameter der Jungtier-Eltern-Interaktionen

**Verhaltensanalyse 3: Analyse der Jungtier-Jungtier-Interaktionen im Familienverband**

Fragestellung: Welche Unterschiede lassen sich im Putz- und Spielverhaltens der Jungtiere gegenüber ihren Geschwistern beobachten?

Das Verhalten der Jungtiere gegenüber ihren Geschwistern, wie Putz- oder Spielverhalten, insbesondere das „Play fighting“ (Wilson & Kleiman, 1974; Pellis & Pellis, 1998), wie bspw. „Boxen“ oder „Reiten“ (Tabelle 4, Abbildung 20), wurde jede Minute über 300 Minuten analysiert und der mittlere Prozentsatz auf signifikante Unterschiede hinsichtlich der Dauer des Verhaltens zwischen den Gruppen geprüft. Zudem wurde die Frequenz des Verhaltens kontinuierlich über 300 Minuten ausgewertet. Die mittlere Zahl des gegenseitigen Pflege- und Spielverhaltens wurde auf signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen getestet.

<i>Parameter</i>	<i>Erfassung und Analyse</i>
<i>Putzen</i>	→ Ein oder mehrere Jungtiere lecken/putzen ihre Geschwister
<i>Spielen:</i>	
<i>Boxen</i>	→ Zwei oder mehrere Jungtiere stehen sich gegenüber und bewegen ihre Pfoten gegeneinander (Abbildung 20)
<i>Ringeln</i>	→ Zwei oder mehrere Jungtiere rollen herum und balgen sich
<i>Reiten</i>	→ Ein oder mehrere Jungtiere legen sich auf den Rücken eines weiteren Jungtieres, während das erste versucht zu flüchten (Abbildung 20)

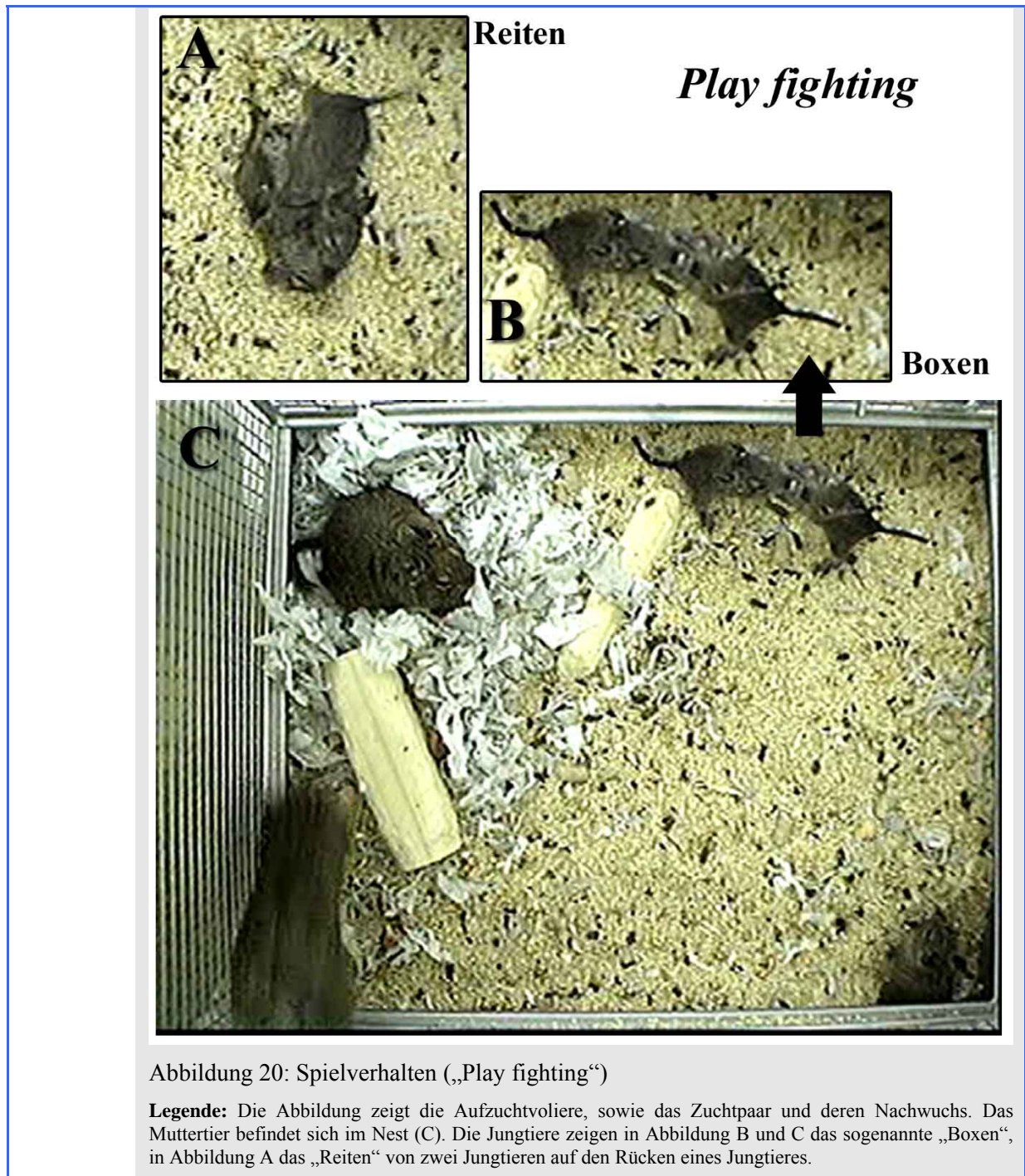


Tabelle 4: Parameter der Jungtier-Jungtier-Interaktionen

### Statistische Analyse:

Die statistische Analyse zum Vergleich der beiden Untersuchungsgruppen wurde mit dem Programm Sigmastat 2.0 (Jandel Scientific, San Rafael, USA) im Falle der Normalverteilung der Daten anhand des Student's t-Tests oder im Falle der Nicht-Normalverteilung der Daten mittels des non-parametrischen U-Tests nach Mann-Whitney realisiert. Die N-Zahl entsprach der Zahl der Familien pro Gruppe. Als Signifikanzniveau wurde  $p < 0,05$  gewählt.

### 3.2.2 Analyse des Verhaltens in der Open-Field-Arena: Exploration, Angstverhalten

Die Untersuchung des Verhaltens in der Open-Field-Arena wird bei einer Vielzahl an Spezies angewandt, um deren Reaktivität, insbesondere hinsichtlich ihres Angstverhaltens, in einer fremden Umgebung zu erfassen (Prut & Belzung, 2003). Zur Untersuchung der Auswirkung fehlender väterlicher Fürsorge auf die Exploration und Verhaltensparameter, die im Kontext mit Angstverhalten stehen, wurden erwachsene Degus (PND 90) im Open-Field untersucht (Tabelle 5).

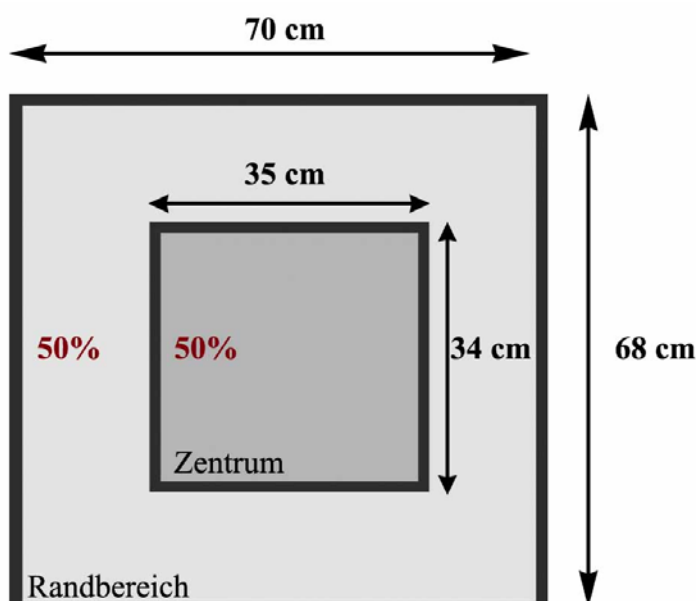
**Es wurden folgende Familien den Untersuchungsgruppen zugeordnet:**

<i>Biparentale Kontrollgruppe</i>				<i>Vaterdeprivierte Gruppe</i>			
Familie	Wurfdatum	Wurfgröße / Geschlechterverteilung (♂/♀)	Verwendete Tiere / Geschlechterverteilung (♂/♀)	Familie	Wurfdatum	Wurfgröße / Geschlechterverteilung (♂/♀)	Verwendete Tiere / Geschlechterverteilung (♂/♀)
V 11/04	05.12.2004	(5/2)	(2/2)	V 16/04	25.11.2004	(2/4)	(2/2)
V 17/04	07.12.2004	(4/2)	(2/2)	V 3/04	02.12.2004	(2/3)	(2/2)
V 8/04	10.12.2004	(4/0)	(2/2)	V 15/04	13.12.2004	(3/1)	(3/0)
V 6/04	11.12.2004	(5/4)	(2/2)	V 5/04	27.02.2005	(2/2)	(2/2)
V 36/04	22.02.2005	(3/4)	(2/2)	V 13/04	21.03.2005	(2/2)	(2/2)
V 6/04	12.08.2005	(2/3)	(2/2)	V 9/05	10.08.2005	(4/2)	(3/2)

Tabelle 5: Untersuchungsgruppen der Verhaltensanalyse - Open-Field und Skinner-Box

#### Die Open-Field-Arena war wie folgt ausgestattet:

Die Open-Field-Arena besteht aus einer 70 x 68 x 37 cm großen Box aus hellgrauem Kunststoff. Über der Open-Field-Arena war eine digitale Kamera (Panasonic NV-DS990EG) angebracht,



mittels derer das Verhalten über das Analysesystems Ethovision 2.0 (Noldus, Niederlande) erfasst und als digitales Videofile aufgezeichnet wurde.

Abbildung 21: Schematische Darstellung der Grundfläche der Open-Field-Arena

**Legende:** Das äußere Quadrat definiert den Randbereich, das innere den zentralen Bereich der Arena.

Die Grundfläche der Box wurde zudem in einen Randbereich und einen zentralen Bereich (inneres Feld/Zentrum der Arena) untergliedert, wobei beide Bereiche, die gleiche Grundfläche besitzen (Abbildung 22).

**Die Analyse des Verhaltens im Open-Field:**

***Verhaltensexperiment: Analyse des Verhaltens im Open-Field im Erwachsenenalter***

Fragestellung: Welche Unterschiede lassen sich in der Exploration und in angstbezogenen Verhaltensweisen (bspw. das Vermeiden des Zentrums der Arena) zwischen biparental und vaterdeprivierter am PND 90 beobachten? Zeigen vaterdeprivierte Tiere Verhaltensdefizite im Erwachsenenalter (Langzeiteffekte)?

Zu Beginn des Experiments wurden die Tiere (Geschwisterpaare, siehe dazu Abschnitt 3.1) aus den Heimvolieren entnommen, in Käfige platziert (in denen sie bis zum Ende des anschließenden Skinner-Box-Versuches belassen wurden) und in einem separaten Versuchsraum untergebracht. Das Verhalten jedes Tieres wurde, nach einer 30-minütigen Gewöhnung an den Versuchsraum (dazu wurden die Tiere im Käfig belassen), einzeln fünf Minuten lang in der Versuchsarena getestet. Die Versuche fanden zwischen 10:00 und 12:00 Uhr statt. Zu diesem Zweck wurden die Tiere in die Mitte der Arena platziert und gleichzeitig die Aufzeichnung des Verhaltens begonnen. Nach jedem Versuchsdurchgang wurde die Arena sorgfältig mit verdünnter Essigsäure und frischem Papier gereinigt, um die olfaktorische Beeinflussung durch Duftmarkierungen der Vorgängertiere für die nachfolgenden Testtiere so gering wie möglich zu halten.

**Im Anschluß wurden folgende Parameter analysiert:**

<i>Parameter</i>	<i>Erfassung und Analyse</i>
<b><i>Emotionales/Angstverhalten</i></b>	
<i>Laufstrecke (in cm)</i>	→ Laufstrecke im Randbereich und dem Zentrum der Arena (= gesamte Arena) (1. bis 5. Testminute)
<i>Aktivität im Zentrum (das Verhältnis von Laufstrecke im Zentrum zur Gesamtlaufstrecke (in cm) = Emotionalität/Angst</i>	→ Aktivität im Zentrum (1. bis 5. Testminute): um Verzerrungen durch unterschiedliche Grundaktivitäten der Tiere zu vermeiden, wurde die relative Aktivität im Open-Field-Zentrum als Verhältnis der Laufstrecke im Zentrum zur Gesamtlaufstrecke gebildet
<i>Eintritte in das Zentrum</i>	→ Eintritte in das Zentrum der Arena
<i>Aufenthaltsdauer im Zentrum (in min)</i>	→ Aufenthaltsdauer im Zentrum der Arena
<i>Vokalisation</i>	→ Häufigkeit, mit der die Tiere in der Arena vokalisieren
<i>Ausscheidung</i>	→ Häufigkeit, mit der die Tiere in der Arena ausscheiden (Urinieren und Defekation)

<b>Vertikales Explorationsverhalten</b>	
<i>Aufrichten</i>	→ Häufigkeit, mit der sich die Tiere in der Arena aufrichten
<i>Springen</i>	→ Häufigkeit, mit der die Tiere in der Arena springen
<b>Sonstige Verhaltensweisen</b>	
<i>Putzen</i>	→ Häufigkeit, mit der die Tiere sich in der Arena putzen (Gesicht und Körper)

Tabelle 6: Analysierte Parameter im Open-Field

**Statistische Analyse:**

Um Interaktionen zwischen den Versuchsgruppen (biparental, vaterdepriviert), den Testminuten (erste bis fünfte Testminute) und dem Geschlecht der Tiere (weiblich, männlich) zu analysieren wurde eine 3-Wege-Varianzanalyse (ANOVA, *Analysis of Variance*) mit den Faktoren Aufzuchtbedingungen, Testminute und Geschlecht angewandt (Sigmastat 2.0, Jandel Scientific, San Rafael, USA). Der ANOVA folgte der Tukey Test für multiple Vergleiche. Die N-Zahl entsprach der Zahl der Tiere pro Gruppe (Tabelle 7). Als Signifikanzniveau wurde  $p < 0,05$  gewählt.

<b>N-Zahlen (Open-Field)</b>			
Laufstrecke, Aktivität im Zentrum, Eintritte ins Zentrum, Aufenthaltsdauer im Zentrum			
<i>Biparentale Gruppe</i>		<i>Vaterdeprivierte Gruppe</i>	
männlich	weiblich	männlich	weiblich
N=10	N=8	N=10	N=8
Analysierte Verhaltensweisen			
männlich	weiblich	männlich	weiblich
N=11	N=10	N=13	N=10

Tabelle 7: N-Zahlen (Open-Field)

**Anmerkung:** Aufgrund technischer Schwierigkeiten bei der Datengewinnung und der Erblindung einiger Tiere, entfällt für einige der Tiere die Analyse der Laufstrecke, der Aktivität im Zentrum, der Eintritte und der Aufenthaltsdauer im Zentrum.

**3.2.3 Analyse des Lernverhaltens und impulsiver Verhaltensweisen**

Tiermodelle zur Untersuchung von *Impulsivität* beruhen meist auf *Lernprozessen*, bei denen Verhalten durch eine Belohnung verstärkt wird (z.B. Evenden, 1998). Dieser Lernmechanismus geht auf die Anschauung der so genannten Behavioristen zurück. Diese vertreten die Ansicht, dass Verhalten unter anderem durch Belohnung erlernbar ist. Diese Art der Konditionierung wird als operante Konditionierung definiert. Diese beruht auf einem einfachen Modell: zeigt das Tier eine bestimmte Reaktion, folgt eine Belohnung bzw. eine Verstärkung (z.B. in Form eines Futterpellets), die die Wahrscheinlichkeit erhöht, dass dieses Verhalten zu einem späteren Zeitpunkt wiederholt gezeigt wird (Krech & Crutchfield, 1992). Operantes Verhalten kann bspw. durch die Skinner-Box antrainiert werden. Diese ist im Regelfall ein leerer Käfig, in dem ein oder zwei Hebel und ein

Ausgabeschacht für Futter angebracht sind. Die Hebel oder auch Tasten sind dabei mit einem boxinternen Mechanismus gekoppelt, der bei Betätigung dieser Futter in einen Schacht befördert durch welches das Verhalten des Tieres belohnt und somit operant konditioniert wird (Krech & Crutchfield, 1992; siehe auch folgenden Text).

Zusätzlich zum operanten Lernen (kognitive Kompetenz) kann in der Skinner-Box auch impulsives Verhalten (emotionale Kompetenz) getestet werden.

*Impulsives Verhalten* wird mit vorschneller Entscheidungsfindung, der Intoleranz gegenüber einer Belohnungsverzögerung und der Tendenz Reaktionsfolgen vorzeitig zu beenden, in Verbindung gebracht (Evdenden, 1999). Auf diesen Eigenschaften basiert auch die sogenannte FCN- ("fixed consecutive number" = festgelegte aufeinander folgende Anzahl an Tastendrücken)-Methode. Evenden (1998) nutzte diese Methode, um die Wirkung verschiedener Pharmaka auf das impulsive Verhalten der Ratte zu untersuchen. Die Tiere wurden dabei in einer Skinner-Box getestet, die mit zwei Hebeln ausgestattet war. Zunächst wurden die Ratten darauf trainiert, unter anderem 8 Mal (=feste Anzahl) die linke, sogenannte FCN-Taste und einmal die rechte, sogenannte Belohnungstaste zu drücken, um eine Belohnung in Form eines Futterpellets zu erhalten. Die Tiere mussten demnach eine bestimmte Sequenz erlernen, um eine Belohnung zu erhalten. Wurde diese vorzeitig beendet, wenn bspw. das Tier die FCN-Taste nur 7 Mal vor Betätigung der Belohnungstaste gedrückt hatte, so wurde der Ablauf unterbrochen, es gab keine Belohnung und das Tier musste die Sequenz von neuem beginnen. Die Tendenz diese Reaktionsabfolge vorzeitig zu beenden, stellt nach Evenden (1998) eine Methode dar, um impulsives Verhalten am Tiermodell zu untersuchen und wird aus diesem Grund in dieser Arbeit genutzt, um diese Verhaltensweisen am Degu zu analysieren.

**Es wurden folgende Familien den Untersuchungsgruppen zugeordnet:** Siehe dazu Tabelle 7 (Abschnitt Open-Field-Analyse)

**Die Skinner-Box war wie folgt ausgestattet:**

Die Skinner-Box ist eine Kammer, die mit zwei Hebeln ausgestattet ist, die variabel entnommen werden konnten (Abbildung 22). Beide Hebel können durch Krafteinwirkung bspw. durch Drücken aktiviert werden, so dass das Tier eine Belohnung in Form eines Futterpellets (Dustless Precision Pellets 45 mg; TSE Systems GmbH, Bad Homburg, Deutschland) erhält. Weiterhin befindet sich eine Klappe aus durchsichtigem Plexiglas in der Box, hinter der sich ein kleiner Behälter für die Futterpellets befindet, sowie mehrere Lichtquellen, die dem Tier den Beginn und das Ende eines Versuchsdurchgangs anzeigen (Abbildung 22). Die Kammer befand sich in einem schalldichten Raum, die mit einer Kamera (Panasonic NV-DS990EG) zu externen Kontrolle des Versuchablaufs versehen war (Abbildung 22). Die Erfassung und digitale Speicherung der Verhaltensdaten wurde über einen an die Box angeschlossenen Computer realisiert.

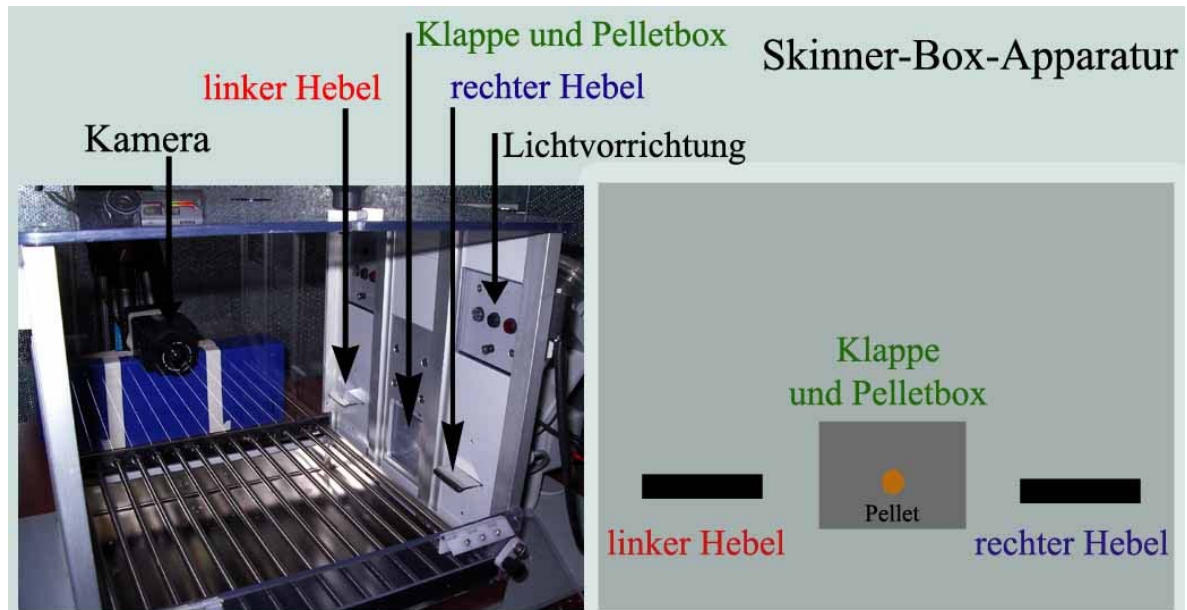


Abbildung 22: Skinner-Box-Apparatur

**Legende:** Die Abbildung zeigt die Skinner-Box-Apparatur. Zu sehen sind zum einen, der rechte, sowie der linke Hebel. Durch Drücken dieser Hebel konnte das Tier eine Belohnung, in Form eines Futterpellets, erhalten. Dieses Pellet befand sich in der Pellet- bzw. Futterbox, vor der sich eine durchsichtige Klappe befand. Weiterhin ist die Kamera zu sehen, mit denen der Versuchsablauf über einen Monitor beobachtet werden konnte. Die Lichtquellen zeigten dem Versuchstier sowohl den Beginn, als auch das Ende eines Durchgangs (Training oder Test) an.

### **Die Analyse des Lern- und Impulsiv-Verhaltens in der Skinner-Box umfasste folgende Experimente:**

#### ***Verhaltensexperiment: Analyse des Lernverhaltens im Erwachsenenalter***

Fragestellung: Zeigen erwachsene biparental aufgezogene und vaterdeprivierte Tiere Unterschiede im Lernverhalten? Untersuchung der Langzeitfolgen der sozio-emotionalen Teildeprivation.

In diesem Verhaltensexperiment wurde der Frage nachgegangen, wie viele Tage die Tiere beider Untersuchungsgruppen benötigen, um die Kriterien der beiden Trainingsphasen zu erreichen.

Einen Tag nach dem Open-Field-Test begann das erste Lerntraining, in dem die Tiere durch Versuch und Irrtum (zufällige Betätigung des Hebels) lernen sollten, eine Belohnung in Form eines Futterpellets zu erhalten (operante Konditionierung).

Folgendes Protokoll wurde angewandt:

*Trainingsphase 1: Erlernen, dass die Betätigung eines Hebels belohnt wird*

*Tag 1: Vorbereitung der Tiere auf das Lerntraining*

Wiegen der Tiere und Bestimmung des 80% Körpergewicht-Grenzwertes (siehe Futterdeprivation ab Tag 2). Dazu wurde das aktuelle Gewicht der Tiere bestimmt (100%) und von diesem Wert 20% subtrahiert. Die Tiere durften dieses Gewicht nicht unterschreiten, da diese lediglich *motiviert* werden sollten, die Futterpellets (=Nahrung) zu erhalten.



Markieren der Tiere (lokale Rasur des Fells zu Unterscheidung der Einzeltiere im Experiment: weibliche Tiere wurden am Kopf markiert, männliche Tiere am Rumpf).

*Tag 2:* Vorbereitung der Tiere auf das Lerntraining

Beginn der Futterdeprivation bei der die untersuchten Tiere 80% ihres ursprünglichen Körpergewichts nicht unterschreiten durften. Wasser war *ad libitum* verfügbar.

*Tag 3:* Gewöhnung der Tiere an die Skinner-Box

Wiegen der Tiere. Danach folgt eine 30minütige Gewöhnung an den Experimentalraum und anschließend die ersten 30 Minuten in der Skinner-Box, wobei keine Hebel installiert wurden und 10 Futterpellets in der Futterkammer platziert waren (Abbildung 23).

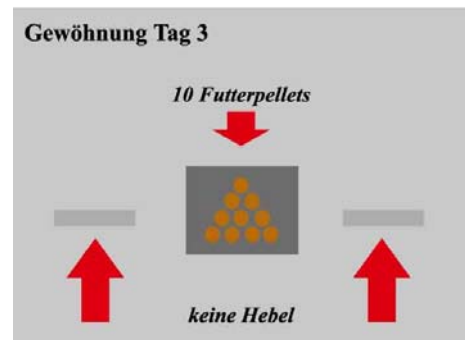


Abbildung 23: Training/Gewöhnung (Tag 3)

*Tag 4:* Erlernen, dass Futterpellets in der Pelletbox sind

Wiegen der Tiere. Danach folgte die 30minütige Gewöhnung an den Experimentalraum und anschließend die Platzierung des Tieres für 30 Minuten in die Skinner-Box. Alle 60 Sekunden wurde automatisch ein Futterpellet in die Pelletbox gegeben, unabhängig von der Betätigung einer der beiden Hebel, die nun installiert waren (Abbildung 24).

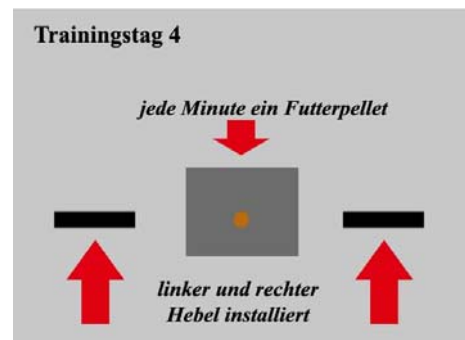


Abbildung 24: Training (Tag 4)

Während Tag 3 und 4 werden dem Tier in der Skinner-Box die Futterpellets präsentiert, mit denen es später belohnt wurde. Nach jedem Versuchsdurchgang wurde die Box sorgfältig mit 70%igem Alkohol und frischem Papier gereinigt, um die olfaktorische Beeinflussung der nachfolgenden Testtiere so gering wie möglich zu halten.

*Tag 5:* Die Tiere lernen, dass die Betätigung eines Hebels belohnt wird

Wiegen der Tiere. Danach folgte die 30minütige Gewöhnung an den Experimentalraum und anschließend 30 Minuten in der Skinner-Box. Die Tiere erhielten ein Pellet bei Betätigung des linken Hebels (Abbildung 25).

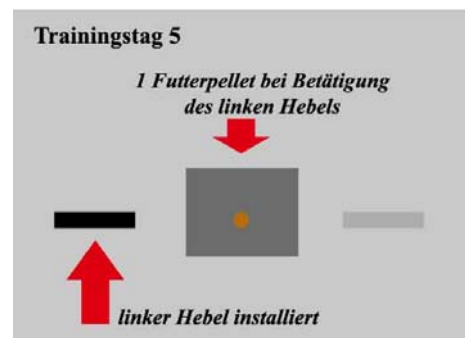


Abbildung 25: Training (Tag 5)

Tag 6: Die Tiere lernen, dass die Betätigung eines Hebels belohnt wird

Wiegen der Tiere. Danach folgte die 30minütige Gewöhnung an den Experimentalraum und anschließend 30 Minuten in der Skinner-Box. Die Tiere erhielten ein Pellet bei Betätigung des rechten Hebels (Abbildung 26).

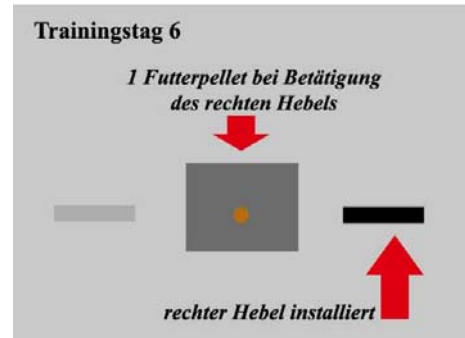


Abbildung 26: Training (Tag 6)

An den folgenden Tagen wurden die Vorgaben von Tag 5 und 6 im Wechsel durchgeführt, bis das Tier den Hebel mindestens 50 Mal in weniger als 20 Minuten betätigte. Nach Erreichen dieses Kriteriums wurde mit der *Fixed consecutive number*(FCN)-Trainingsprozedur begonnen.

*Trainingsphase 2 (Fixed-consecutive number (FCN)-Training: Erlernen, dass die Betätigung beider Hebel in einer festgelegten Abfolge belohnt wird*

Tag 1: FCN-1: Wiegen der Tiere. Danach folgte die 30minütige Gewöhnung an den Experimentalraum und anschließend die ersten 45 Minuten in der Skinner-Box. Die Tiere erhielten ein Pellet nach Pressen des linken (auch als FCN-Hebel bezeichnet) gefolgt vom rechten (auch als Belohnungshebel bezeichnet) Hebel. Das Kriterium lag bei 45 Pellets in 45 Minuten (Abbildung 27).

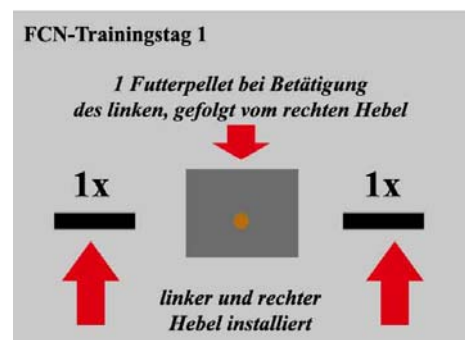


Abbildung 27: FCN-Training (FCN-1)

Nach dem erfolgreichen Erreichen des Kriteriums an zwei aufeinander folgenden Tagen:

FCN-3: Wiegen der Tiere. Danach folgte die 30minütige Gewöhnung an den Experimentalraum und anschließend 45 Minuten in der Skinner-Box. Die Tiere erhielten ein Pellet nach dem dreimaligen Pressen des linken Hebels gefolgt vom rechten Hebel. Das Kriterium lag bei 45 Pellets in 45 Minuten (Abbildung 28).

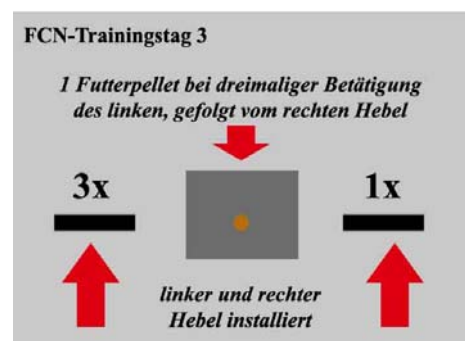


Abbildung 28: Training (FCN-3)

Nach dem erfolgreichen Erreichen des Kriteriums an zwei aufeinander folgenden Tagen:

FCN-5: Wiegen der Tiere. Danach folgte die 30minütige Gewöhnung an den Experimentalraum und anschließend 45 Minuten in der Skinner-Box. Die Tiere erhielten ein Pellet nach dem fünfmaligen Pressen des linken Hebels (FCN-Hebel) gefolgt vom rechten Hebel (Belohnungshebel). Das Kriterium lag bei 45 Pellets in 45 Minuten (Abbildung 29).

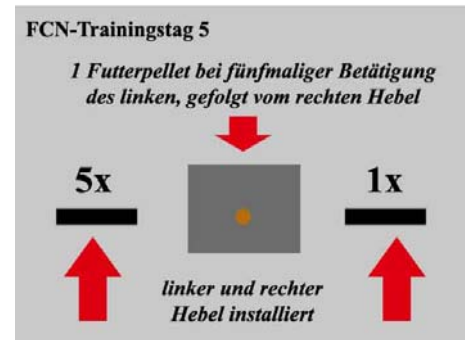
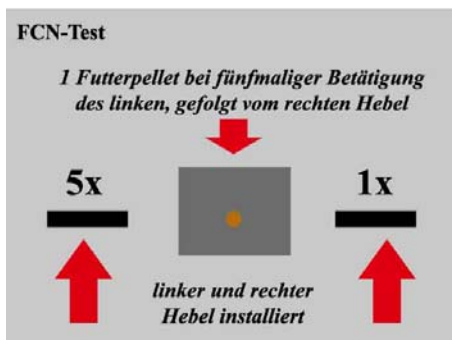


Abbildung 29: Training (FCN-5)

Nach dem erfolgreichen Erreichen des FCN5-Kriteriums an zwei aufeinander folgenden Tagen erfolgte der Test auf Impulsivität.

*Testphase: Test der Impulskontrolle*



An fünf aufeinanderfolgenden Tagen werden die Tiere getestet. Dazu wurde das Protokoll des FCN5 angewandt (Abbildung 30).

Abbildung 30: Skinner-Box-FCN-Test (FCN-5)

**Im Anschluß an den FCN-Test wurden folgende Parameter zur Erfassung des Lernverhaltens bestimmt:**

<i>Parameter</i>	<i>Analyse (kumulative Werte)</i>
<i>Training-rechter Hebel</i>	→ Wie viele Tage benötigt das Tier, um den rechten Hebel mindestens 50 Mal in weniger als 20 Minuten zu betätigen, um eine Belohnung zu erhalten?
<i>Training-linker Hebel</i>	→ Wie viele Tage benötigt das Tier, um den linken Hebel mindestens 50 Mal in weniger als 20 Minuten zu betätigen, um eine Belohnung zu erhalten?
<i>FCN-1</i>	→ Wie viele Tage benötigt das Tier, um zunächst den linken und danach den rechten Hebel mindestens 45 Mal in 45 Minuten zu betätigen, um eine Belohnung zu erhalten?
<i>FCN-3</i>	→ Wie viele Tage benötigt das Tier, um zuerst 3x den linken und dann 1x rechten Hebel mindestens 45 Mal in 45 Minuten zu

<i>FCN-5</i>	betätigen, um eine Belohnung zu erhalten? → Wie viele Tage benötigt das Tier, um zuerst 5x den linken und dann 1x rechten Hebel mindestens 45 Mal in 45 Minuten zu betätigen, um eine Belohnung zu erhalten?
--------------	---

Tabelle 8: Analysierte Parameter zum Lernverhalten in der Skinner-Box

**Statistische Analyse:**

Um Interaktionen zwischen den Versuchsgruppen (biparental, vaterdepriviert), den Trainingskriterien (rechter Hebel, linker Hebel, FCN-1, FCN-3, FCN-5) und dem Geschlecht der Tiere (weiblich, männlich) zu analysieren, wurde eine 3-Wege-Varianzanalyse (ANOVA) angewandt (Sigmastat 2.0, Jandel Scientific, San Rafael, USA). Der ANOVA folgte der Tukey-Test für multiple Vergleiche. Die N-Zahl entsprach der Zahl der Tiere pro Gruppe (Tabelle 10). Als Signifikanzniveau wurde  $p < 0,05$  gewählt.

***Verhaltensexperiment: Analyse impulsiven Verhaltens im Erwachsenenalter***

Fragestellung: Sind Unterschiede zwischen erwachsenen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren (PND 90) in der Impulskontrolle beobachtbar? Untersuchung der Langzeitfolgen der sozio-emotionalen Teildeprivation.

**Im Anschluß an den FCN-Test wurden folgende Parameter zur Erfassung impulsiven Verhaltens bestimmt (nach Evenden, 1998):**

<i>Parameter</i>	<i>Definition und Analyse</i>
<i>Response efficiency</i> (FCN-Hebel /Pellets)	→ Die Zahl der Reaktionen, d.h. die FCN-Hebel-Betätigung geteilt durch die Zahl der erhaltenen Pellets. Entspricht der durchschnittlichen Zahl der Hebel-Betätigungen, die notwendig sind, um eine Belohnung zu erhalten (Minimum=optimal). Der optimale Wert liegt bei fünf, ein Anstieg deutet auf eine Verringerung der Effizienz hin (nach Evenden, 1998).
<i>Chain efficiency</i> (Belohnungshebel/Pellets)	→ Die Zahl der Reaktionen auf den Belohnungshebel geteilt durch die Zahl der Pellets. Dies zeigt, welches Kettenverhältnis zu einer Belohnung führt. Das Minimum ist optimal und liegt bei einem Wert von eins. Ein Anstieg der Wertes deutet auf eine Verringerung der Effizienz hin (nach Evenden, 1998).
<i>Klappe pro Minute</i> (Klappe/min)	→ Die Zahl der Betätigungen der Klappe pro Minute. Eine Erhöhung des Wertes spricht (vermutlich) für vorschnelle Reaktionen. Dieser Parameter wird in der Literatur nicht erläutert, entspricht aber der Definition impulsiver Verhaltensweisen (vorschnelle

Entscheidungsfindung, Intoleranz gegenüber einer Belohnungsverzögerung und der Tendenz Reaktionsfolgen vorzeitig zu beenden; Evenden (1999)) und wurde aus diesem Grund in die Analyse aufgenommen.
---

Tabelle 9: Analysierte Parameter nach dem FCN-Test (Skinner-Box)

**Statistische Analyse:**

Um Interaktionen zwischen den Versuchsgruppen (biparental, vaterdepriviert), den Testtag (erster bis fünfter Testtag) und dem Geschlecht der Tiere (weiblich, männlich) zu analysieren, wurde eine 3-Wege-Varianzanalyse (ANOVA) angewandt (Sigmastat 2.0, Jandel Scientific, San Rafael, USA). Der ANOVA folgte der Tukey-Test für multiple Vergleiche. Die N-Zahl entsprach der Zahl der Tiere pro Gruppe (Tabelle 10). Als Signifikanzniveau wurde  $p < 0,05$  gewählt.

N-Zahlen (Skinner-Box)			
<i>biparentale Gruppe</i>		<i>vaterdeprivierte Gruppe</i>	
männlich	weiblich	männlich	weiblich
N=8	N=10	N=10	N=10

Tabelle 10: N-Zahlen (Skinner-Box)

**Anmerkung:** Aufgrund der Erblindung einiger Tiere entfallen einige Tiere aus der statistischen Analyse.

**3.3 Neuroanatomische Analysen**

Verhaltensweisen werden mit der neuronalen Aktivität in bestimmten Regionen des Zentralnervensystems in Verbindung gebracht (Abschnitt 2.1). Der orbitofrontale Cortex ist unter anderem an der Fehlerabschätzung und Fehlerkorrektur, der Abschätzung von Konsequenzen und des Risikos sozialen, sowie impulsiven Verhaltens beteiligt (Abschnitt 2.3). Der basolaterale Kernkomplex, sowie der zentrale Kern der Amygdala besitzen eine bedeutende Funktion vor allem im Hinblick auf Angstverhalten, wohingegen der Hippocampus zu den wichtigsten Hirnstrukturen für Lernprozesse bzw. die Bildung von Gedächtnisinhalten zählt (Abschnitt 2.3).

In Anlehnung an die Arbeitshypothese dieser Dissertation sollte mit Hilfe der folgenden Methoden überprüft werden, ob funktionelle Neuronenpopulationen und katecholaminerger Fasersysteme in diesen Hirnregionen verändert sind.

**3.3.1 Golgi-Imprägnierung - Analyse des exzitatorischen Inputs auf Pyramidenzellen**

Zur quantitativen 3D-Analyse von exzitatorischen Projektionsneuronen im orbitofrontalen Cortex, der Amygdala, und dem Hippocampus wurde die Dichte exzitatorischer Spinesynapsen, die Spinezahl pro Dendrit, die dendritischen Längen des kompletten Apikal- und eines Basaledendriten und die Zahl dendritischer Verzweigungen erfasst. Zu diesem Zweck wurden die Hirne der biparental und der ohne Vater aufgewachsenen männlichen Tiere am PND 21 und PND 90 entnommen und zur weiteren histologischen Untersuchung auf lichtmikroskopischer Ebene mithilfe

der Golgi-Imprägnierungsmethode histologisch aufgearbeitet (siehe unten) und dreidimensional quantitativ analysiert (Auswertesystem: Neurolucida, MicroBrightfield, Vermont, USA).

**Es wurden folgende Familien den Untersuchungsgruppen zugeordnet:**

<i>Biparentale Kontrollgruppe</i>			<i>Vaterdeprivierte Gruppe</i>		
Familie	Wurfdatum	Wurfgröße / Geschlechterverteilung (♂/♀)	Familie	Wurfdatum	Wurfgröße / Geschlechterverteilung (♂/♀)
V 38	16.07.2000	→ verwendete Tiere: 1♂ Tier Hirngewicht (g) Körpergewicht (g) 1 1,45 45,3	V 35	12.01.2001	→ verwendete Tiere: 1♂ Tier Hirngewicht (g) Körpergewicht (g) 1 1,6 59,0
V 19	09.01.2001	→ verwendete Tiere: 1♂ Tier Hirngewicht (g) Körpergewicht (g) 1 1,6 53,0	V 35	12.01.2001	→ verwendete Tiere: 1♂ Tier Hirngewicht (g) Körpergewicht (g) 1 1,5 53,0
V 26	10.01.2001	→ verwendete Tiere: 1♂ Tier Hirngewicht (g) Körpergewicht (g) 1 1,4 36,0	V 30	27.03.2001	→ verwendete Tiere: 1♂ Tier Hirngewicht (g) Körpergewicht (g) 1 1,6 50,6
V 26	10.01.2001	→ verwendete Tiere: 1♂ Tier Hirngewicht (g) Körpergewicht (g) 1 1,5 44,0	V 30	27.03.2001	→ verwendete Tiere: 1♂ Tier Hirngewicht (g) Körpergewicht (g) 1 1,5 49,0

Tabelle 11: Untersuchungsgruppen - Golgi PND 21

<i>Biparentale Kontrollgruppe</i>			<i>Vaterdeprivierte Gruppe</i>		
Familie	Wurfdatum	Wurfgröße / Geschlechterverteilung (♂/♀)	Familie	Wurfdatum	Wurfgröße / Geschlechterverteilung (♂/♀)
V 9/03	08.09.2004	(6/0) → verwendete Tiere: 3♂ Tier Hirngewicht (g) Körpergewicht (g) 1 2,2 180,0 2 1,9 173,8	V 12/03	08.09.2004	(4/3) → verwendete Tiere: 2♂ Tier Hirngewicht (g) Körpergewicht (g) 1 2,4 168,8 2 2,2 187,0
V 14/04	13.10.2004	(4/2) → verwendete Tiere: 2♂ Tier Hirngewicht (g) Körpergewicht (g) 1 1,9 -- 2 2,1 --	V 27/04	12.02.2005	(5/3) → verwendete Tiere: 3♂ Tier Hirngewicht (g) Körpergewicht (g) 1 2,0 -- 2 2,2 --
V 6/04		(5/4) → verwendete Tiere: 2♂ Tier Hirngewicht (g) Körpergewicht (g) 1 2,1 --	V 12/04	04.07.2005	(3/2) → verwendete Tiere: 3♂ Tier Hirngewicht (g) Körpergewicht (g) 1 1,82 --

Tabelle 12: Untersuchungsgruppen - Golgi PND 90

**Die Analyse umfasste folgende Regionen:**

Ausgewertet wurden sowohl Zellen des lateralen Kerns des basolateralen Kernkomplexes der Amygdala (Abbildung 31), sowie des eng assoziierten orbitofrontalen Cortex (OFC) (Abbildung 32). Die Analyse des OFC, wie auch des Hippocampus am PND 21 entfällt, da diese bereits im Vorfeld dieser Dissertation *nicht* durch meine eigene Person durchgeführt wurden. Die Analyse hippocampaler Zellen im Erwachsenenalter wird sich an diese Dissertation anschließen.

*PND 21 - Analyse der lateralen Amygdala:*

*PND 90 - Analyse der lateralen Amygdala  
(siehe dazu Abbildung 31) und des OFC:*

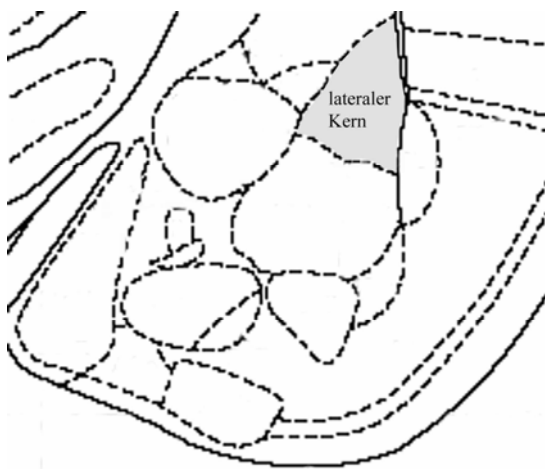


Abbildung 31: Lateraler Kern der Amygdala

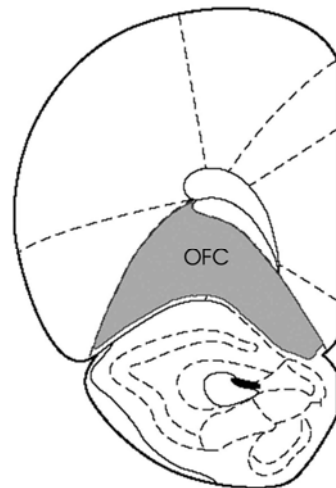


Abbildung 32: OFC

**Legende:** Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.

**Die Golgi-Imprägnierung wurde nach folgendem Protokoll durchgeführt:**

Bestimmung des Körpergewichts und Dekapitieren der Tiere, Herauspräparieren des Hirns und Bestimmung des Hirngewichts (siehe Tabelle 11 und Tabelle 12). Das entnommene Hirn wurde anschließend in die Golgi-Lösung (Protokoll siehe Anhang) überführt (50 ml pro Hirn in einer Glas- oder Plastikflasche, die zum Schutz vor Lichteinwirkung mit Aluminiumfolie ummantelt wird), in der es für 14 Tage verblieb..

*Nach 14 Tagen in der Golgi-Lösung erfolgt die Einbettung in Celloidin:*

Das Hirn wurde dazu in ein kleines Glasschälchen gelegt und nach folgendem Protokoll behandelt:

1. Waschen in Aqua destillata (Aqua dest.): 3 x 2 min
2. Langsame Dehydrierung im Kühlschrank:
 

50% Ethanol	4 Stunden
70% Ethanol	über Nacht
80% Ethanol	über Nacht
96% Ethanol	über Nacht
96% Ethanol	über Nacht

3. Einbettung der Hirne in Cellodin in Dunkelheit und bei Zimmertemperatur:

100% Ethanol-Diethylether (1:1)	2 Stunden
2% Celloidin	3 Tage
4% Celloidin	3 Tage
8% Celloidin	3 Tage

Lösen des Celloidins in Ethanol-Diethylether (1:1): 2%=2g pro 100 ml Ethanol-Diethylether (1:1). Das Hirn musste gut mit Cellodin bedeckt sein.

- Ausrichten des Hirns in 8-10%igem Celloidin in einem Destillationsglas und Lagerung über Nacht im geöffneten Desiccator.
- Schließen des Desiccators: auf dem Boden des Desiccators wurde eine kleine Glasschale mit Phosphorpentoxid platziert (Fluka Chemie AG, Schweiz), um das Celloidin zu trocknen/reduzieren. Wenn das Cellodin zur Hälfte reduziert war, wurde das Phosphorpentoxid entfernt und durch ein Glasschälchen mit Chloroform ersetzt, um die Polymerisierung des Celloidins zu induzieren (Dauer: 1-2 Tage).
- Der verfestigte Celloidinblock wurde nun in der Form und Orientierung zugeschnitten, wie er später für die Herstellung der Hirnschnitte benötigt wird. Diese angefertigten Blöcke wurden in 70% Ethanol bei 8-10 °C im Kühlschrank aufbewahrt, bevor das Schneiden begonnen wurde.

*Herstellung der Schnitte:*

- Aufkleben (Roticoll, Carl-Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland) des Cellodinblocks auf ein Holzklötzchen.
- Zur Markierung der Hemisphären wurde eine mit einem Einschnitt im Celloidin versehen.
- Befestigung am Mikrotom (Model HM400, Microm, Heidelberg).
- Schneiden von 150 µm dicken Hirnschnitten (Frontalschnitte), wobei während des Schneidens das Messer und das Hirn mit Ethanol (70%) bestrichen wurde, um das Anhaften des Gewebes am Messer zu vermeiden.
- Die Schnitte blieben bis zur Imprägnierung in 70%igem Alkohol in Gewebekulturplatten (Greiner, Frickenhausen, Deutschland) im Kühlschrank.

*Imprägnation der Hirnschnitte:*

- |   |             |
|---|-------------|
| 1. Waschen in Aqua dest.  | 2 x 5 min   |
| 2. Reduktion in einer Lösung aus NH <sub>3</sub> : H <sub>2</sub> O (1:1) | 40 – 50 min |

Während des dieses Arbeitsschritts musste die Wellplatte zum Schutz vor Lichteinwirkung mit Aluminiumfolie abgedeckt werden.

- |  |           |
|--|-----------|
| 3. 0,5% Phenylendiamin in Aqua dest. I)        | 1 min     |
| 0,5% Phenylendiamin in Aqua dest. II)          | 4 min     |
| 4. Waschen in Aqua dest.                       | 2 x 2 min |
| 5. 1% Dektol (Entwickler, Kodak) in Aqua dest. | 2 min     |
| 6. Waschen in Aqua dest.                       | 2 x 1 min |



7. 5% Tetenal (Fixativ, Kodak)	5 min
8. Waschen in Aqua dest.	3 x 5 min
9. Dehydrierung der Schnitte:	
50% Ethanol	3 min
70% Ethanol	3 min
80% Ethanol	3 min
96% Ethanol	3 min
Isopropanol (Optal)	1 x 5 min
Xylol	3 x 5 min

Die entwickelten Schnitte wurden abschließend zwischen zwei Deckgläschen (ca. 6 cm lang) platziert. Als Eindeckmedium wurde Merckoglas (Merck, Deutschland) benutzt. Um überschüssiges Eindeckmedium zu entfernen (würde späteres Fokussieren erschweren), wurden die Deckgläschen mit Gewichten bestückt, bis das Eindeckmedium hart und trocken war (bspw. bis zum folgenden Tag). Danach konnte mit der dreidimensionalen lichtmikroskopischen Analyse begonnen werden (NeuroLucida, MicroBrightfield, Vermont, USA) (vgl. dazu auch Helmeke, 2003, Dissertationschrift).

**Im Anschluß wurden folgende Parameter analysiert:**

Pro Tier, deren Analyse ohne Kenntnis der Gruppenzugehörigkeit erfolgte, wurden insgesamt drei repräsentative pyramidale Zellen (kegelförmiges Soma, von deren Spitze ein Hauptdendrit entspringt und sich in zwei große Seitendendriten verzweigt, vollständige Ausbildung des Apikal- und eines Basaldendriten) je Hemisphäre ausgewählt (Abbildung 33).

<i>Parameter</i>	<i>Erfassung und Analyse</i>
<i>Apikaldendrit (komplett)</i>	→ absolute Länge, absolute Spinezahl, Spinedichte, Zahl der Verzweigungen (Nodes)
<i>Basaldendrit (komplett)</i>	→ absolute Länge, absolute Spinezahl, Spinedichte, Zahl der Verzweigungen (Nodes)

Abbildung 33: Parameter zur Analyse der Golgi-impregnierten Neurone

Tabelle 13: Analyierte Parameter der Golgi-Neurone

**Statistische Analyse:**

Um Interaktionen zwischen den Faktoren Aufzuchtbedingung (biparental, vaterdepriviert) und Hemisphäre (rechts, links) zu analysieren wurde eine 2-Wege-Varianzanalyse (ANOVA) angewandt (Sigmastat 2.0, Jandel Scientific, San Rafael, USA). Der ANOVA folgte der Tukey-Test für multiple Vergleiche. Die N-Zahl entsprach der Zahl der Tiere pro Gruppe (PND 21= 4 Tiere, PND 90= 5 Tiere). Als Signifikanzniveau wurde  $p < 0,05$  gewählt.

**3.3.2 Immunhistochemische Analyse inhibitorischer und modulatorischer Neuronenpopulationen**

Zur quantitativen Analyse GABAerger Neurone, CRF-exprimierender Zellen, sowie TH-immunreaktiver Fasern des orbitofrontalen Cortex, der Amygdala und des Hippocampus wurde die Dichte immunopositiver Zellen bzw. Fasern bestimmt. Zu diesem Zweck wurden Serienschnitte der Hirne biparental und ohne Vater aufgewachsener männlicher Degus am PND 21 und PND 90 hergestellt und zur weiteren histologischen Untersuchung auf lichtmikroskopischer Ebene mithilfe immunhistochemischer Methoden aufbereitet, durch das Bildverarbeitungssystem NIH-Image (Scion-Corporation, USA) eingescannt und anschließend quantitativ analysiert (siehe unten).

**Es wurden folgende Familien den Untersuchungsgruppen zugeordnet:**

<i>Biparentale Kontrollgruppe</i>			<i>Vaterdeprivierte Gruppe</i>		
Familie	Wurfdatum	Wurfgröße / Geschlechterverteilung (♂/♀)	Familie	Wurfdatum	Wurfgröße / Geschlechterverteilung (♂/♀)
V 17/02	24.07.2004	(1/2) → verwendete Tiere: 1♂	V 27/03	12.04.2005	(2/5) → verwendete Tiere: 2♂
		Tier    Hirn-    Körper- gewicht    gewicht (g)        (g)			Tier    Hirn-    Körper- gewicht    gewicht (g)        (g)
		1        1,3        59,4			1        1,1        50,8
V 8/04	14.09.2004	(5/3) → verwendete Tiere: 2♂	V 24/04	09.05.2005	(2/3) → verwendete Tiere: 2♂
		Tier    Hirn-    Körper- gewicht    gewicht (g)        (g)			Tier    Hirn-    Körper- gewicht    gewicht (g)        (g)
		1        1,2        36,5			1        1,3        47,5
		2        1,2        38,2			2        1,3        43,3
V 35/04	10.01.2005	(2/1) → verwendete Tiere: 2♂	V 30/04	31.05.2005	(2/2) → verwendete Tiere: ♂
		Tier    Hirn-    Körper- gewicht    gewicht (g)        (g)			Tier    Hirn-    Körper- gewicht    gewicht (g)        (g)
		1        1,2        50,4			1        1,2        57,9
		2        1,1        50,2			2        1,2        53,0
V 34/03	18.02.2005	(3/2) → verwendete Tiere: 2♂			

Tier	Hirngewicht (g)	Körpergewicht (g)
1	1,1	32,7
2	1,2	41,2

Tabelle 14: Untersuchungsgruppen - Immunhistochemie PND 21

<i>Biparentale Kontrollgruppe</i>			<i>Vaterdeprivierte Gruppe</i>		
Familie	Wurfdatum	Wurfgröße / Geschlechterverteilung (♂/♀)	Familie	Wurfdatum	Wurfgröße / Geschlechterverteilung (♂/♀)
V 18/03	27.05.2004	(2/1) → verwendete Tiere: 2♂	V 12/03	08.09.2004	(4/3) → verwendete Tiere: ♂
		Tier      Hirngewicht (g)      Körpergewicht (g)			Tier      Hirngewicht (g)      Körpergewicht (g)
		1          1,5                  173,5			1          1,8                  167,9
		2          1,4                  170,6			2          1,8                  177,2
V 26/03	19.07.2004	(2/1) → verwendete Tiere: 2♂	V21/04	04.02.2005	(4/2) → verwendete Tiere: 2♂
		Tier      Hirngewicht (g)      Körpergewicht (g)			Tier      Hirngewicht (g)      Körpergewicht (g)
		1          1,7                  178,5			1          1,7                  176,7
		2          1,5                  165,6			2          1,5                  164,9
V 9/03	08.09.2004	(6/0) → verwendete Tiere: 2♂	V27/04	12.02.2005	(5/3) → verwendete Tiere: 2♂
		Tier      Hirngewicht (g)      Körpergewicht (g)			Tier      Hirngewicht (g)      Körpergewicht (g)
		1          1,4                  166,6			1          1,8                  148,1
		2          1,7                  159,6			2          1,7                  144,8
V 14/04	19.7.2004	(4/2) → verwendete Tiere: 2♂			
		Tier      Hirngewicht (g)      Körpergewicht (g)			
		1          1,6                  185,6			
		2          1,5                  176,5			

Tabelle 15: Untersuchungsgruppen - Immunhistochemie PND 90

**Es wurden folgende Regionen analysiert:**

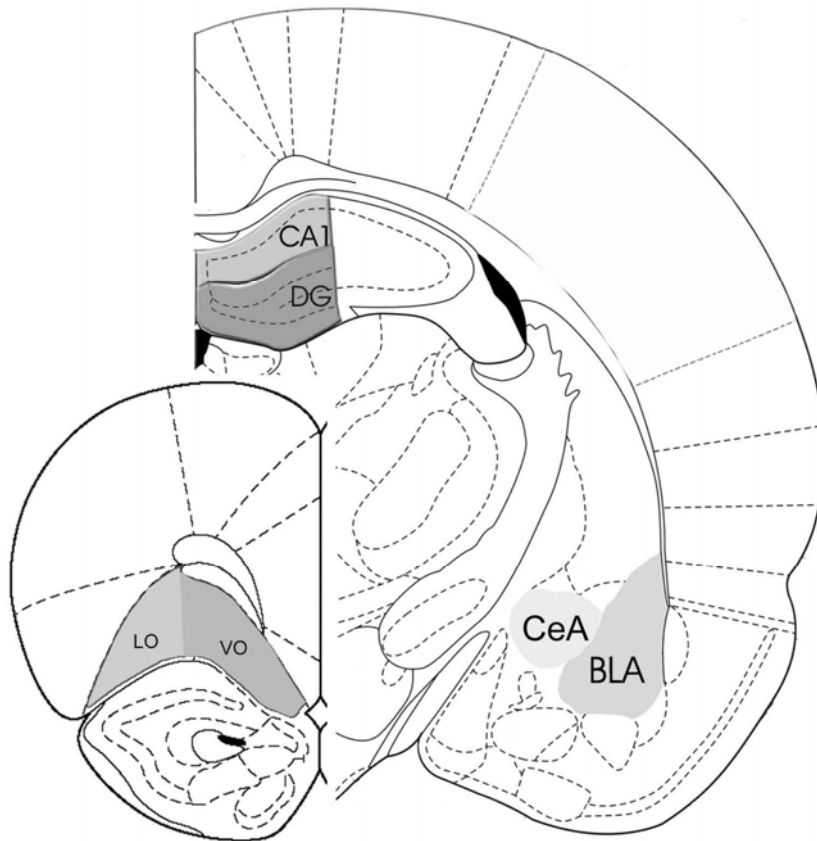


Abbildung 34: Immunhistochemisch analysierte Regionen

**Legende:** Es wurden der laterale und ventromediale orbitofrontale Cortex, der basolaterale Kernkomplex und der zentrale Kern der Amygdala, wie auch die CA1-Region und der Gyrus dentatus des Hippocampus immunhistochemisch aufbereitet und analysiert.

**Abkürzungen:** BLA, basolateraler Kernkomplex der Amygdala; CA1, CA1-Region des Hippocampus; CeA, zentraler Kern der Amygdala; DG, Gyrus dentatus; LO, lateraler orbitofrontaler Cortex; VO, ventromedialer orbitofrontaler Cortex.

Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.

**Die immunhistochemische Färbung wurde nach folgendem Protokoll durchgeführt:**

*Anästhesie der Tiere:*

- Entnahme der Tiere beider Gruppen aus dem Familienverband am PND 21 bzw. 90.
- Anästhesie der Tiere (vor dem Transport in das Labor) zur anschließenden Perfusion mit Ketanest/Rompun (1:4, 7ml/kg, intraperitoneal) (Ketanest: Porke-Davis, Berlin, Deutschland; Rompun: Bayer, Leverkusen, Deutschland).
- Öffnung des Brustkorbes und Einführung der mit einer peristaltischen Pumpe verbundenen Kanüle in den unteren Bereich der linken Herzkammer.
- Transkardiale Spülung mit mindestens 50 ml Tyrodepuffer (Protokoll siehe Anhang) der zusätzlich 1% Liquemin (Roche, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) als Antikoagulans zugesetzt wurde.

*Perfusion und Fixation (Wechselfixierung):*

- Zufuhr von 150 ml des ersten Fixativs (Lösung aus 4% Paraformaldehyd (PFA) in 0,1 M Natriumacetat-Puffer, pH=6,5; Protokoll siehe Anhang) und anschließend 300 bis 400 ml des zweiten Fixativs (Lösung aus 4% PFA in 0,1 M Natriumborat-Puffer, pH=9,3; Protokoll siehe Anhang).
- Nach Durchspülung der Tiere mit beiden Fixationslösungen erfolgte die Entnahme der Hirne.
- Bestimmung des Hirngewichts und Nachfixierung im zweiten Fixativ für mindestens 60 Minuten bei 4° C.
- Überführung des Hirns in 0,1 M phosphatgepufferte Saline (PBS, pH=7,4; Protokoll siehe Anhang).
- Herstellung der alternierenden Schnittserien (Schnittdicke 50 µm) mit Hilfe eines Vibratoms (Leica Instruments GmbH, Nußloch, Deutschland).
- Auffangen der einzelnen Schnitte in mit PBS gefüllten 24-Loch-Gewebekulturplatten (Greiner, Frickenhausen, Deutschland).

*Immunhistochemische, Nickel-verstärkte 3'-diaminobenzidin-Hydrochlorid (DAB)-Färbung:*

- Dreimaliges Waschen der Schnitte in 0,1 M PBS (pH=7,4).
- Behandlung der Schnitte zur Markierung TH-immunpositiver Fasern mit 1% Borhydrid in PBS zur Unterdrückung der Decarboxylaseaktivität (von Euler, 1971).
- Wiederholtes Waschen der Schnitte mit PBS, bis diese blasenfrei waren.
- 45minütige Inkubation aller Schnitte in 10% Methanol und 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in PBS zur Unterdrückung der endogenen Peroxidaseaktivität.
- Wiederholtes Waschen der Schnitte mit PBS, bis diese blasenfrei waren.
- *Vorinkubation:* Schnitte wurden für 60 Minuten einer Lösung aus 2% Ziege-Normal-Serum (ZNS, DAKO, Hamburg, Deutschland; zur Absättigung unspezifischer Bindungsstellen im Gewebe) und 0,3% Triton-X-100 (Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland; bewirkt eine Perforierung der Zellmembranen und ermöglicht es so, den Antikörpern tiefer in das Gewebe einzudringen) in PBS zugeführt.
- *Inkubation mit dem primären Antikörper:* außer einem ausgewählten Kontrollschnitt pro verwendeten Antikörper wurde den Hirnschnitten eine Lösung aus 1% ZNS, 0,05% Triton-X-100 und entweder (1) Maus-anti-Parvalbumin (1:2500; Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland), (2) Maus-anti-Calbindin-D28k (1:5000; SWANT, Schweiz), (3) Kaninchen-anti-CRF (1:8000; Peninsula Laboratories, Inc., USA) oder Maus-anti-TH (1:3000; Amersham, Little Chalfont, U.K.) zugesetzt.
- Inkubation für 48 Stunden bei 4°C auf einem Schüttler.
- Dreimaliges Waschen der Schnitte in PBS.
- Zugabe der biotinylierten Zweitantikörper in einer Verdünnung von 1:200 in einer Lösung aus 1% ZNS in PBS, zum einen Ziege-anti-Maus (ZAM) gegen Maus-anti-Parvalbumin, Maus-anti-

Calbindin-D28k, sowie Maus-anti-TH und zum anderen Ziege-anti-Kaninchen (ZAK) gegen Kaninchen-anti-CRF.

- Entfernung der sekundären Antikörper nach 120 Minuten durch zweimaliges Waschen in Phosphatpuffer (PB, pH=7,6; Protokoll siehe Anhang).
- Inkubation mit einem Streptavidin/Peroxidase-Komplex (1:200) (Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland) in PB für 120 Minuten.
- Zweimaliges Waschen der Schnitte in PB und in 50 mM Tris-HCl-Puffer (pH=7,6) (Protokoll siehe Anhang).
- Ansetzen der DAB-Reaktionslösung (Mengenangaben entsprechen einem Ansatz von 25 ml): Vorlösen in voneinander getrennten Gefäßen von 0,5 g Ammoniumnickelsulfat (Riedel-de Haen AG, Seelze, Deutschland) in Tris-HCl-Puffer und 0,0125 g DAB (3,3'-diaminobenzidin-Hydrochlorid) (Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland) in Tris-HCl-Puffer.
- Überführung beider Lösungen ineinander und zusetzen von 250 µl einer 1%igen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung (Sigma-Aldrich, Deisenhofen, Deutschland).
- Inkubation der Hirnschnitte mit dem Ansatz und Abstoppen der Reaktion bei optimaler Färbeintensität durch PB.
- Auftragen der Schnitte aus Leitungswasser auf beschichtete Objektträger und Trocknen über Nacht.
- Entwässerung durch eine aufsteigende Alkoholreihe (70%, 96%, Optal, Xylol).
- Dauerhafte Einbettung mit Histomount (Life Sciences International, Frankfurt, Deutschland).

**Quantifizierung GABAerger und CRF-haltiger Neurone, sowie CRF- (im CeA) und TH-immunreaktiver Fasern:**

Es erfolgte die Auswahl repräsentativer Hirnschnitte (siehe auch statistische Analyse). Anschließend wurden Bildstapel mittels eines rechnergekoppelten Olympus Mikroskops und dem Programm NIH-Image (Scion-Corporation, USA) (20x: DG, CA1, VO und LO bzw. 10x: BLA, CeA) erstellt.

**Im Anschluß wurden folgende Parameter analysiert:**

<i>Parameter</i>	<i>Erfassung und Analyse</i>
Zelldichte (Zellzahl pro Fläche)	→ Ermittlung der Gesamtfläche (in mm <sup>2</sup> ) der Schichten (Hippocampus) bzw. Regionen und manuelle Bestimmung der Zahl immunreaktiv markierter Zellen mit dem Programm NIH-Image.
Faserdichte (densitometrisch erfasste Faserfläche pro Gesamtfläche)	→ CRF-markierte Fasern im zentralen Kern der Amygdala und TH-immunreaktive Fasern wurde densitometrisch mit der Option <i>Density slice</i> des NIH-Image-Programms erfaßt (erlaubt die Analyse von Grauwertstufen nach einem vorher festgelegten Grauwertstufenintervall, wobei die Fläche immunmarkierter Fasern durch Angleichung minimaler und maximaler Grauwerte unter visueller Kontrolle bestimmt wird). Ermittlung des Dichtewertes als Quotient der markierten Fläche und der Gesamtfläche der Schicht/Region (Abbildung 35).

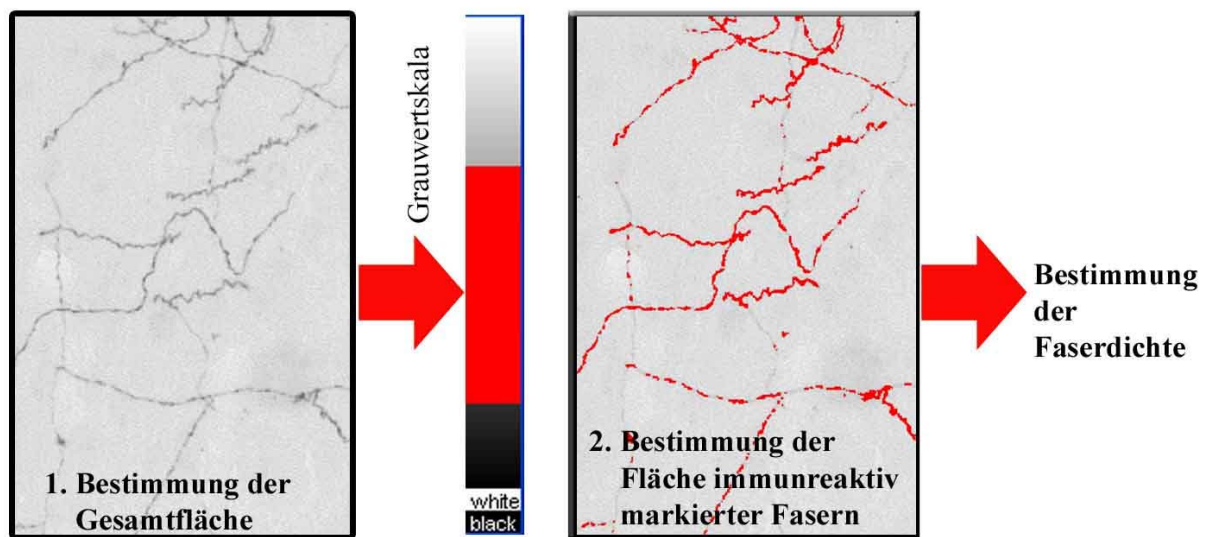


Abbildung 35: Densitometrische Analyse der Faserdichte

Tabelle 16: Analyierte Parameter der immunhistochemischen Analyse

**Statistische Analyse:**

Pro Tier wurden insgesamt fünf repräsentative Hirnschnitte ausgewählt, in denen sowohl für die linke als auch die rechte Hemisphäre die Zell- bzw. Faserdichte in der Hirnregion bestimmt wurde. Im Hippocampus erfolgte zudem eine schichten- (stratum moleculare, stratum granulosum, stratum lacunosum-moleculare & radiatum, stratum pyramidale, stratum oriens; im Fall noradrenerger Fasern des Hippocampus zusätzlich die sub-granuläre und sub-pyramidale Schicht) neben der regionsspezifischen Analyse (CA1, GD; nicht hippocampal: BLA, CeA, VO, LO). Um Interaktionen zwischen den Versuchsgruppen (biparental, vaterdepriviert), dem Alter der Tiere (PND 21, PND 90) und den beiden Hemisphären (rechts, links) zu analysieren, wurde eine 3-Wege-Varianzanalyse (ANOVA) mit den Faktoren Aufzuchtbedingungen, Alter und Hemisphäre angewandt (Sigmastat 2.0, Jandel Scientific, San Rafael, USA). Der ANOVA folgte der Tukey-Test für multiple Vergleiche. Die N-Zahl entsprach der Zahl der Tiere pro Gruppe (Tabelle 17). Als Signifikanzniveau wurde  $p < 0,05$  gewählt.

Marker	PND 21		PND 90	
	biparental	vaterdepriviert	biparental	vaterdepriviert
<b>DG</b>				
CaBP-D28k	N=7	N=6	N=6	N=6
PARV	N=7	N=6	N=6	N=6
CRF	N=5	N=6	N=6	N=6
TH	N=5	N=6	N=5	N=6
<b>CA1</b>				
CaBP-D28k	N=7	N=6	N=6	N=6
PARV	N=7	N=6	N=6	N=6
CRF	N=5	N=6	N=6	N=6
TH	N=5	N=6	N=5	N=6
<b>BLA</b>				
CaBP-D28k	N=7	N=6	N=6	N=6
PARV	N=7	N=6	N=6	N=6
CRF	N=7	N=6	N=5	N=6
TH	N=5	N=6	N=5	N=6
<b>CeA</b>				
CaBP-D28k	N=7	N=6	N=8	N=6
PARV	N=7	N=6	N=8	N=6
CRF	N=4	N=6	N=5	N=6
TH	N=5	N=6	N=5	N=6
<b>VO</b>				
CaBP-D28k	N=7	N=6	N=8	N=6
PARV	N=7	N=6	N=8	N=6
CRF	N=4	N=4	N=4	N=6
TH	N=5	N=6	N=4	N=6
<b>LO</b>				
CaBP-D28k	N=7	N=6	N=8	N=6
PARV	N=7	N=6	N=8	N=6
CRF	N=4	N=4	N=4	N=6
TH	N=5	N=6	N=4	N=6

Tabelle 17: N-Zahlen (Immunhistochemie)

**Anmerkung:** Aufgrund ungleichmäßiger Färbungen wurden einige Gehirne nicht mit in die Analyse aufgenommen, so dass diese in der entsprechenden Region entfallen.



### **3.3.3 *Hirn- und Körpergewichte***

#### **Statistische Analyse:**

Die statistische Analyse der Hirn- und Körpergewichte (Tiere der Golgi-Analyse und Immunhistochemie) zum Vergleich der beiden Untersuchungsgruppen wurde mit dem Programm Sigmastat 2.0 (Jandel Scientific, San Rafael, USA) anhand des Student's t-Tests realisiert. Die N-Zahl entsprach der Zahl der Tiere (Tabelle 17). Als Signifikanzniveau wurde  $p < 0,05$  gewählt.

## 4 Ergebnisse

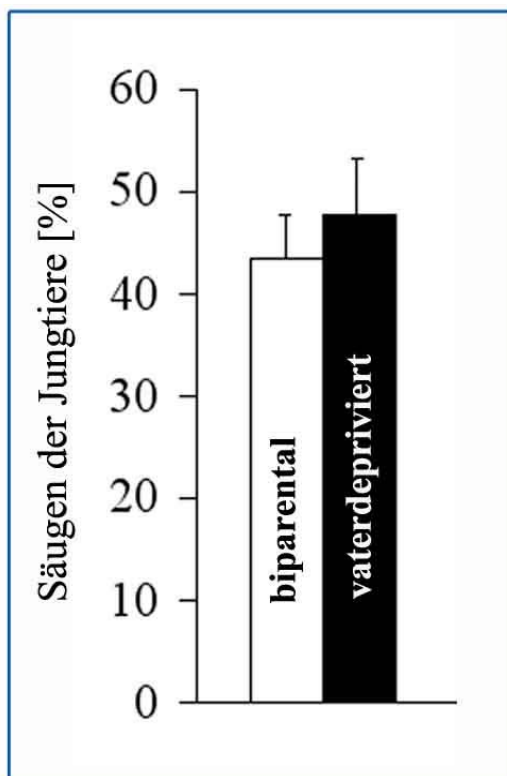
### 4.1 Soziales Verhalten im Familienverband

*Folgende Verhaltensweisen wurden analysiert:*

<i>Eltern-Jungtier-Interaktionen</i>	<i>Jungtier-Eltern-Interaktionen</i>	<i>Jungtier-Jungtier-Interaktionen</i>
<i>Putzen</i>	<i>Putzen</i>	<i>Putzen</i>
<i>Körperkontakt</i>	<i>Spielen</i>	<i>Spielen</i>
<i>Säugen</i>		<i>(Boxen, Ringen, Reiten)</i>

Tabelle 18: Parameter - soziales Verhalten im Familienverband

**Eltern-Jungtier-Interaktionen - Vergleich des Brutpflegeverhaltens zwischen Mutter- und Vattertier:** In der Verhaltensanalyse im Familienverband konnte beobachtet werden, dass *beide* Elternteile Brutpflegeverhalten zeigen (vor allem Putzen der Tiere, Kontakt zu den Jungtieren, Säugen der Jungen). Vater und Mutter pflegen die Jungtiere und haben engen physischen Kontakt zu ihren Nachkommen. In diesen Verhaltensweisen bestehen jedoch quantitative Unterschiede (siehe unten). Qualitativ lässt sich zudem beschreiben, dass das Brutpflegeverhalten der Mutter mit zunehmenden Alter der Jungtiere abnimmt, wohingegen das des Vaters zunimmt.



Der Vergleich der Elternteil-Jungtier-Interaktionen zeigte keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Dauer der Mutter-Jungtier-Interaktionen zwischen „allein erziehenden“ Müttern und Müttern, die ihre Jungtiere zusammen mit dem Vater aufziehen konnten. D.h., die Zeit, die „allein erziehende“ Mütter mit dem Säugen (Abbildung 36) und der Pflege (Abbildung 37) verbracht haben, unterschied sich nicht signifikant von Müttern aus biparentalen Familien (Tabelle 22).

Abbildung 36: Dauer des Säugens der Jungtiere

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler ( $p < 0.05$ ).

Das elterliche Pflegeverhalten (Mutter- und Vätertier) ist im Vergleich vaterdeprivierter zu biparentalen Familien signifikant verringert (Abbildung 37A; Tabelle 22), wobei Väter signifikant weniger Zeit mit der Pflege (Lecken/Putzen) ihrer Nachkommen im Vergleich zu den Müttern verbrachten (Abbildung 37B; Tabelle 22).

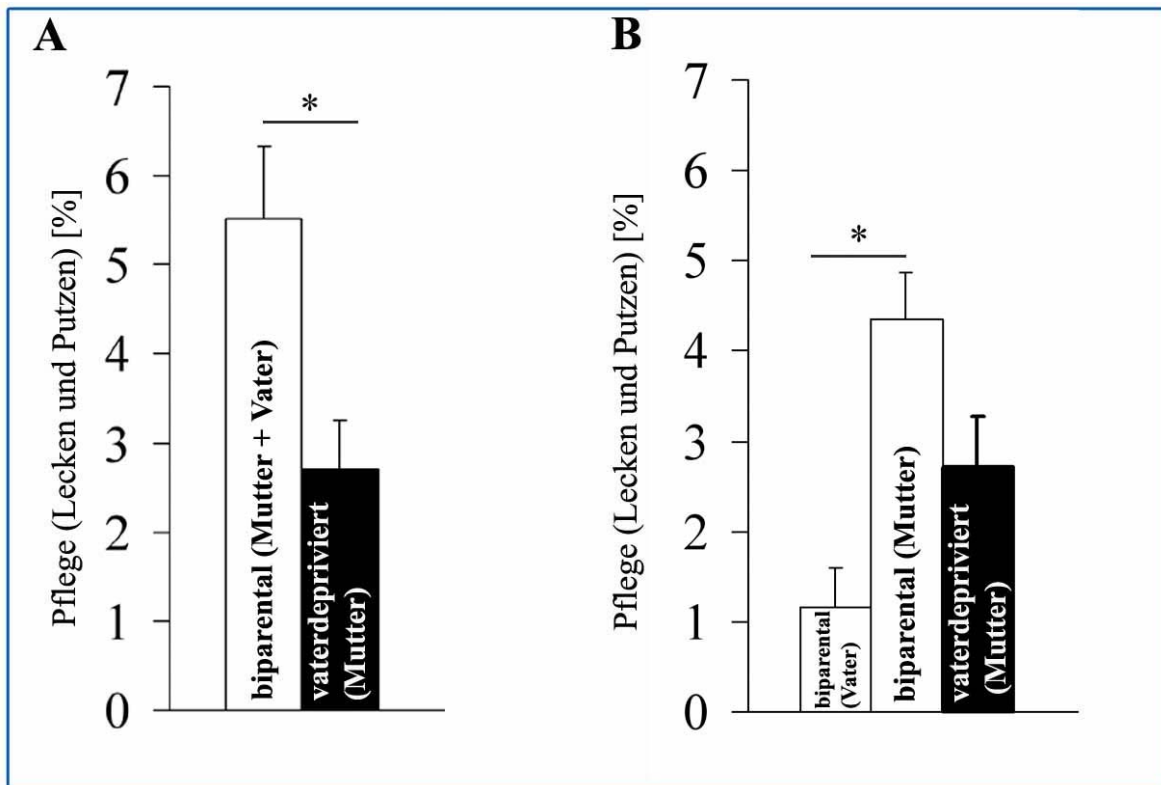


Abbildung 37: Dauer der Pflege der Jungtiere

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ).

Die statistische Analyse ergab zudem eine signifikant verringerte Dauer des Körperkontakts („Aneinanderschmiegen“) zwischen Familien mit „allein erziehenden“ Müttern und biparentalen Familien (Abbildung 38A), wobei die Zeit, die Väter Kontakt zu ihren Nachkommen hatten, signifikant höher war als die der Mutter (Abbildung 38B; Tabelle 22). „Allein erziehende“ Mütter kompensieren demzufolge nicht die Abwesenheit des Vaters und damit den Kontakt der Jungtiere zu ihren Eltern. Dementsprechend haben Jungtiere aus biparentalen Familien mehr sozialen Kontakt als Jungtiere „allein erziehender“ Mütter.

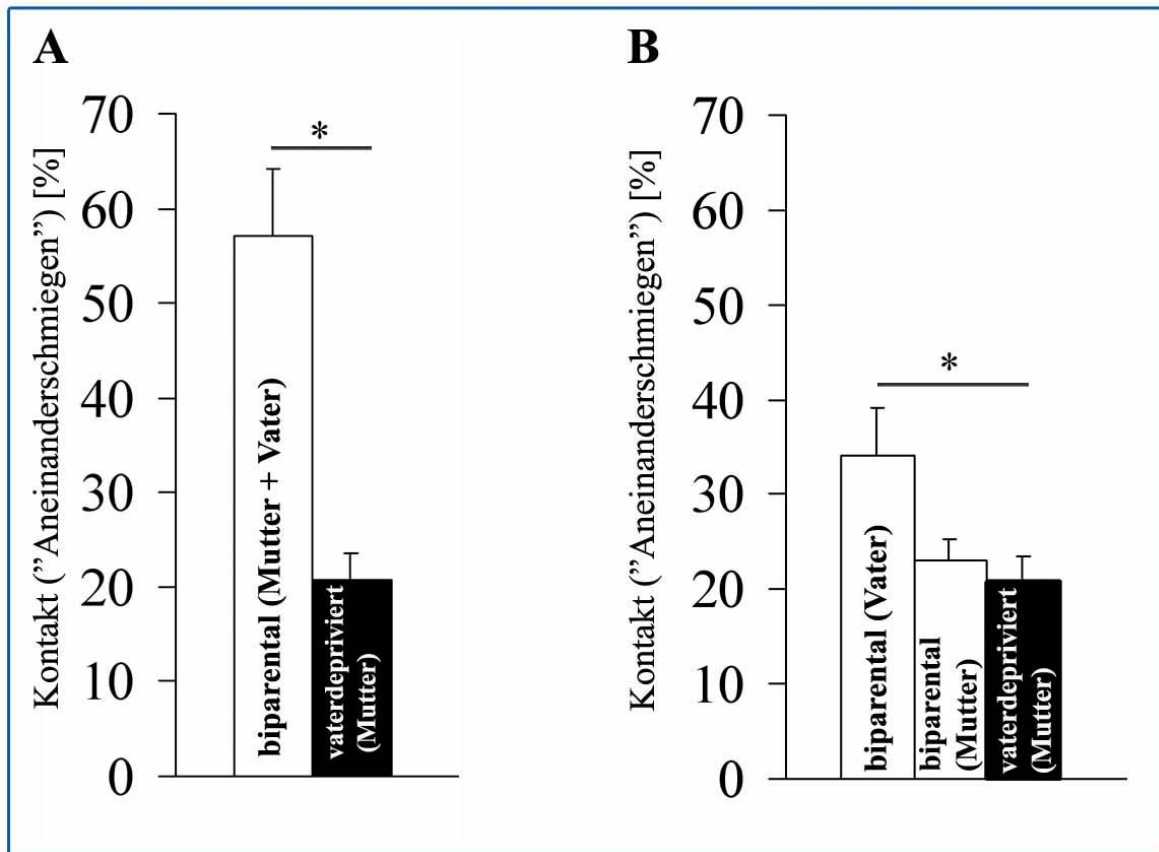


Abbildung 38: Dauer des Kontakts („Aneinanderschmiegen“)

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

### ***Jungtier-Eltern-Interaktionen:***

In beiden Experimentalgruppen putzen, pflegen und spielen die Nachkommen mit ihren Eltern (z.B. auf dem Rücken des Vaters reiten). Im Jungtier-Eltern-Putzverhalten konnten signifikante Unterschiede in der Dauer im Vergleich vaterdeprivierter zu biparental aufgewachsenen Degus, die die Möglichkeit hatten, beide Elterntiere zu „pflegen“ (Abbildung 39A; Tabelle 22), beobachtet werden. Es ließen sich keine signifikanten Unterschiede in der Frequenz zwischen beiden Experimentalgruppen bestimmen (Tabelle 3). Demzufolge putzten ohne Vater herangewachsene Degus gleich häufig ihre Eltern, wie Jungtiere aus biparentalen Familien, jedoch war die Dauer bei den deprivierten Tieren signifikant erniedrigt. Zudem war im Vergleich zwischen Jungtier-Mutter- und Jungtier-Vater-Putzverhalten feststellbar, dass die Dauer des Jungtier-Vater-Putzverhalten signifikant niedriger war, als das Jungtier-Mutter-Putzverhalten (Abbildung 39B; Tabelle 22).

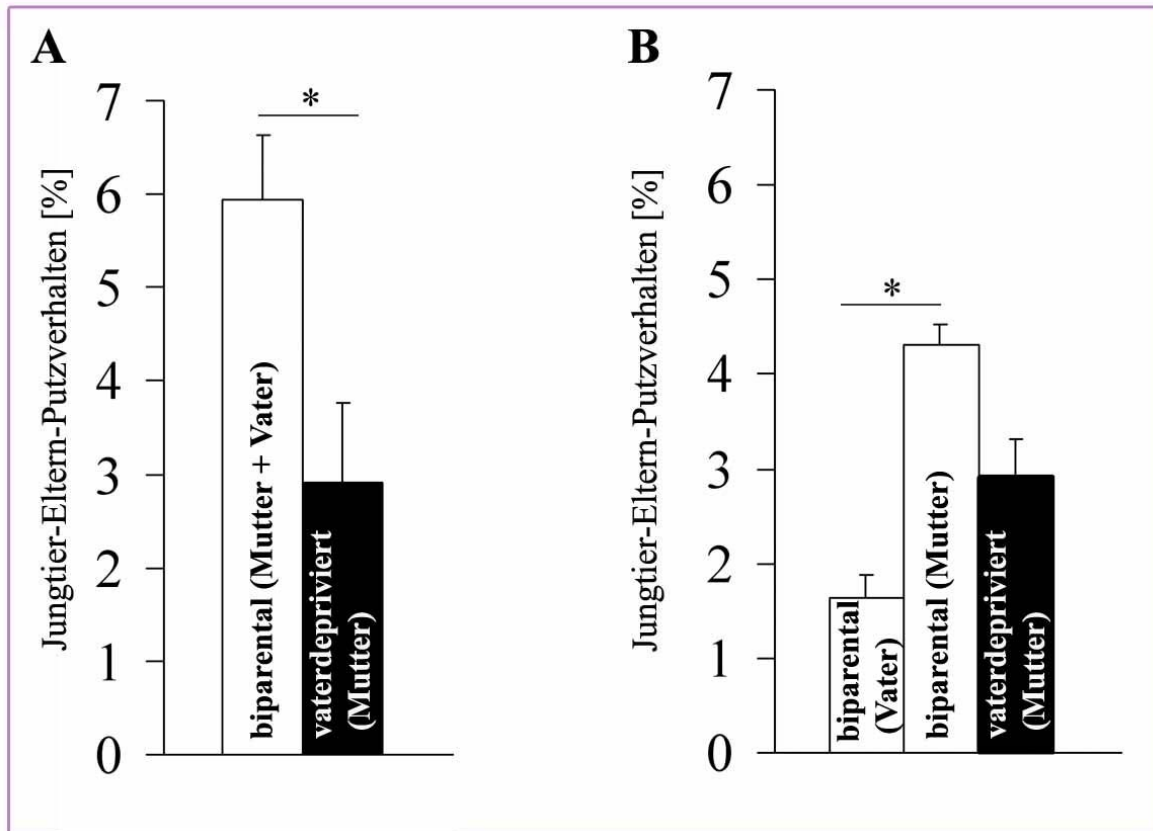


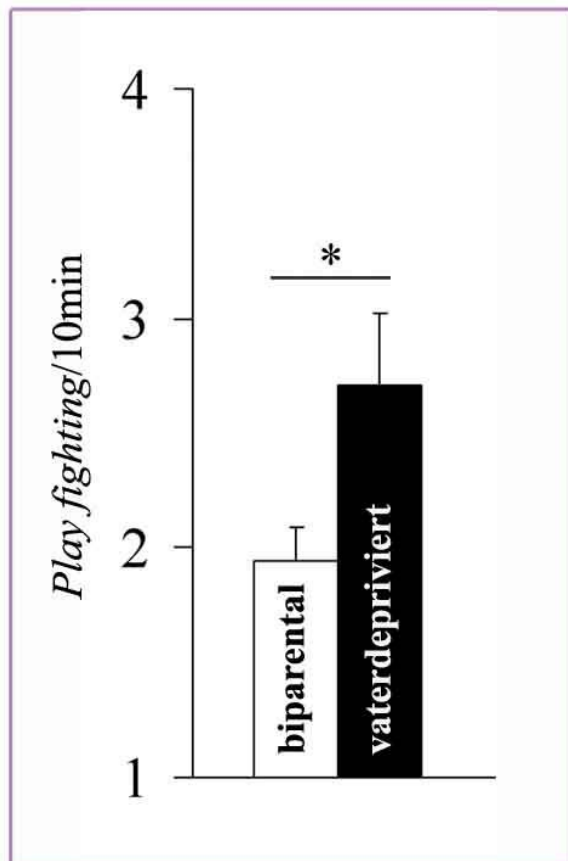
Abbildung 39: Dauer des Jungtier-Eltern-Putzverhaltens

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

Es konnten keine signifikanten Unterschiede in Dauer und Frequenz des Jungtier-Eltern-Spielverhaltens nachgewiesen werden (Tabelle 22).

**Jungtier-Jungtier-Interaktionen:**

Sowohl biparental aufgewachsene, als auch vaterdeprivierte Jungtiere zeigten Spielverhalten, wobei das so genannte „Play fighting“ (spielerisches Kämpfen; vgl. dazu Abschnitt 3.2.1) besonders hervortrat. Die statistische Analyse zeigte, dass in der Dauer des



„Play fightings“ zwischen vaterdeprivierten und biparental aufgewachsenen Geschwistern keine Unterschiede nachweisbar waren, jedoch eine signifikant erhöhte Frequenz (Abbildung 40; Tabelle 22). D.h., vaterdeprivierte Jungtiere initiierten deutlich häufiger kämpferisches Spielverhalten als Geschwister in biparentalen Familien.

Abbildung 40: Frequenz des „Play fightings“

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

In Dauer und Frequenz des Jungtier-Jungtier-Putzverhaltens konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Experimentalgruppen ermittelt werden (Tabelle 22).

**Zusammenfassung der Ergebnisse - juveniles Verhalten im Familienverband:**

Die Analyse des Verhaltens im Familienverband zeigte, dass Deguväter Brutpflegeverhalten zeigen und das Fehlen väterlicher Fürsorge in Veränderungen des Jungtierverhaltens resultiert. „Allein erziehende“ Mütter ändern nicht ihr Verhalten im Vergleich zu Müttern aus biparentalen Familien und kompensieren folglich nicht das Fehlen väterlicher Fürsorge, bspw. durch ein gesteigertes Pflegeverhalten gegenüber den Jungtieren, woraus sich eine Reduktion der Fürsorge, den die vaterdeprivierten Jungtiere erfahren, ergibt. Vaterdeprivierte Jungtiere zeigten eine Verringerung in der Dauer der Elternkontakte, ausgedrückt durch das „Pflegeverhalten“ gegenüber den Eltern, und eine erhöhte Initiierung des sogenannten „Play fightings“.

<i>Eltern (Mutter + Vater) - Jungtier-Interaktionen</i>	<i>Jungtier-Eltern-Interaktionen</i>	<i>Jungtier-Jungtier-Interaktionen</i>
Pflege der Jungtiere (Lecken/Putzen) ↓ (Dauer)	Putzen der Eltern →	Putzen der Geschwister →
Körperkontakt ↓ (Dauer) („Aneinanderschmiegen“)	Spielen mit den Eltern →	Spielen mit den Geschwistern ↑ (Frequenz)
Säugen der Jungtiere →		

Tabelle 19: Änderungen der Parameter - soziales Verhalten im Familienverband

**Legende:** → keine Änderungen in den Verhaltensweisen, ↓ Reduktion der Verhaltensweise, ↑ Zunahme der Verhaltensweise

## 4.2 Verhaltenstests

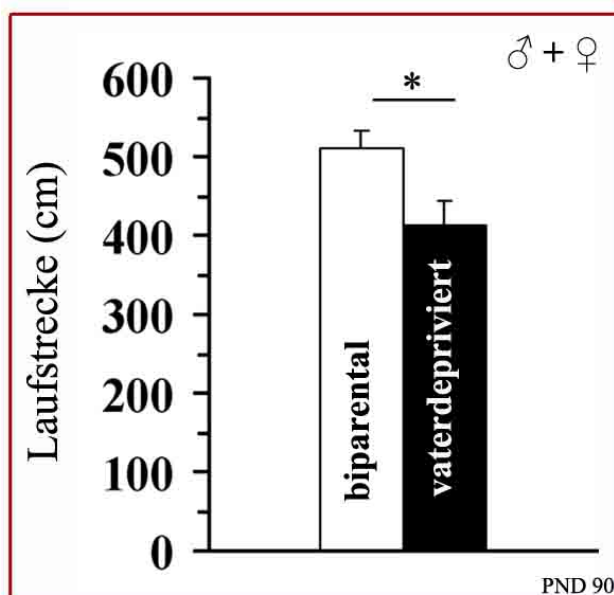
### 4.2.1 Explorations- und Angstverhalten

**Folgende Parameter/Verhaltensweisen wurden analysiert:**

<i>Emotionales/Angstverhalten</i>	<i>Vertikales Explorationsverhalten</i>	<i>Sonstige Verhaltensweisen</i>
Laufstrecke (in cm)	Aufrichten	Putzen
Aktivität im Zentrum	Springen	
Eintritte in das Zentrum		
Aufenthaltsdauer im Zentrum (in min)		
Vokalisation		
Ausscheidung		

Tabelle 20: Parameter - Explorations- und Angstverhalten

### *Emotionales/Angstverhalten*

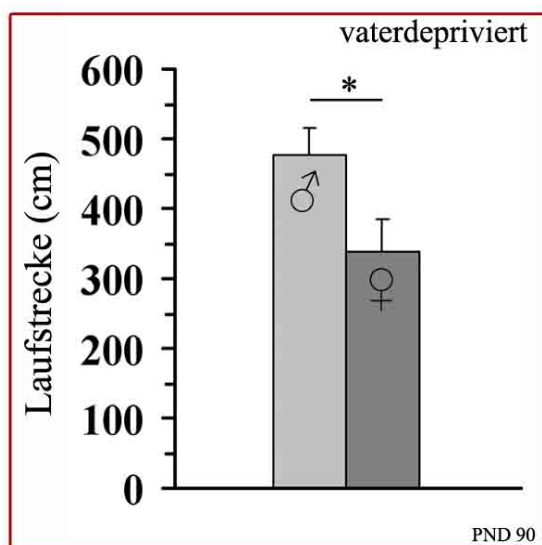


Die statistische Analyse der Laufstrecke in der Open-Field-Arena ergab signifikante Unterschiede zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren.

Abbildung 41: Gruppenunterschiede in der Laufstrecke in der gesamten Open-Field-Arena

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede (p<0.05).

Ohne Vater herangewachsene Degus, das heißt Tiere, die in ihrer frühen Entwicklung sozio-emotional teildepriviert wurden, legten im Open-Field eine geringere Laufstrecke zurück (Abbildung 41; Tabelle 23). Eine Detailanalyse der einzelnen Testminuten ergab ebenfalls signifikante Unterschiede hinsichtlich des horizontalen Explorationsverhaltens (unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit). Es ergaben sich Unterschiede zwischen erster und fünfter (längere Laufstrecke in der ersten Minute), erster und vierter (längere Laufstrecke in der ersten Minute), erster und dritter (längere Laufstrecke in der ersten Minute), zweiter und fünfter (längere Laufstrecke in der zweiten Minute), sowie zweiter und vierter Testminute (längere Laufstrecke in der zweiten Minute) (Tabelle 23). Ferner

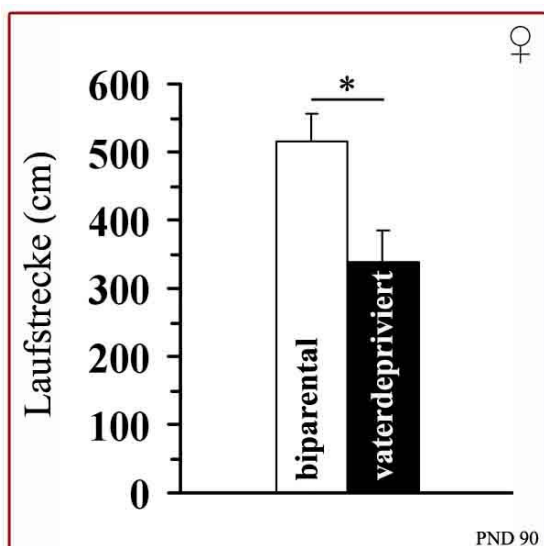


ließ die statistische Untersuchung der Daten eine signifikante Wechselwirkung zwischen Gruppenzugehörigkeit und Geschlecht der getesteten Tiere erkennen. In der Gruppe der vaterdeprivierten Degus besteht ein signifikanter Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Jungtieren: vaterdeprivierte weibliche Degus legen eine kürzere Strecke im Open-Field zurück, als männliche vaterdeprivierte Degus (Abbildung 42; Tabelle 23).

Abbildung 42: Geschlechtsunterschiede in der Gruppe der vaterdeprivierten Degus in der Laufstrecke in der Open-Field-Arena.

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

Im Hinblick auf die weiblichen Tiere konnte beobachtet werden, dass vaterdeprivierte



Weibchen im Open-Field kürzere Strecken zurücklegen, als biparental aufgezogene Weibchen (Abbildung 43; Tabelle 23).

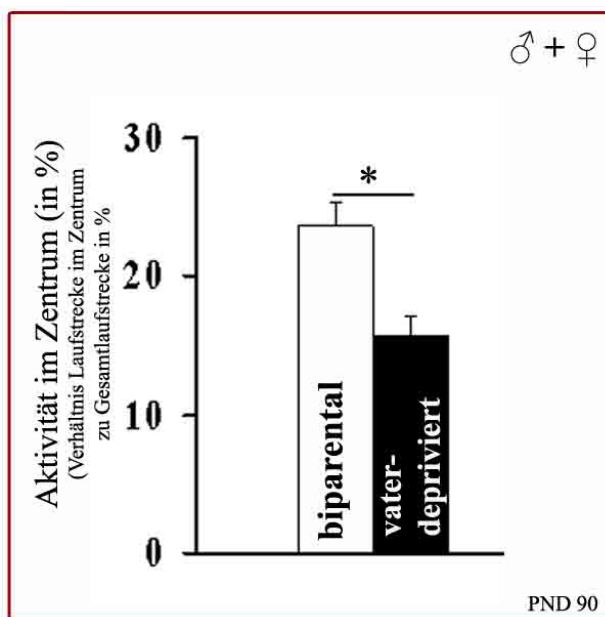
Abbildung 43: Unterschiede in der Laufstrecke in der Open-Field-Arena zwischen vaterdeprivierten und biparental aufgewachsenen Weibchen

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).



Geschlechtsunterschiede (signifikanter Haupteffekt) in der varianzanalytischen Analyse der Daten ergaben sich nicht (Tabelle 23), ebenso keine Wechselwirkungen der Faktoren Aufzuchtbedingung und entsprechender Testminute (erste bis fünfte Testminute), zwischen dem Faktor Geschlecht und der entsprechenden Testminute, sowie zwischen Aufzuchtbedingung, Geschlecht und Testminute (Tabelle 23).

Die Analyse der Aktivität im Zentralbereich zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen (Tabelle 25). Vaterdeprivierte Tiere zeigen signifikant weniger

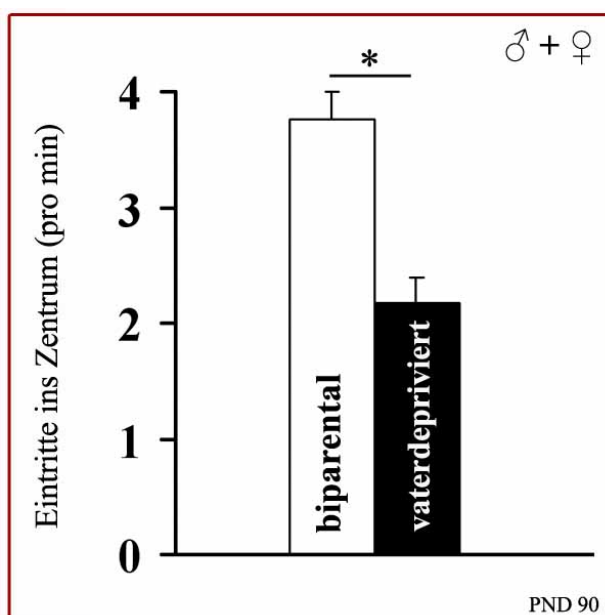


Aktivität im Zentrum der Open-Field-Arena, als ihre Altersgenossen aus biparentalen Familien. Keine Unterschiede konnten in bezug auf die Testminuten, das Geschlecht, sowie keine Wechselwirkungen Gruppenzugehörigkeit x Testminute, Geschlecht x Testminute, sowie Gruppenzugehörigkeit x Geschlecht x Testminute bestimmt werden (Tabelle 25).

Abbildung 44: Gruppenunterschiede in der Laufaktivität im Zentrum der Open-Field-Arena

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

Die Untersuchung der Eintritte in den inneren Bereich der Open-Field-Arena ließ ebenfalls



signifikante Unterschiede zwischen beiden Untersuchungsgruppen erkennen. Vaterdeprivierte Degus treten weniger häufig in den zentralen Bereich der Open-Field-Arena ein, als Tiere aus biparentalen Familien (Abbildung 45; Tabelle 25).

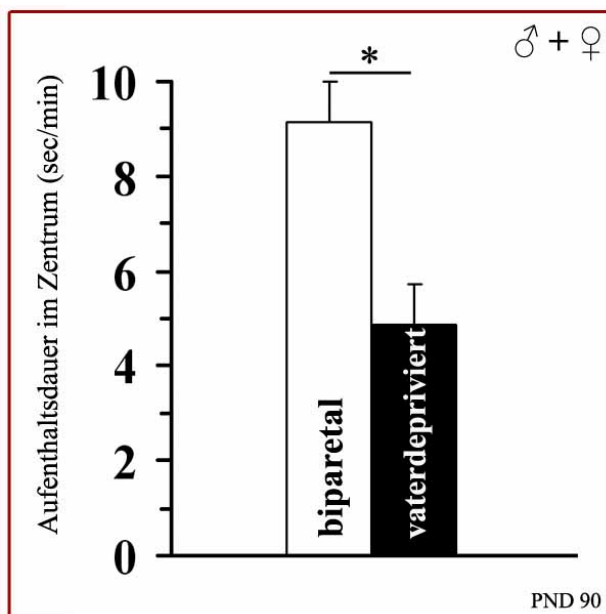
Abbildung 45: Gruppenunterschiede in der Anzahl der Eintritte in das Zentrum der Open-Field-Arena

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

Lediglich tendenzielle Unterschiede zeigte die Untersuchung der einzelnen Testminuten (Trend hinsichtlich eines Haupteffekts für die Testminute; Tabelle 25).

Es konnten keine Unterschiede hinsichtlich des Geschlechts der Tiere, der Interaktionen zwischen Gruppenzugehörigkeit und Geschlecht, Gruppenzugehörigkeit und Testminute, Geschlecht und Testminute, sowie Gruppenzugehörigkeit, Geschlecht und Testminute bestimmt werden (Tabelle 25).

Als ein weiteres Kriterium für die Analyse des Verhaltens in der Open-Field-Arena wurde die Aufenthaltsdauer im zentralen Bereich der Arena analysiert. Auch hier konnten anhand der statistischen Überprüfung signifikante Unterschiede zwischen beiden



Untersuchungsgruppen nachgewiesen werden. Vaterdeprivierte Degus verweilen kürzer im zentralen Bereich der Open-Field-Arena als Tiere aus biparentalen Familien (Abbildung 46; Tabelle 25).

Abbildung 46: Gruppenunterschiede in der Aufenthaltsdauer im Zentrum der Open-Field-Arena

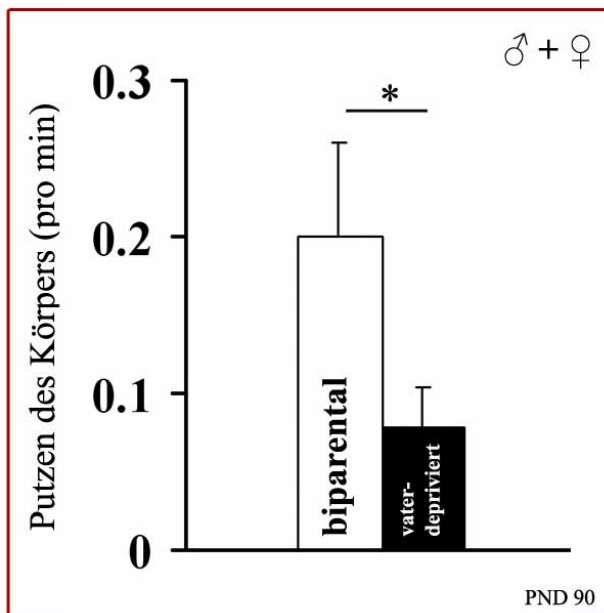
**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

Keine signifikanten Unterschiede konnten für die Faktoren Geschlecht und Testminute, sowie in bezug auf Wechselwirkungen zwischen Gruppenzugehörigkeit und Geschlecht, Gruppenzugehörigkeit und Testminute, Geschlecht und Testminute, Gruppenzugehörigkeit, Geschlecht und Testminute (Tabelle 25) beobachtet werden.

Die Tiere zeigten keine Vokalisation und Defekation. Aus diesem Grund wurden keine statistischen Testverfahren angewendet.

### ***Vertikales Explorations- und Putzverhaltens in der Open-Field-Arena:***

Die statistische Analyse der Variable Aufrichten (vertikales Explorationsverhalten) im Open-Field zeigte signifikante Geschlechtsunterschiede, wobei sich männliche Tiere häufiger aufrichten, als weibliche (nicht dargestellt; Tabelle 24). Signifikante Unterschiede ergaben sich für die Variable Aufrichten weiterhin in den einzelnen Testminuten, wobei in diesem Zusammenhang signifikante Unterschiede der Testtiere zwischen erster und vierter (häufigeres Aufrichten in der ersten Minute), erster und dritter (häufigeres Aufrichten in der ersten Minute, sowie zwischen zweiter und vierter Minute (häufigeres Aufrichten in der zweiten Minute beobachtet werden konnten (Tabelle 24). Es ließen sich jedoch weder Unterschiede zwischen den beiden Untersuchungsgruppen, noch Wechselwirkungen zwischen Gruppenzugehörigkeit und Geschlecht, Gruppenzugehörigkeit und Testminute, Geschlecht und Testminute, sowie zwischen Gruppenzugehörigkeit, Geschlecht und Testminute nachweisen (Tabelle 24).



In der statistischen Untersuchung des *Springens* (vertikales Explorationsverhalten) im Open-Field zeigten sich keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 24).

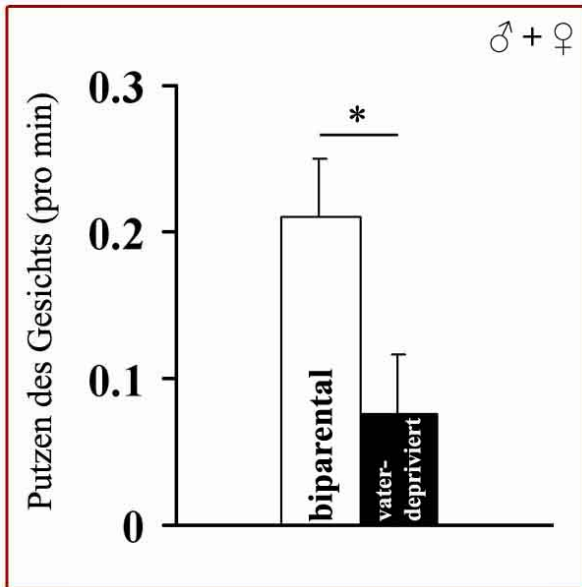
Abbildung 47: Gruppenunterschiede im Putzverhalten (Körper) in der Open-Field-Arena

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

Die Analyse des Putzverhaltens (Putzen des Körpers) zeigte signifikante Unterschiede zwischen beiden Untersuchungsgruppen. Allein von der Mutter aufgezogene Degus putzten ihr Körperfell im Open-Field weniger als sozial aufgewachsene Degus (Abbildung 47; Tabelle 24). Zudem putzten männliche Degus ihren Körper weniger häufig als weibliche Tiere (signifikanter Haupteffekt für die Variable Geschlecht; nicht dargestellt; Tabelle 24). Es zeigte sich im weiteren ein Trend hinsichtlich einer Interaktion zwischen Gruppe und Geschlecht, so das tendenziell beobachtet werden konnte, dass sich biparental aufgewachsene Männchen häufiger putzen als biparental aufgewachsene Weibchen und vaterlose Männchen häufiger als vaterlose Weibchen (Tabelle 24). Keine Unterschiede konnten in bezug auf die Testminute, sowie der Wechselwirkungen zwischen

Gruppenzugehörigkeit und Testminute, Geschlecht und Testminute, sowie Gruppenzugehörigkeit, Geschlecht und Testminute nachgewiesen werden (Tabelle 24).

Die statistische Analyse des zweiten beobachteten Putzverhaltens (Putzen des Gesichts)



zeigte ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen vaterdeprivierten Degus und biparental aufgewachsenen Tieren. Tiere, die früh in ihrer Kindheit teildepriviert wurden, putzen sich weniger das Gesicht, als Tiere aus biparentalen Familien (Tabelle 24).

Abbildung 48: Gruppenunterschiede im Putzverhalten (Gesicht) in der Open-Field-Arena

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

Keine Unterschiede zeigten sich in der varianzanalytischen Untersuchung bezüglich der Faktoren Geschlecht und Testminute, sowie zwischen den Interaktionen Gruppenzugehörigkeit x Geschlecht, Gruppenzugehörigkeit x Testminute, Gruppenzugehörigkeit x Geschlecht x Testminute (Tabelle 24).

**Zusammenfassung der Ergebnisse in der Open-Field-Arena:**

Zusammengefaßt zeigte die Analyse einzelner Verhaltenskomponenten im Open-Field, dass Degus, die allein von ihrer Mutter aufgezogen wurden, kürzere Strecken in der Open-Field-Arena und im zentralen Bereich zurücklegen, weniger Putzverhalten zeigen, weniger häufig in das Zentrum der Arena eintreten und dort, im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Tiere, kürzer verweilen (Tabelle 25).

<i>Emotionales/Angstverhalten</i>	<i>Vertikales Explorationsverhalten</i>	<i>Sonstige Verhaltensweisen</i>
<i>Laufstrecke (in cm) ↓</i>	<i>Aufrichten →</i>	<i>Putzen ↓</i>
<i>Aktivität im Zentrum ↓</i>	<i>Springen →</i>	
<i>Eintritte in das Zentrum ↓</i>		
<i>Aufenthaltsdauer im Zentrum ↓</i>		
<i>Vokalisationv (--)</i>		
<i>Ausscheidung (--)</i>		

Tabelle 21: Änderungen der Parameter - Explorations- und Angstverhalten

**Legende:** → keine Änderungen in den Verhaltensweisen, ↓ Reduktion der Verhaltensweise, ↑ Zunahme der Verhaltensweise bei den vaterdeprivierten im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Tieren; (--) diese Verhaltensweise wurde nicht beobachtet

## 4.2.2 Skinner-Box

### 4.2.2.1 Lernleistungen

Die statistische Analyse der Lernleistung, d.h. die Dauer (in Tagen), die die Tiere benötigen, um nach dem erfolgreichen Erlernen der Trainingskriterien die Testphase (Test auf Impulsivität, siehe folgenden Abschnitt) zu erreichen, zeigte signifikante Unterschiede zwischen beiden Untersuchungsgruppen (Faktorstufe Aufzuchtbedingung). Vaterdeprivierte Degus benötigen insgesamt länger, um die Trainingskriterien erfolgreich zu erlernen als Tiere aus biparentalen Familien, wobei für die einzelnen Trainingsstufen lediglich ein Trend zu beobachten ist (Faktorstufe Trainingsphase) (Tabelle 26; Abbildung 49).

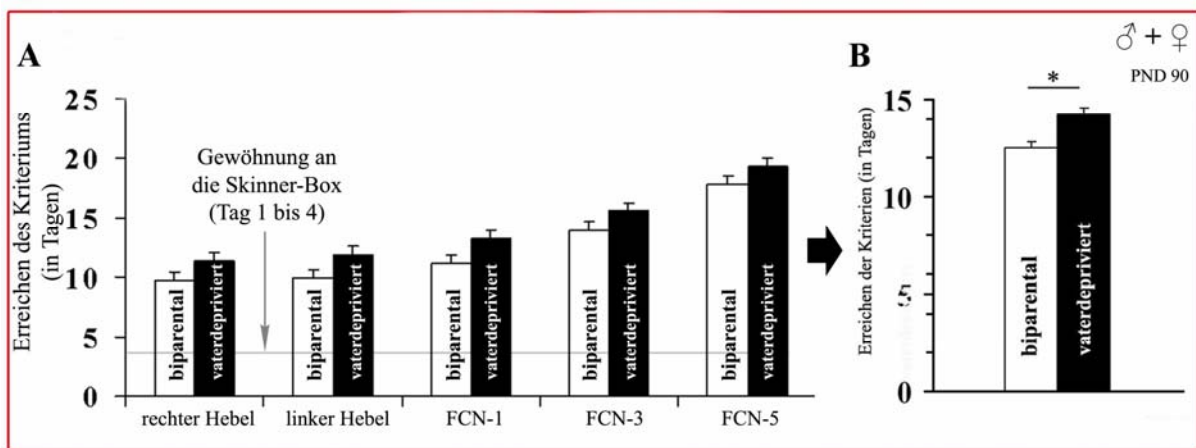


Abbildung 49: Lernkurve der verschiedenen Trainingskriterien

**Legende:** Die Abbildung zeigt (A) die Lernkurve (kumulative Werte) der untersuchten Tiere in Bezug auf das Erreichen der verschiedenen Kriterien und (B) die mittleren Unterschiede in der Dauer bis zum Erreichen der Testphase zwischen beiden Untersuchungsgruppen.

Keine signifikanten Unterschiede konnten für die Variable Geschlecht, sowie in Bezug auf Wechselwirkungen der Faktorstufen Gruppenzugehörigkeit und Geschlecht, Gruppenzugehörigkeit und Trainingseinheit, Geschlecht und Trainingseinheit, Gruppenzugehörigkeit, Geschlecht und Trainingseinheit (Tabelle 26) beobachtet werden.

### **Zusammenfassung der Ergebnisse zum Lernverhalten:**

Vaterdeprivierte Tiere zeigen langsamere Lernkurven und benötigen zum Erreichen der Testphase, d.h. dem erfolgreichen Erlernen der Trainingskriterien, signifikant länger als Tiere aus biparentalen Familien.

#### 4.2.2.2 Impulsivität

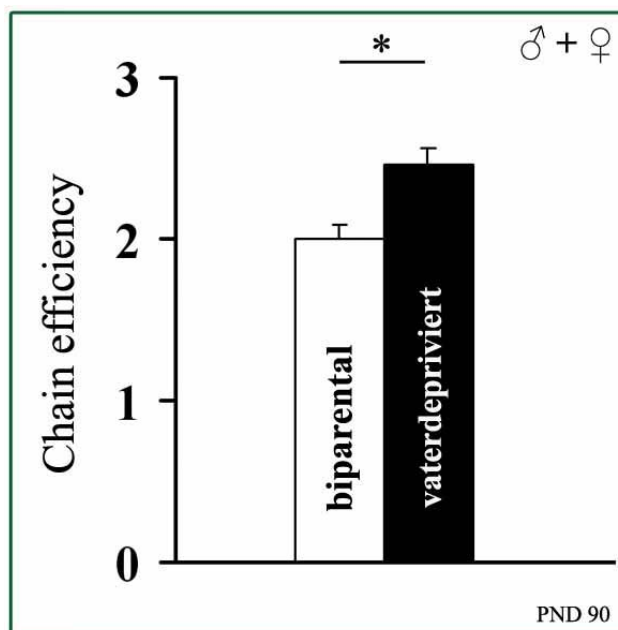
##### **Response efficiency (FCN-Hebel /Pellets):**

Die statistische Prüfung des Parameters Response efficiency, die der FCN-Hebel-Betätigung geteilt durch die Zahl der erhaltenen Pellets entspricht, zeigte signifikante Geschlechtsunterschiede. Weibliche Tiere beider Aufzuchtbedingungen betätigten häufiger als notwendig den FCN-Hebel, um eine Belohnung zu erhalten und sind entsprechend ineffizienter, als männliche Degus, was auf impulsives Verhalten hindeutet (nicht abgebildet, Tabelle 26).

Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen, den Testtagen, den Wechselwirkungen zwischen Gruppenzugehörigkeit und Geschlecht, Gruppenzugehörigkeit und Testtag, Geschlecht und Testtag, sowie Gruppenzugehörigkeit, Geschlecht und Testtag (Tabelle 26) ließen sich nicht nachweisen.

##### **Chain efficiency (Belohnungshebel/Pellets):**

Signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen konnten dagegen in der Zahl der Reaktionen auf den Belohnungshebel geteilt durch die Zahl der Pellets, der Chain



efficiency, beobachtet werden. Allein von der Mutter aufgezogene Degus betätigten den Belohnungshebel signifikant häufiger, als zur korrekten Erfüllung der Aufgabe notwendig war und erreichen demzufolge höhere Werte und scheinen demzufolge impulsiver zu sein.

Abbildung 50: Gruppenunterschiede in der Chain efficiency

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

Keine Unterschiede traten für die Parameter Geschlecht und Testtag, sowie für die Wechselwirkungen zwischen Gruppenzugehörigkeit und Geschlecht, Gruppenzugehörigkeit und Testtag, Geschlecht und Testtag, Gruppenzugehörigkeit, Geschlecht und Testtag auf (Tabelle 26).

**Klappe pro Minute:**

In der Analyse der Klappenbetätigung pro Minute ließen sich ebenso Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen statistisch absichern. Vaterdeprivierte Tiere, die nur bei der Mutter aufwuchsen, betätigten signifikant häufiger die Klappe, als zum Erhalt der Belohnung notwendig war (Abbildung 51; Tabelle 26).

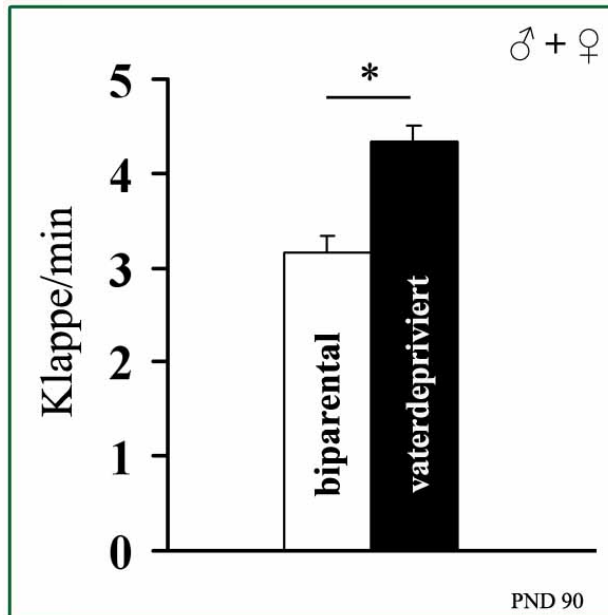


Abbildung 51: Gruppenunterschiede hinsichtlich der Klappenbetätigung pro Minute

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

Zudem zeigen weibliche im Vergleich zu männlichen Testtieren höhere Werte, d.h. sie betätigen häufiger pro Minute die Klappe (nicht abgebildet; Tabelle 26). Keine Unterschiede konnten bezüglich des Testtags und den Interaktionen zwischen Gruppenzugehörigkeit und Geschlecht, Gruppenzugehörigkeit und Testtag, Geschlecht und Testtag, Gruppenzugehörigkeit, Geschlecht und Testtag beobachtet werden (Tabelle 26).

**Zusammenfassung der Ergebnisse zum impulsiven Verhalten:**

Vaterdeprivierte im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Tieren sind ineffizienter und demzufolge impulsiver, werden die Variablen *Chain efficiency* und Betätigung der Klappe betrachtet. Geschlechtsunterschiede bestehen für den Parameter *Response efficiency*, bei dem weibliche Testtiere (unabhängig von der Aufzuchtbedingung) ineffizienter sind als männliche Tiere, die in der Skinner-Box getestet wurden.

### 4.3 Neuroanatomische Ergebnisse

#### 4.3.1 Orbitofrontaler Cortex

##### 4.3.1.1 Morphologische Änderungen an Pyramidenzellen der Schichten II/III

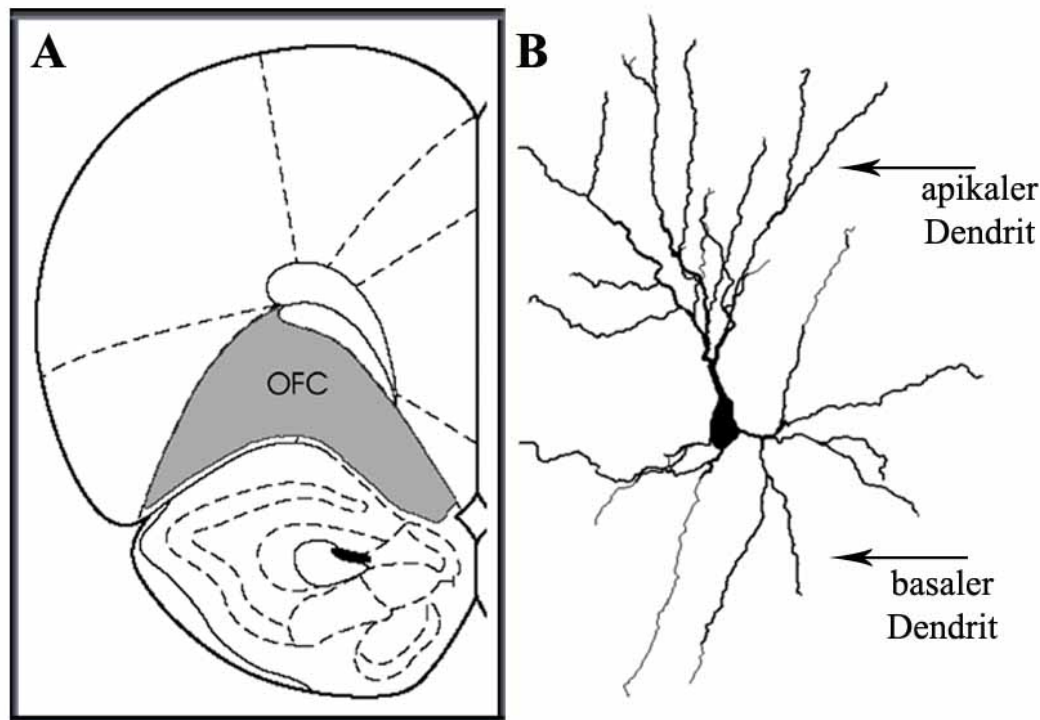


Abbildung 52: Orbitofrontaler Cortex (A) und Pyramidenzelle der Schicht II/III in dieser Region (B)

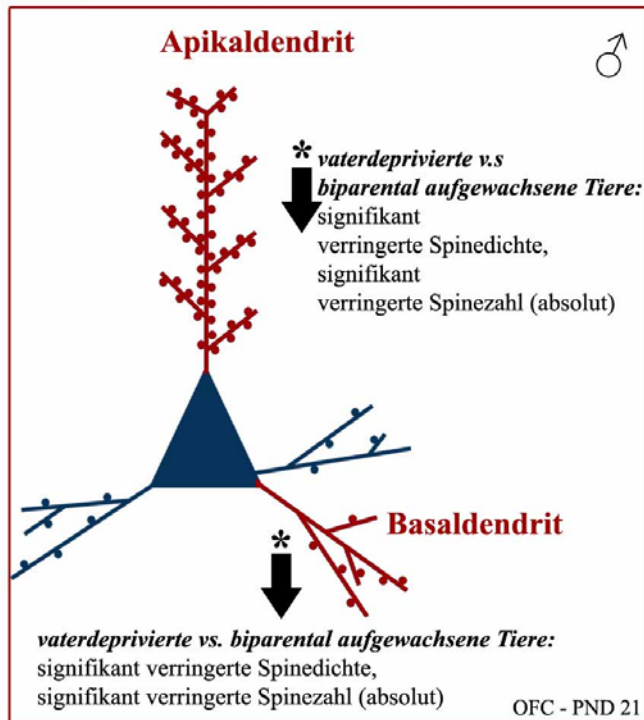
**Legende:** Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Elsevier/Academic Press, Amsterdam.; Zeichnung erstellt am NeuroLucida-System, MicroBrightfield.

#### ***Analyse von Pyramidenzellen der Schichten II/III des OFC - Jungtiere (PND 21):***

Die Analyse von Pyramidenzellen im orbitofrontalen Cortex (OFC) (Abbildung 52A) biparental aufgewachsener und vaterdeprivierter Jungtiere (PND 21) wurde bereits im Vorfeld dieser Dissertation im Rahmen eines studentischen Projektes durchgeführt. Vaterdeprivierte Degus zeigten eine signifikante Verringerung der basalen und apikalen Spinedichte und Spinezahl (Helmeke et al., 2007). Die Basaldendritenlänge und die Länge der Apikaldendriten, ebenso wie die Zahl dendritischer Verzweigungen (Nodes) wies keine Unterschiede zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Jungtieren auf (Helmeke et al., 2007). Unterschiede zwischen den Hemisphären oder Wechselwirkungen zwischen Hemisphäre und Gruppenzugehörigkeit ließen sich nicht bestimmen. Es zeigte sich lediglich ein Trend hinsichtlich einer Interaktion von Gruppe x Hemisphäre in der Analyse der basalen Spinedichte. D.h. die Spinedichte in der rechten Hemisphäre biparental



aufgewachsener Tiere war tendenziell niedriger als die Spinedichte in der rechten Hemisphäre vaterdeprivierter Tiere. Die Spinedichte in der rechten Hemisphäre vaterdeprivierter Tiere ist tendenziell höher als die Spinedichte in der rechten Hemisphäre



vaterdeprivierter Tiere und die Spinedichte in der rechten und linken Hemisphäre biparental aufgewachsener Tiere ist tendenziell höher als die Spinedichte in der rechten und linken Hemisphäre vaterdeprivierter Tiere.

Abbildung 53: Veränderungen am Apikal- und Basaldendriten im OFC von Jungtieren (PND 21): Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren

**Legende:** Die Abbildung zeigt schematisch die Veränderungen an Pyramidenzellen der Schichten II/III des OFC 21-Tage alter, vaterdeprivierter im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Degus.

### **Analyse von Pyramidenzellen der Schichten II/III des OFC - adulte Tiere (PND 90):**

Die 2-Wege ANOVA zeigte signifikante Unterschiede zwischen Tieren aus biparentalen Familien und vaterdeprivierten Degus. Im OFC erwachsener, allein von der Mutter aufzogener Degus zeigte sich eine signifikante Verringerung der apikalen Spinedichte, der apikalen Spinezahl, sowie der apikalen dendritischen Länge (Abbildung 54; Tabelle 28). Für den apikalen Dendriten konnte zudem ein Trend hin zu einer geringeren Zahl dendritischer Verzweigungen in der Gruppe der vaterdeprivierten Tiere im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Degus beobachtet werden (Tabelle 28). Hemisphärenunterschiede, sowie Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Aufzuchtbedingung (biparental, vaterdepriviert) und Hemisphäre (rechts, links) konnten nicht bestimmt werden.

Die Analyse der basalen Dendriten im orbitofrontalen Cortex zeigte keine Unterschiede in der Spinedichte, der Spinezahl und der Dendritenlänge zwischen Tieren aus biparentalen Familien und vaterdeprivierten Degus. Ebenso konnten auch hier keine Unterschiede zwischen den Hemisphären oder Interaktionen ermittelt werden (Tabelle 28). Jedoch konnte

in der Zahl dendritischer Verzweigungen (Nodes) ein signifikanter Hemisphärenunterschied ermittelt werden, d.h. in der rechten Hemisphäre vaterdeprivierter sind im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Degus mehr Nodes vorhanden, als in der linken Hemisphäre.

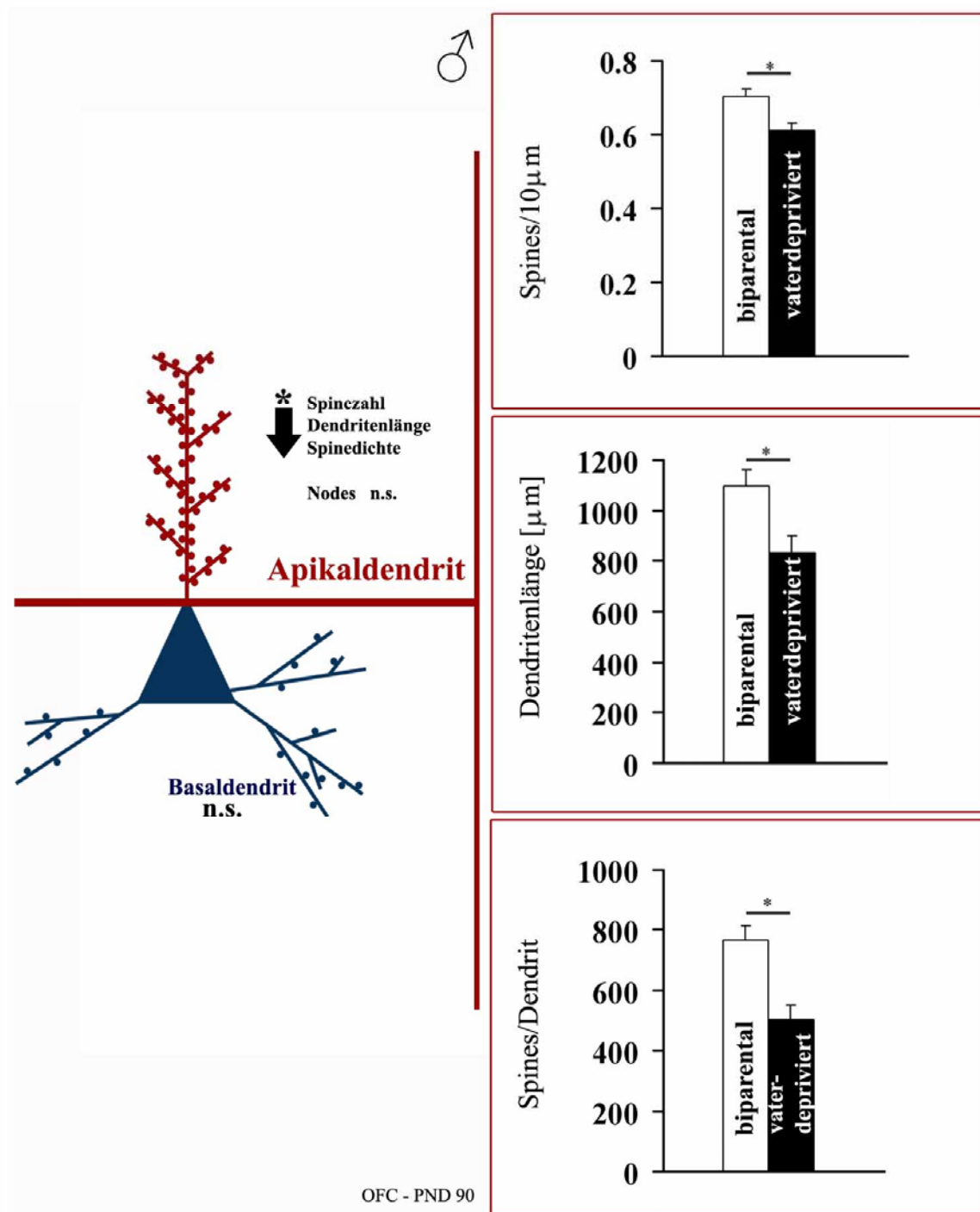


Abbildung 54: Veränderungen am Apikaldendriten im OFC adulter Degus: Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

#### 4.3.1.2 Modifikationen des inhibitorischen Systems

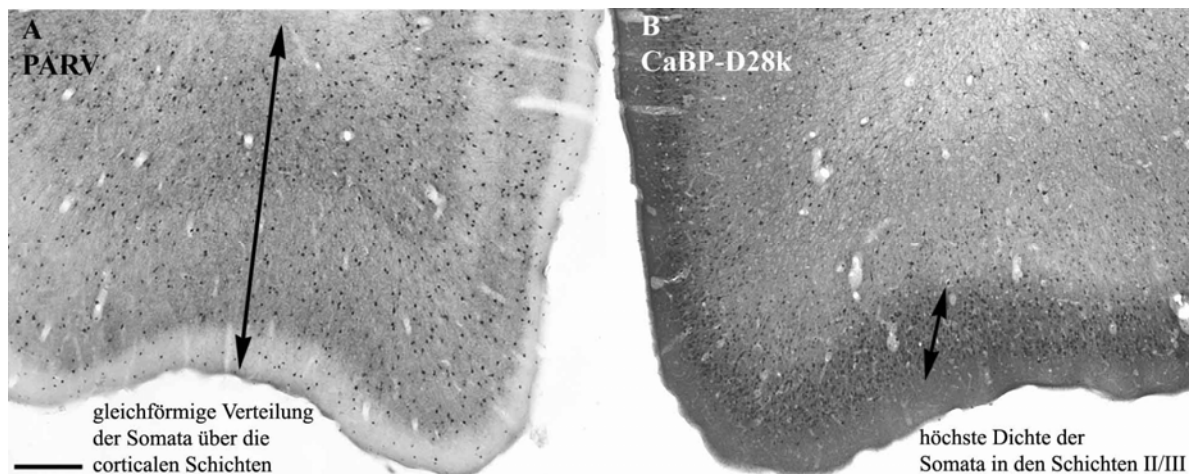


Abbildung 55: Immunhistochemische PARV (A)- und CaBP-D28k (B)-Färbungen im OFC

**Legende:** Die Abbildung zeigt immunhistochemisch gefärbte PARV- und CaBP-D28k-positive Zellen im OFC. Zu erkennen ist, dass PARV-positive Somata gleichmäßig über alle corticalen Schichten verteilt sind, wohingegen CaBP-D28k-immunopositive Zellkörper v.a. in den Schichten II/III konzentriert sind. Der Maßbalken entspricht 250  $\mu\text{m}$ .

**PARV-exprimierende Interneurone im lateralen und ventromedialen orbitofrontalen Cortex** (Abbildung 55A, Abbildung 56): Die 3-Wege ANOVA mit den Faktoren Aufzuchtbedingungen, Alter der Tiere und Hemisphäre zeigte signifikant geringere PARV-Zelldichten biparental aufgewachsener Tiere im Vergleich zu vaterdeprivierten Tieren. Zudem konnten signifikante Altersunterschiede insofern bestimmt werden, dass Jungtiere eine höhere Zelldichte als adulte Degus zeigten (Tabelle 29). Eine signifikante Wechselwirkung ließ sich für die Variablen Gruppenzugehörigkeit und Alter bestimmen (Abbildung 57; Tabelle 29). Der Post-hoc Tukey-Test zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen für den PND 21 und als auch den PND 90, d.h. Jungtiere und adulte Degus, die ohne Vater herangewachsen sind, zeigen höhere Dichten PARV-exprimierender Interneurone als Tiere, die aus biparentalen Familien stammen. Weiterhin zeigten juvenile biparental aufgewachsene und vaterdeprivierte Tieren höhere Dichten PARV-positiver Neurone als erwachsene Degus (Tabelle 29). Unterschiede zwischen rechter und linker Hemisphäre, auch in Interaktion mit den Parametern Gruppe und Alter konnten statistisch nicht nachgewiesen werden (Tabelle 29).

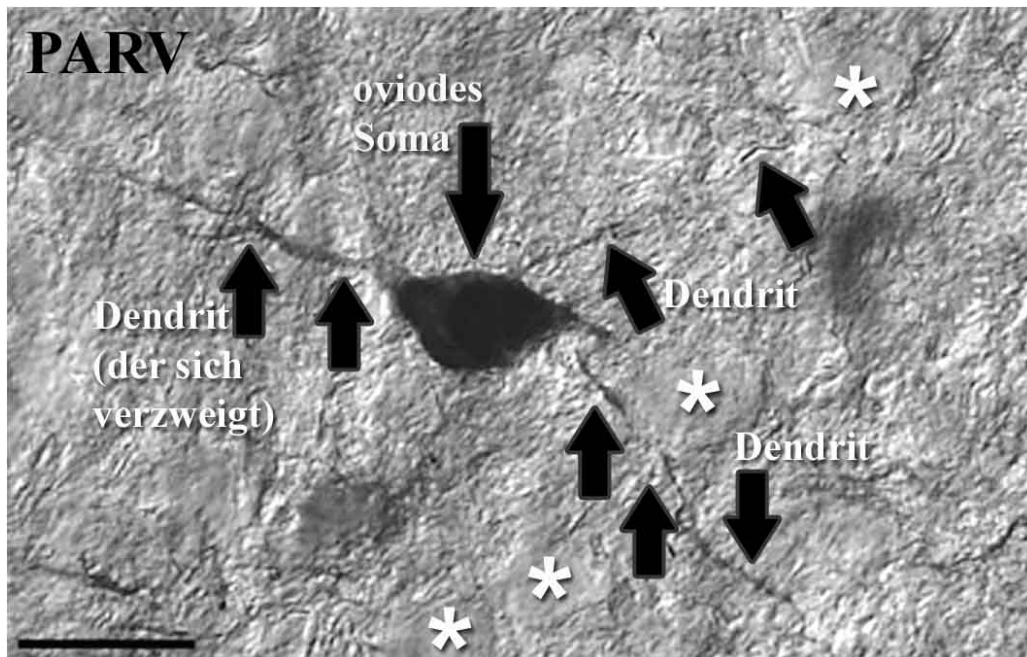


Abbildung 56: PARV-immunpositive Zellen in den Schichten II/III des OFC

**Legende:** Die Abbildung zeigt, wie ein PARV-immunpositives Neuron in unmittelbarer Umgebung zu nicht-markierten Somata (Sterne) liegen. Der Maßbalken entspricht 20  $\mu\text{m}$ .

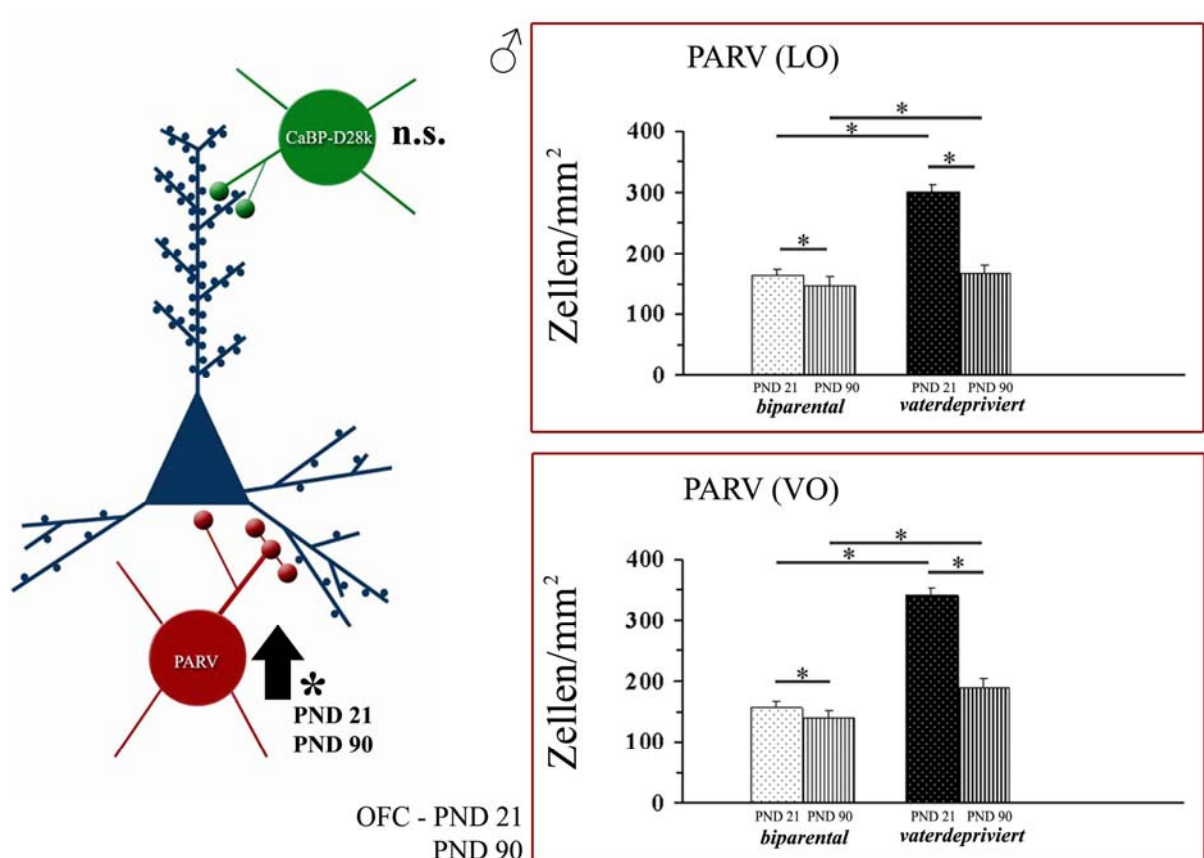


Abbildung 57: Dichteveränderungen PARV-positiver Interneurone im LO und VO: Vergleich biparental aufgewachsener und vaterdeprivierter Tiere am PND 21 und PND 90

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ); Innervationschema adaptiert nach Freund (2003).

**CaBP-D28k-exprimierende Interneurone im lateralen und ventromedialen orbitofrontalen Cortex** (Abbildung 55B): Für die zweite analysierte Subpopulation GABAerger Interneurone, den CaBP-D28k-exprimierenden Zellen, konnte durch die 3-Wege ANOVA ein signifikanter Altersunterschied bestimmt werden, d.h. juvenile Tiere zeigen eine höhere Dichte CaBP-D28k-positiver Neurone als adulte Degus (Tabelle 29). Zudem konnte eine signifikante Interaktion der Faktorstufen Aufzuchtbedingungen und Alter der Tiere bestimmt werden (Tabelle 29). Die Post-hoc Einzelvergleiche zeigten jedoch keine signifikanten Unterschiede. Gruppen- und Hemisphärenunterschiede konnten nicht ermittelt werden (Tabelle 29).

#### 4.3.1.3 Änderungen des extra-hypothalamischen CRF-Systems

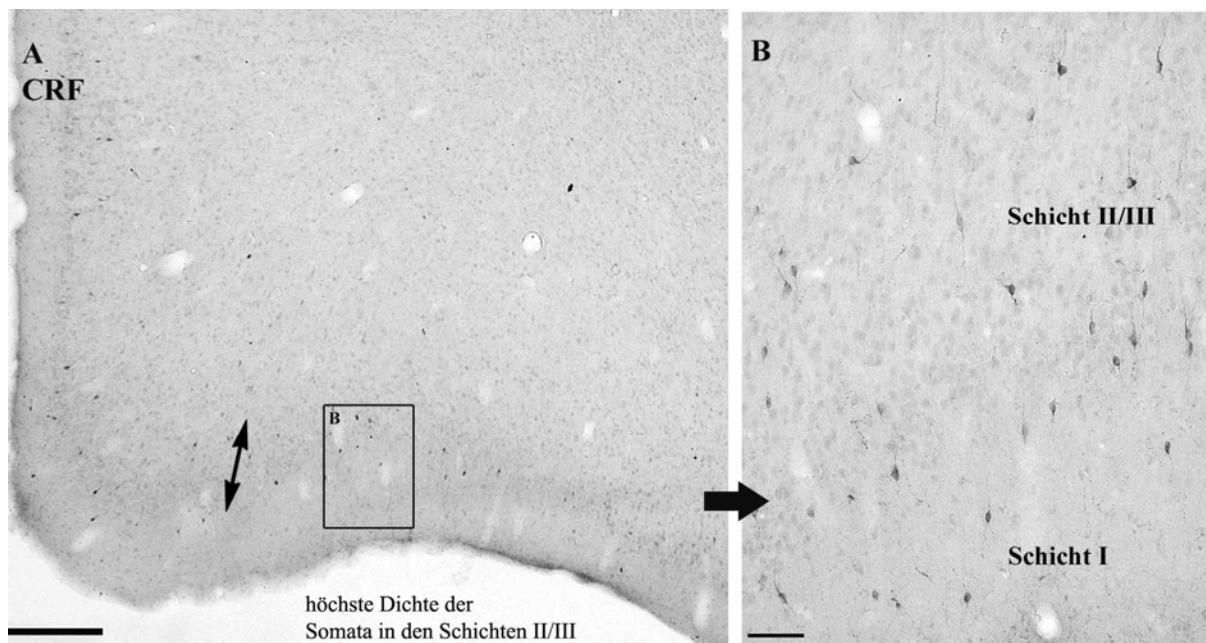


Abbildung 58: Immunhistochemische CRF-Färbung im OFC

**Legende:** Die Abbildung zeigt CRF-immunmarkierte Neurone im OFC: (A) Übersichtsdarstellung, (B) Darstellung CRF-immunreaktiver Zellen in den Schichten I-III des OFC. Der Maßbalken entspricht 250  $\mu\text{m}$  (A), 50  $\mu\text{m}$  (B).

Anhand der 3-Wege ANOVA konnten signifikante Unterschiede zwischen beiden Untersuchungsgruppen bestimmt werden. Biparental aufgewachsene Degus zeigten geringere Dichten CRF-exprimierender Zellen als vaterdeprivierte Tiere (Abbildung 59). Zudem zeigten Jungtiere signifikant höhere Dichten CRF-exprimierender Neurone als adulte Degus (Tabelle 29). Es konnte im weiteren eine signifikante Wechselwirkung zwischen Gruppenzugehörigkeit und Alter nachgewiesen werden (Abbildung 59; Tabelle 29). Der anschließende Post-hoc Test zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen für beide Altersstadien: Jungtiere und erwachsene Degus, die ohne Vater

herangewachsen sind, zeigten höhere Dichten CRF-immunpositiver Neurone als Tiere aus biparentalen Familien. Zudem zeigten die Jungtiere beider Gruppen höhere Dichten CRF-exprimierender Zellen als adulte Degus. (Tabelle 29). Hemisphärenunterschiede konnten nicht ermittelt werden (Tabelle 29).

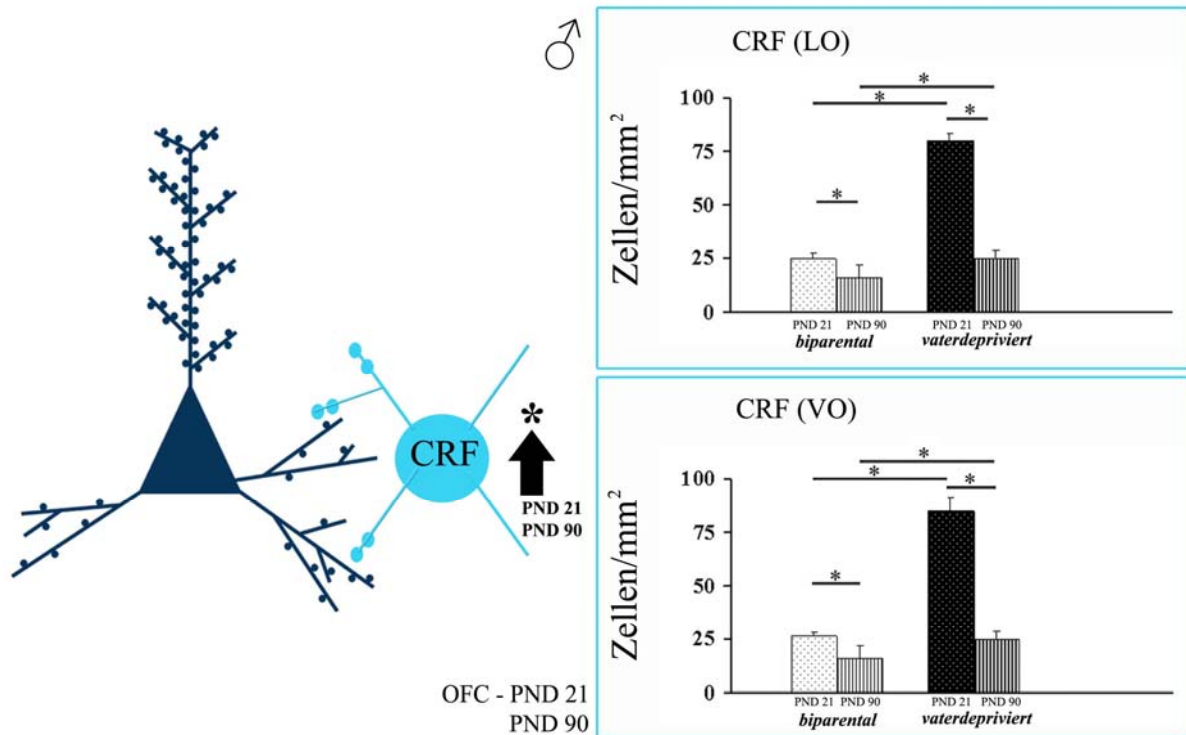


Abbildung 59: Dichteveränderungen CRF-exprimierender Neurone im LO und im VO: Vergleich biparental aufgewachsener und vaterdeprivierter Tiere am PND 21 und PND 90

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

#### 4.3.1.4 Veränderung katecholaminerger Fasersysteme

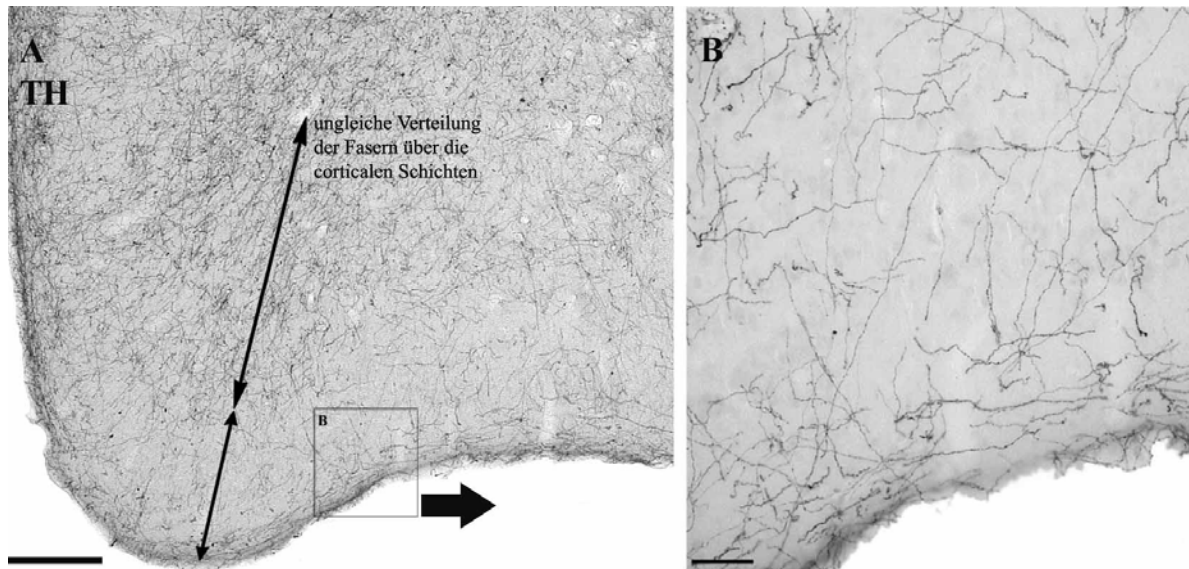


Abbildung 60: Immunhistochemische TH-Färbung im OFC

**Legende:** Die Abbildung zeigt TH-immungefärbte Fasern im OFC: (A) Übersichtsdarstellung, (B) Darstellung TH-immunreaktiver Fasern in den Schichten I-III des OFC. Der Maßbalken entspricht 250 µm (A), 50 µm (B). TH-gefärbte Fasern sind ungleich über die Schichten verteilt, d.h. in den Schichten I-II/III liegen diese in niedriger Dichte vor, als in den verbleibenden Schichten.

Der Vergleich der densitometrisch erfassten Dichte TH-immunreaktiver Fasern im OFC (Abbildung 60) ergab statistisch signifikante Unterschiede im LO zwischen Degus, die allein von ihrer Mutter aufgezogen wurden und Tieren, die aus biparentalen Familien stammen (Abbildung 61; Tabelle 29). Juvenile und adulte vaterdeprivierte Degus zeigten im LO eine signifikant erhöhte TH-Faserdichte im Vergleich zu Kontrolltieren aus biparentalen Familien.

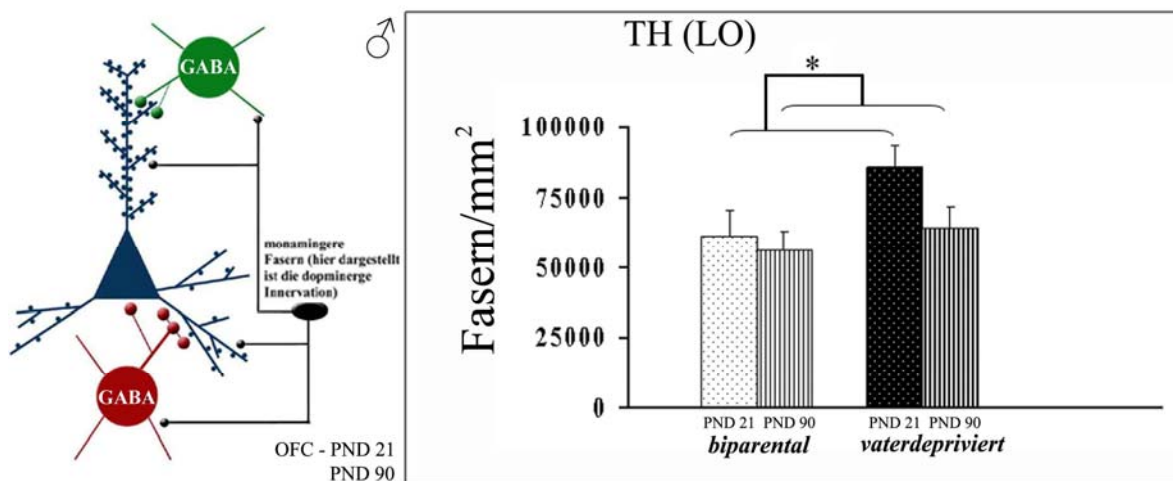


Abbildung 61: Dichteveränderungen TH-immunreaktiver Fasern im LO: Vergleich biparental aufgewachsener und vaterdeprivierter Tiere am PND 21 und PND 90

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

Weiterhin zeigte sich ein entwicklungsspezifischer Trend, d.h. juvenile Degus zeigen höhere Faserdichten als adulte Tiere (Tabelle 29). Interaktionen zwischen den Faktoren Gruppenzugehörigkeit, Alter oder Hemisphäre konnten nicht nachgewiesen werden (Tabelle 29). Für den ventromedialen OFC (VO) ließen sich keine Unterschiede bzw. Interaktionen zwischen den Gruppen, dem Alter oder der Hemisphäre ermitteln (Tabelle 29).

#### 4.3.1.5 Zusammenfassung der Ergebnisse im orbitofrontalen Cortex

Das Schema in Abbildung 62 zeigt zusammengefasst sowohl die Ergebnisse der quantitativen morphologischen, wie auch der neurochemischen Untersuchung.

Jungtiere, wie auch erwachsene vaterdeprivierte Degus im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Tieren zeigten Änderungen in der Morphologie der Pyramidenzellen der Schichten II/III, sowie eine deutliche Zunahme der Zelldichte PARV-, als auch CRF-exprimierender Neurone sowohl im lateralen als auch ventromedialen OFC, zudem eine Zunahme der Dichte TH-immunreaktiver Fasern im lateralen OFC. Keine Änderungen infolge sozio-emotionaler Teildeprivation konnte für die Subpopulation CaBP-D28k-immunpositiver Interneurone bestimmt werden.

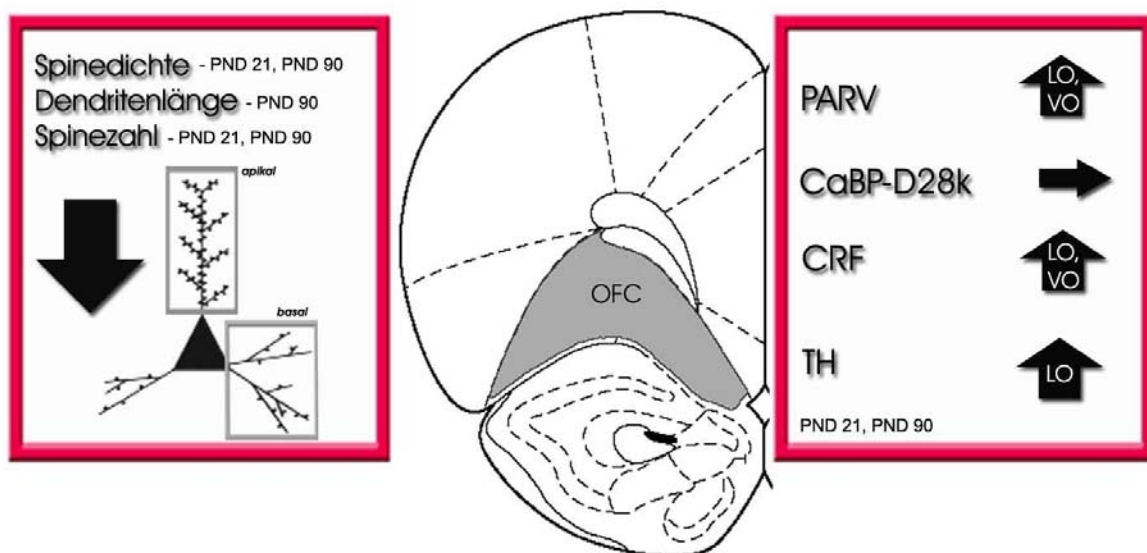


Abbildung 62: Zusammenfassung der Ergebnisse im OFC

**Legende:** Nach oben gerichteter Pfeil entspricht einer Zunahme, nach unten gerichteter Pfeil einer Abnahme des entsprechenden Parameters bei den vaterdeprivierten Tieren, waagerechte Pfeile weisen auf keine Unterschiede hin; Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). The rat brain in stereotaxic coordinates. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.



## 4.3.2 Amygdala

### 4.3.2.1 Morphologische Änderungen pyramidalen Neurone

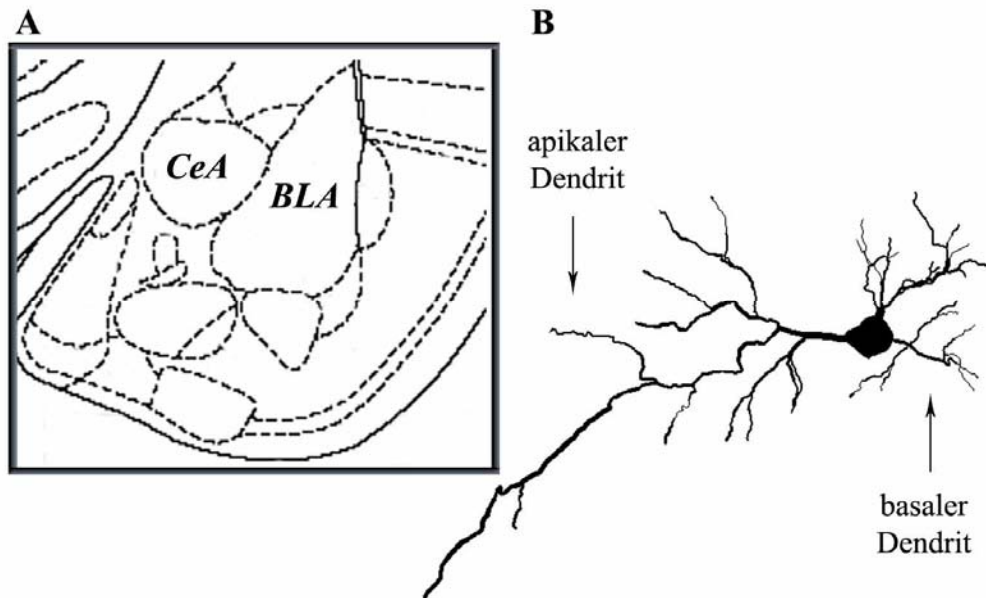


Abbildung 63: Analytische Subregionen der Amygdala (A) und pyramidales Neuron in der lateralen Amygdala (B)

**Legende:** Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). The rat brain in stereotaxic coordinates. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.; Zeichnung erstellt mit dem NeuroLucida-System (MicroBrightfield).

#### *Analyse pyramidalen Neurone der lateralen Amygdala - Jungtiere (PND 21):*

Pyramidenzellen der lateralen Amygdala (Abbildung 63) vaterdeprivierter Jungtiere zeigten signifikant geringere Spinedichten und geringere Spinezahlen am basalen Dendriten verglichen mit Tieren, die in biparentalen Familien aufgewachsen sind (Abbildung 64; Tabelle 29). Die Länge der Basaldendriten, ebenso wie die Zahl dendritischer Nodes (Verzweigungen) zeigte keine Unterschiede zwischen beiden Experimentalgruppen (Tabelle 29).

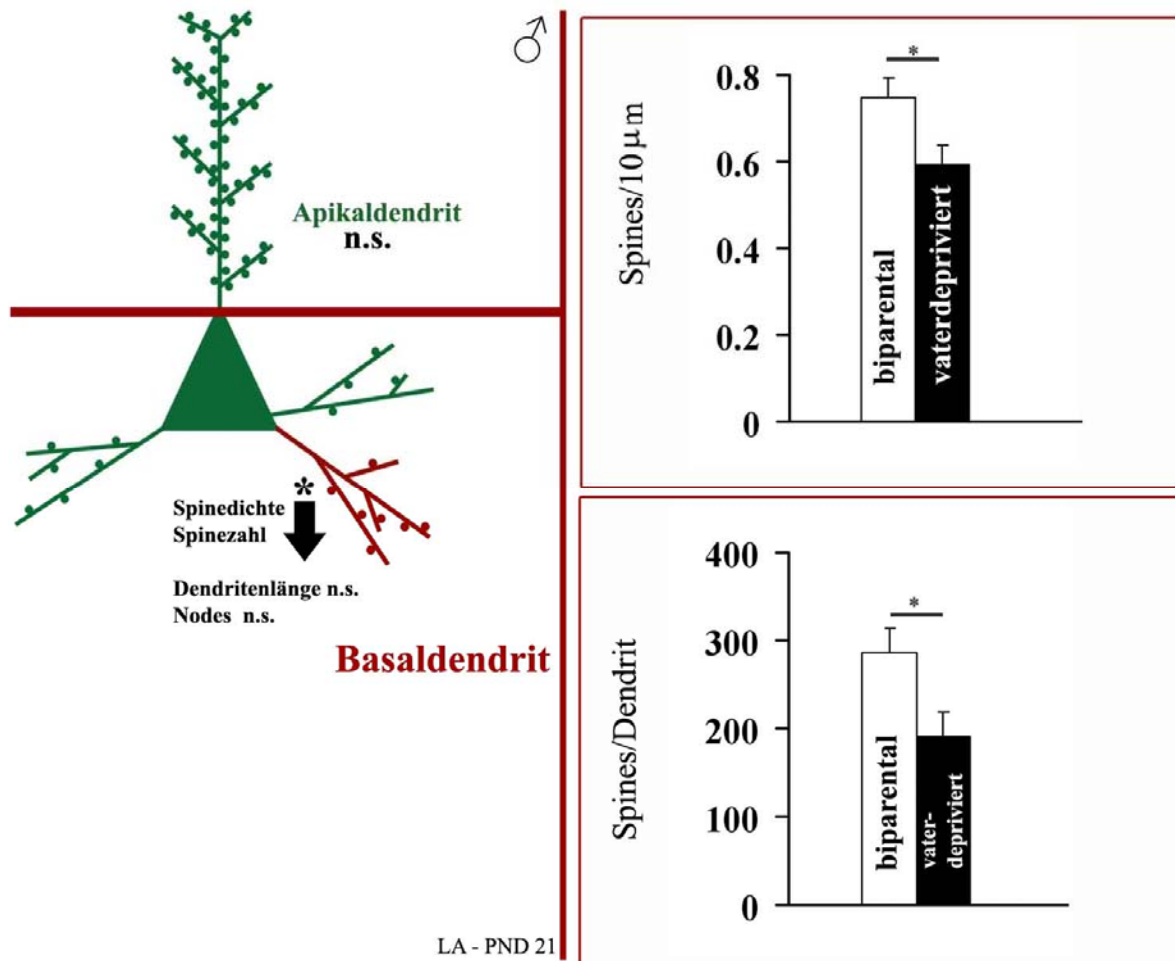


Abbildung 64: Morphologische Änderungen in der lateralen Amygdala (LA) juveniler Degus: Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

Die Analyse der apikalen Dendriten in der lateralen Amygdala zeigte keine Unterschiede in der Spinedichte, der Spinezahl, der Dendritenlänge und der Zahl dendritischer Nodes zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren (Tabelle 29).

Hemisphärenunterschiede oder Wechselwirkungen zwischen den Faktoren Gruppenzugehörigkeit und Hemisphäre ließen sich nicht beobachten (Tabelle 29).

#### **Analyse pyramidaler Neurone der lateralen Amygdala - adulte Tiere (PND 90):**

Pyramidenzellen der lateralen Amygdala vaterdeprivierter adulter Degus zeigten eine signifikant erhöhte Zahl apikal-dendritischer Verzweigungen (Nodes) im Vergleich zu Tieren, die in biparentalen Familien aufgewachsen sind (Abbildung 65; Tabelle 29).

Die Analyse der lateralen Amygdala adulter Degus wies keine Unterschiede in der basalen Spinedichte, der basalen Spinezahl, der basalen Dendritenlänge, der basalen Zahl dendritischer Verzweigungen, der apikalen Spinedichte, der apikalen Spinezahl und der

apikalen Dendritenlänge nach. Zudem ließen sich keine bedeutsamen Unterschiede im Hemisphärenvergleich oder aber hinsichtlich der Wechselwirkung zwischen Gruppe x Hemisphäre feststellen (Tabelle 29).

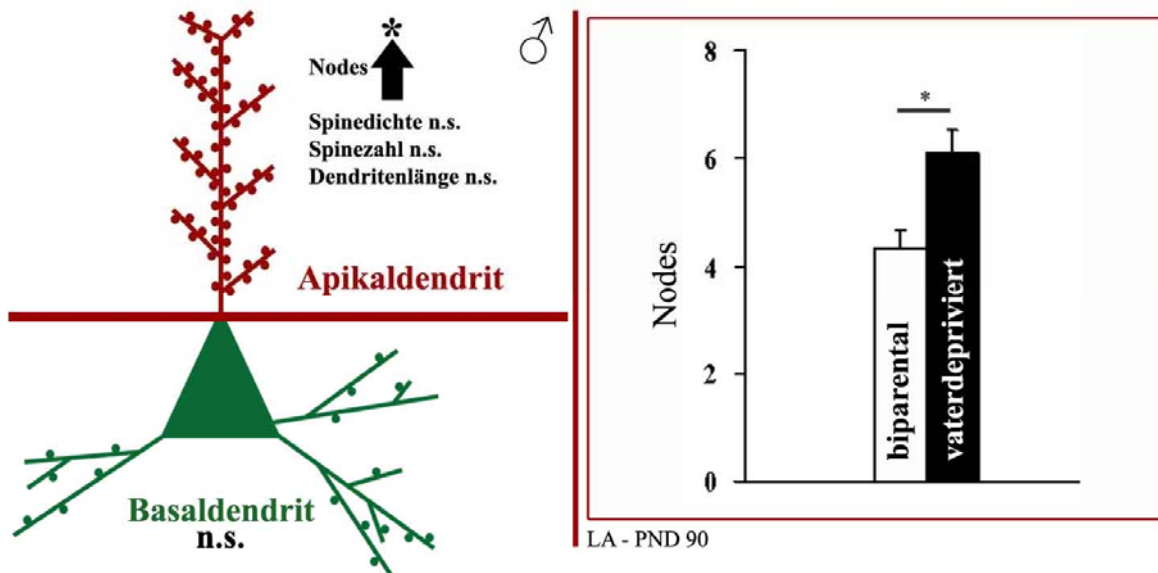


Abbildung 65: Morphologische Änderungen in der lateralen Amygdala (LA) adulter Degus: Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

#### 4.3.2.2 Modifikationen des inhibitorischen Systems

Abbildung 66 zeigt schematische Zeichnungen sowohl PARV- als auch CaBP-D28k-immunpositiver Zellen im basolateralen Kernkomplex der Amygdala.

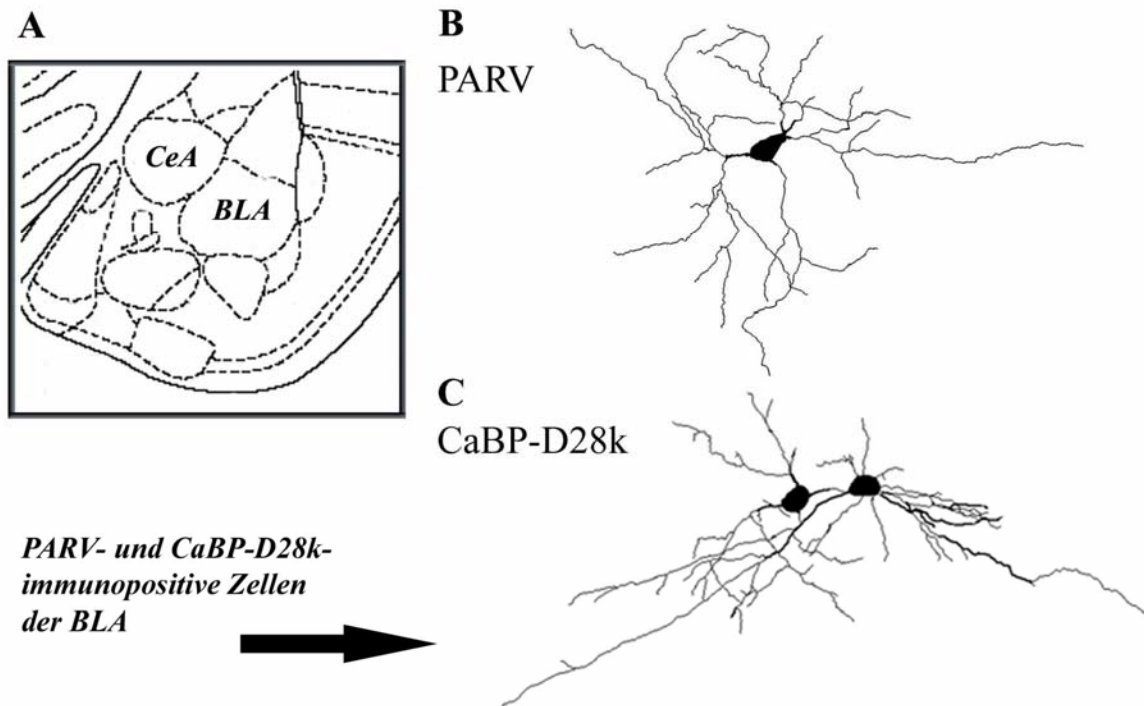


Abbildung 66: Basolateraler Kernkomplex und zentraler Kern der Amygdala (A), PARV- und CaBP-D28k-exprimierende Interneurone in dieser Region (B und C)

**Legende:** Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.; Zeichnung erstellt mit dem NeuroLucida-System (MicroBrightfield).

**PARV-exprimierende Neurone in der Amygdala:** Die 3-Wege-ANOVA für den basolateralen Kernkomplex wie auch den zentralen Kern der Amygdala zeigte signifikante Unterschiede zwischen beiden Untersuchungsgruppen, d.h. Tiere aus biparentalen Familien zeigen im Vergleich zu vaterdeprivierten Tieren geringere Dichten PARV-exprimierender GABAerger Interneurone (Abbildung 67). Zudem zeigten Jungtiere höhere Zelldichten als adulte Degus (Abbildung 67; Tabelle 29). Eine signifikante Interaktion zeigte sich zwischen den Variablen, Gruppenzugehörigkeit und dem Alter der Tiere (Tabelle 29).

Der Post-hoc Tukey-Test zeigte signifikante Unterschiede zwischen beiden Untersuchungsgruppen für den PND 21 und den PND 90, d.h. juvenile und adulte Degus, die ohne Vater herangewachsen sind, haben höhere Zelldichten als Tiere aus biparentalen Familien (Abbildung 67; Tabelle 29).

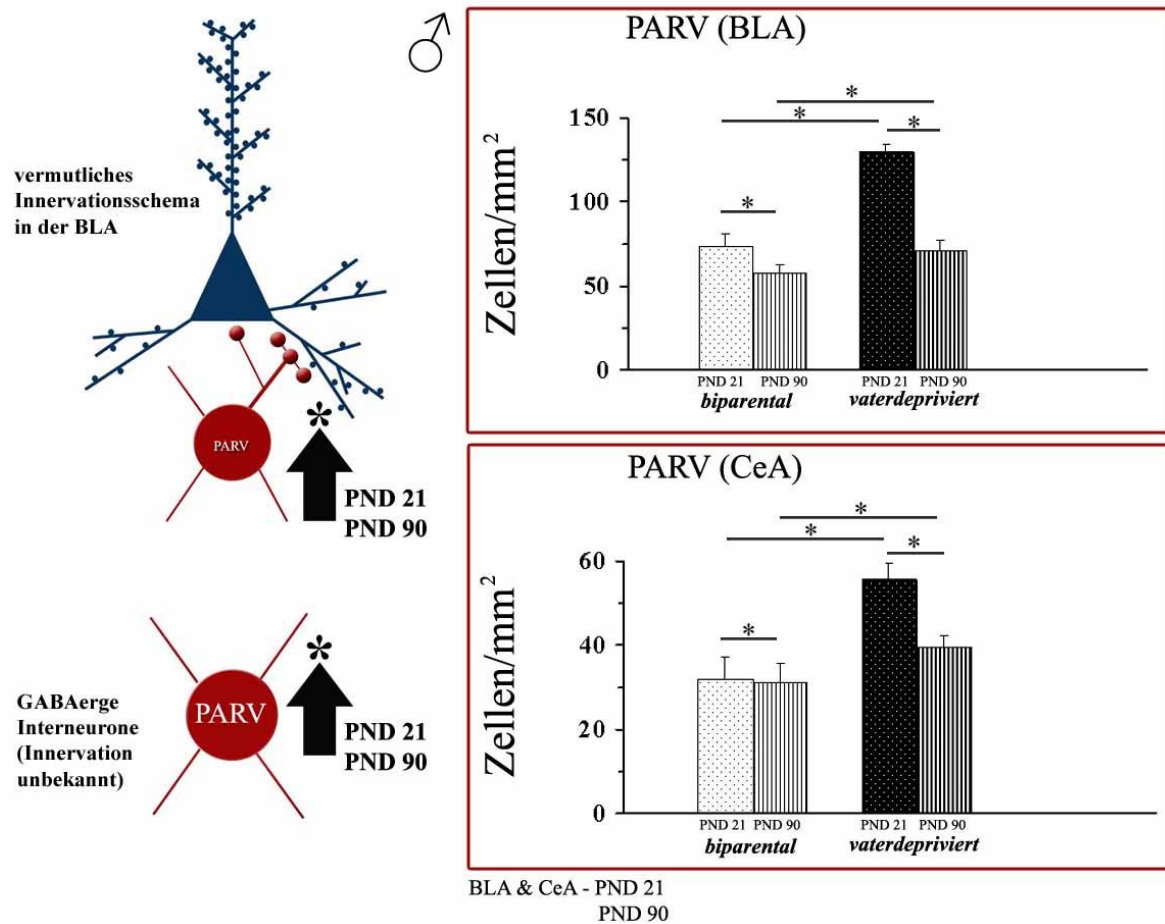


Abbildung 67: Dichteveränderungen PARV-exprimierender Neurone in der Amygdala vaterdeprivierter im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Degus

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

Unterschiede zwischen rechter und linker Hemisphäre, auch in Interaktion mit den anderen Faktoren (Aufzuchtbedingung und Alter) konnten statistisch nicht nachgewiesen werden (Tabelle 29).

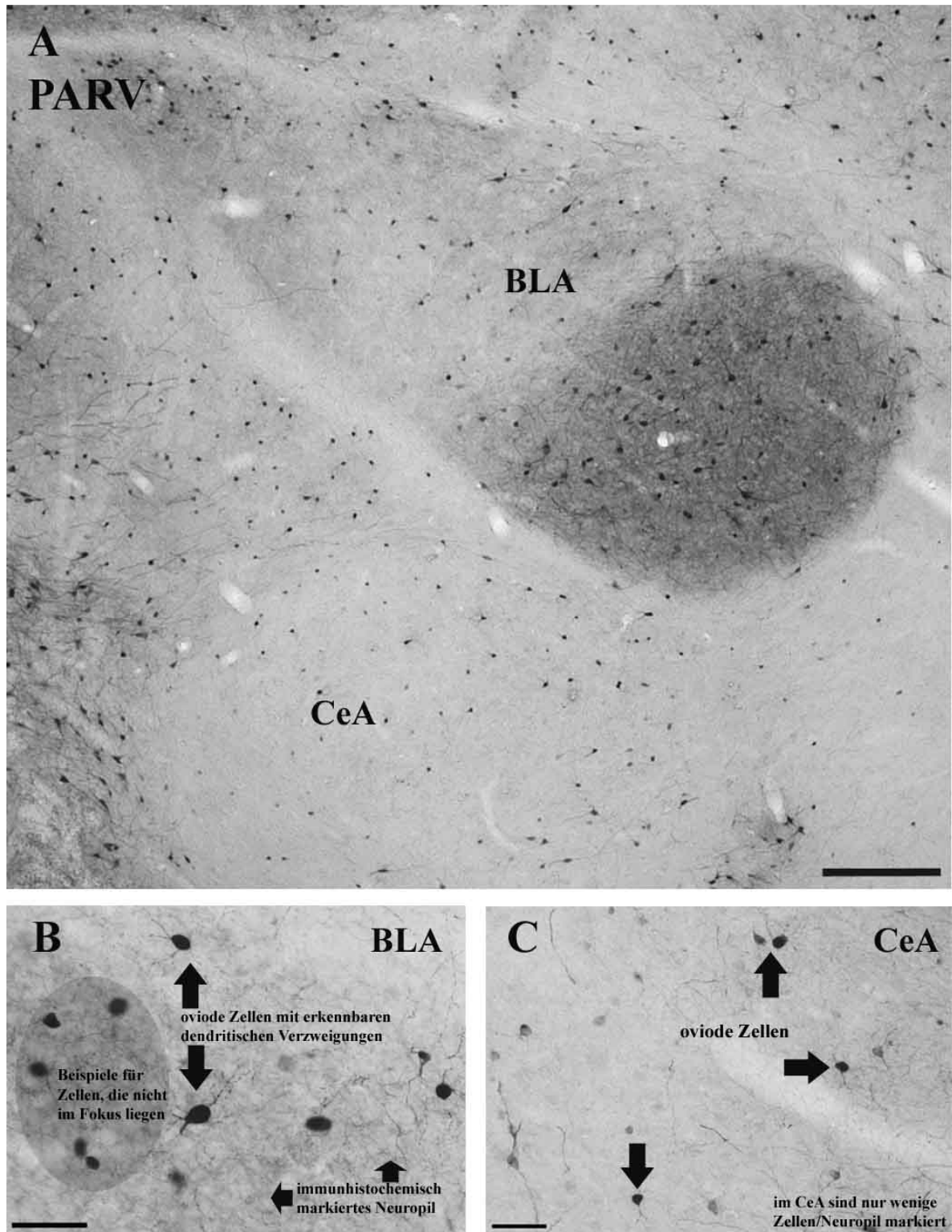


Abbildung 68: Immunhistochemische PARV-Färbung in der Amygdala

**Legende:** (A) Übersichtsdarstellung, (B) Darstellung PARV-immunreaktiver Zellen im basolateralen Kernkomplex der Amygdala (Zellen, die nicht im Fokus lagen, entfielen aus der Analyse), (C) Darstellung PARV-immunreaktiver Zellen im zentralen Kern der Amygdala; BLA, basolaterale Amygdala; CeA, zentraler Kern der Amygdala. Der Maßbalken entspricht 250  $\mu\text{m}$  (A), 50  $\mu\text{m}$  (B, C).

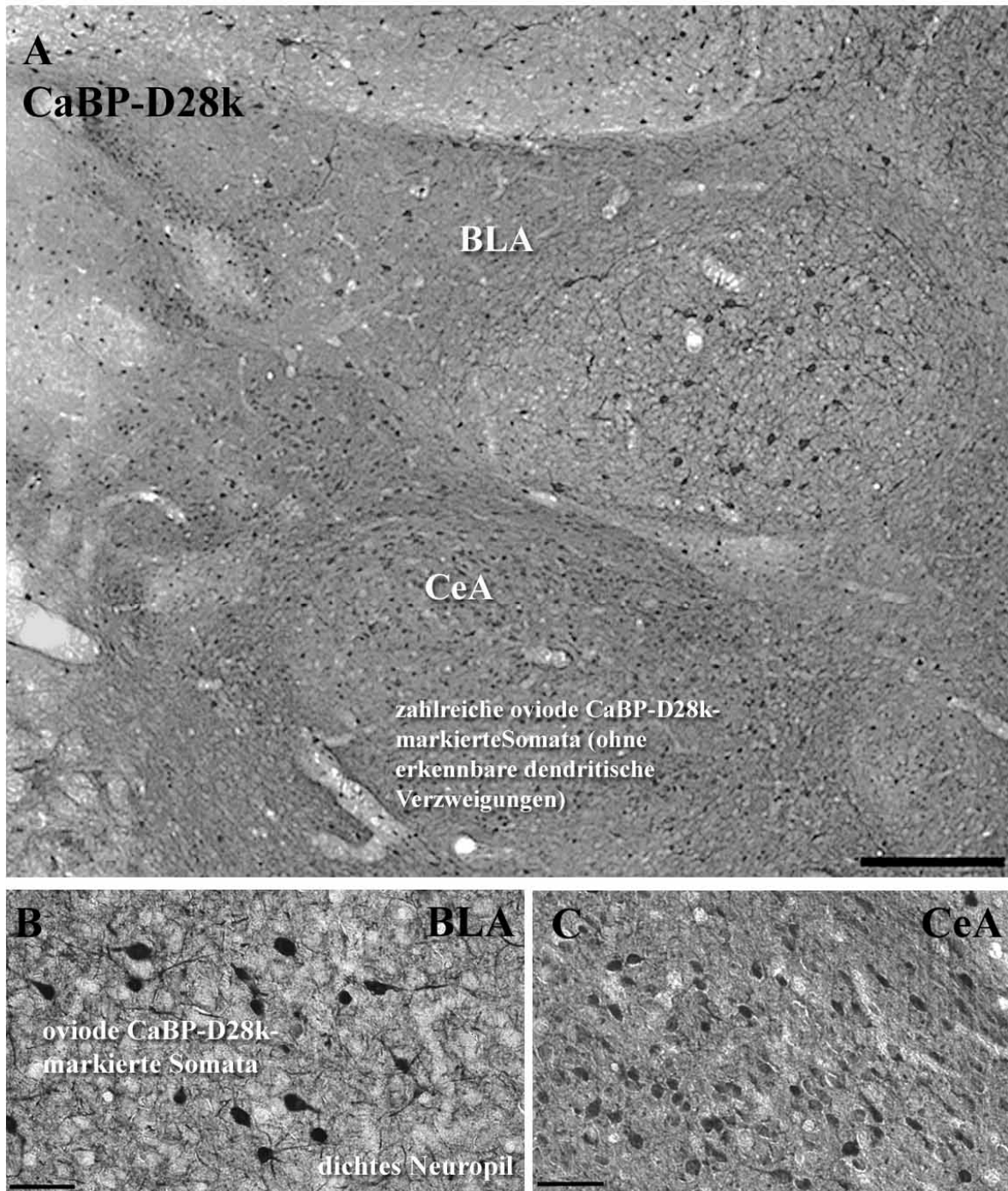
*CaBP-D28k-exprimierende Neurone in der Amygdala:*

Abbildung 69: Immunhistochemische CaBP-D28k-Färbung in der Amygdala

**Legende:** (A) Übersichtsdarstellung, (B) Darstellung CaBP-D28k-immunreaktiver Zellen im basolateralen Kernkomplex der Amygdala, (C) Darstellung CaBP-D28k-immunreaktiver Zellen im zentralen Kern der Amygdala; BLA, basolaterale Amygdala; CeA, zentraler Kern der Amygdala. Sterne markieren ungefärbte Somata. Der Maßbalken entspricht 250 µm (A), 50 µm (B, C).

Die statistische Analyse (3-Wege-ANOVA) zeigte signifikante Unterschiede in der Dichte CaBP-D28k-exprimierender Neurone sowohl im basolateralen Kernkomplex (Abbildung

69A, B), als auch im zentralen Kern der Amygdala (Abbildung 69C). Vaterdeprivierte Degus wiesen eine erniedrigte Zelldichte im Vergleich zu Tieren aus biparentalen Familien auf (Tabelle 29). Unterschiede zwischen den beiden analysierten Altersstufen oder beiden Hemisphären, ebenso wie Interaktionen zwischen den untersuchten Parametern (Gruppenzugehörigkeit, Alter und Hemisphäre) ließen sich nicht bestimmen (Tabelle 29).

#### 4.3.2.3 Änderungen des extra-hypothalamischen CRF-Systems

In Abbildung 70 sind schematisch CRF-haltige Somata des basolateralen Kernkomplexes und CRF-markierte Fasern des zentralen Kerns der Amygdala zu sehen.

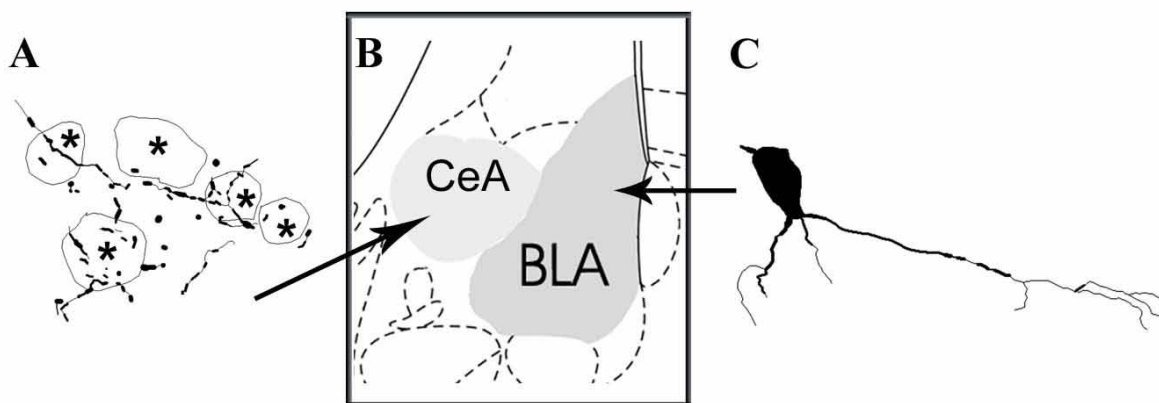


Abbildung 70: Basolateraler Kernkomplex und zentraler Kern der Amygdala (B), sowie CRF-markierte Fasern um nicht-markierte Zellen (Sterne) (A) und CRF-positive Zellen (C) in diesen Regionen

**Legende:** Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.; Zeichnung erstellt mit dem NeuroLucida-System (MicroBrightfield).

Die 3-Wege-ANOVA zeigte in der Analyse der Dichte CRF-exprimierender Neurone im basolateralen Komplex der Amygdala signifikante Unterschiede zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren. Deprivierte Degus zeigten signifikant erhöhte Zelldichten (Tabelle 29). Signifikante Unterschiede ließen sich zudem für den Faktor Alter der Tiere, d.h. Jungtiere haben höhere Zelldichten, als erwachsene Degus nachweisen (Tabelle 29). Eine signifikante Wechselwirkung wurde zudem zwischen Gruppenzugehörigkeit und Alter nachgewiesen (Abbildung 71; Tabelle 29).



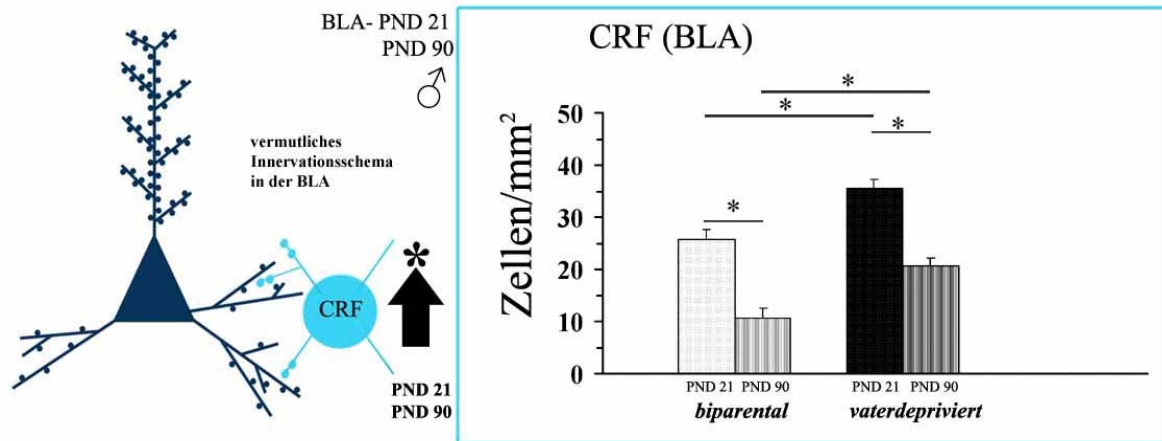
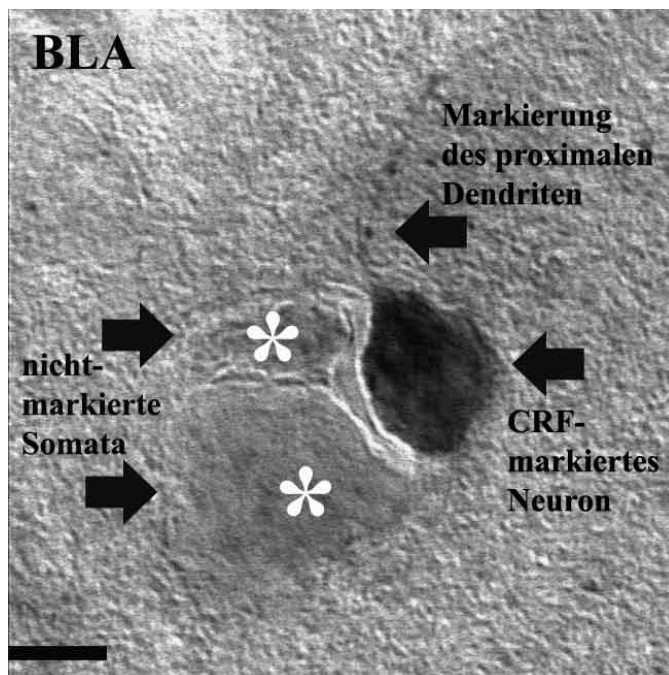


Abbildung 71: Unterschiede in der Dichte CRF-exprimierender Zellen in der BLA zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Degus

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $P < 0.05$ ).



Der post-hoc Tukey-Test ließ signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen für beide Altersstufen insofern erkennen, dass Jungtiere und adulte Degus, die ohne Vater herangewachsen sind, eine höhere Zelldichte als Tiere aus biparentalen Familien zeigten.

Abbildung 72: CRF-immunreaktives Neuron in der BLA, das an nicht-markierte Somata (Sterne) angrenzt

**Legende:** Darstellung eines CRF-immunreaktiven Neurons in Benachbarung zu ungefärbten Somata (Sterne) im basolateralen Kernkomplex der Amygdala. Der Maßbalken entspricht 5  $\mu$ m.

Weiterhin zeigten sich signifikante Altersunterschiede zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Degus: Jungtiere zeigten eine höhere Zelldichte als adulte Tiere (Abbildung 71; Tabelle 29). Unterschiede zwischen rechter und linker Hemisphäre, auch in Interaktion mit den anderen Parametern (Gruppe und Alter) konnten statistisch nicht nachgewiesen werden (Tabelle 29).

Im zentralen Kern, der vor allem durch ein dichtes Netzwerk CRF-markierter Fasern (vgl. dazu die schematische Zeichnung CRF-markierter Fasern des CeA in Abbildung 70) gekennzeichnet ist und deren Dichte densitometrisch erfasst wurde, konnten keine Unterschiede zwischen Degus aus deprivierten und biparentalen Familien bestimmt werden

(Tabelle 29). Die folgende Abbildung 73A zeigt das dichte Netzwerk CRF-positiver Fasern im CeA und Abbildung 73B-D wie diese Fasern ungefärbte Somata umschließen.

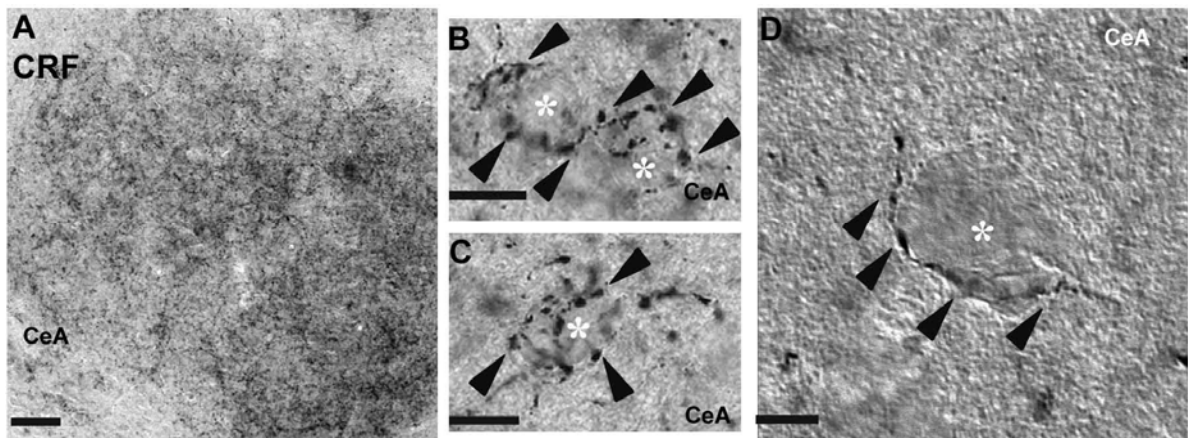


Abbildung 73: CRF-immunreaktive Fasern im zentralen Kern der Amygdala (CeA)

**Legende:** (A) Übersichtsdarstellung zur CRF-Markierung im zentralen Kern der Amygdala, (B bis D), Darstellung CRF-immunreaktiver Fasern (Pfeilspitzen) in unmittelbarer Nähe zu ungefärbten Somata (Sterne). Der Maßbalken entspricht 50  $\mu\text{m}$  (A), 10  $\mu\text{m}$  (B,C), 5  $\mu\text{m}$  (D).

#### 4.3.2.4 Umgestaltung katecholaminerger Fasersysteme

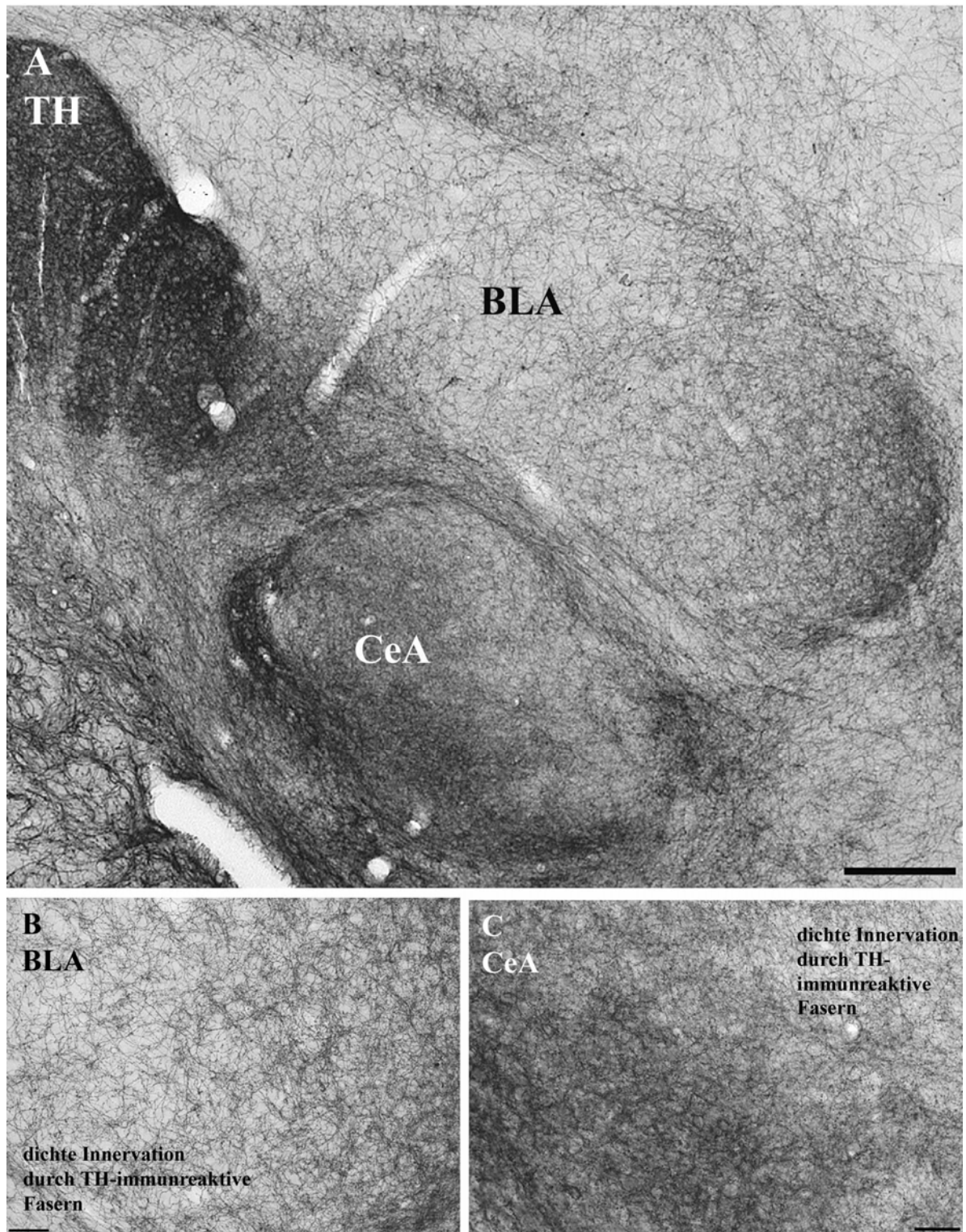
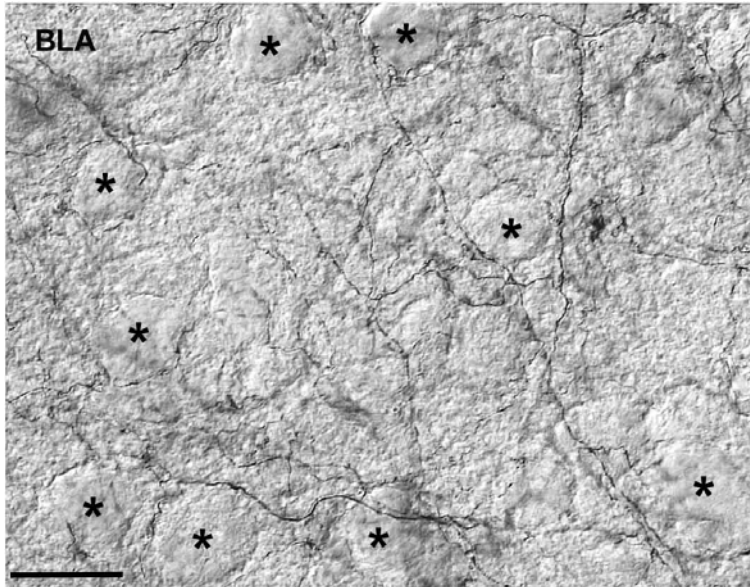


Abbildung 74: Immunhistochemische TH-Färbung in der Amygdala

**Legende:** (A) Übersichtsdarstellung, (B) Darstellung TH-immunreaktiver Fasern im basolateralen Kernkomplex der Amygdala, (C) Darstellung TH-immunreaktiver Fasern im zentralen Kern der Amygdala; BLA, basolaterale Amygdala; CeA, zentraler Kern der Amygdala. Der Maßbalken entspricht 250 µm (A), 50 µm (B, C).

Die Analyse der Dichte TH-immunreaktiver Fasern im basolateralen Kernkomplex der Amygdala (Abbildung 74A, B) zeigte signifikante Unterschiede zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Degus. Deprivierte Tiere zeigten eine signifikant erniedrigte Dichte TH-immunreaktiver Fasern im Vergleich zu Degus aus Kontrollfamilien (Tabelle 29). Unterschiede zwischen den untersuchten Altersstadien, sowie den



Hemisphären oder aber Interaktionen konnten nicht bestimmt werden (Tabelle 29).

Abbildung 75: TH-Färbungen im basolateralen Kernkomplex der Amygdala

**Legende:** TH-immunpositive Fasern umranken nicht-gefärbte Somata (Sterne). Der Maßbalken entspricht 20  $\mu\text{m}$ .

Im zentralen Kern der Amygdala (Abbildung 74A, C) konnten ebenfalls Unterschiede zwischen Kontroll- und teildeprivierten Tiere bestimmt werden. Biparental aufgewachsene Tiere zeigten im Vergleich zu vaterdeprivierten Degus geringere Dichten TH-immunpositiver Fasern. Zugleich waren signifikante Unterschiede zwischen beiden Altersstufen nachweisbar, d.h. Jungtiere zeigen eine niedrigere Faserdichte als adulte Degus (Tabelle 29).

Im anschließenden Post-hoc-Test (Tukey-Test) konnten signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen am PND 21 bestimmt werden. Jungtiere, die ohne Vater herangewachsen sind, zeigen höhere Faserdichten als Tiere aus biparentalen Familien. Der Tukey-Test zeigte im weiteren signifikante Altersunterschiede in der biparentalen Gruppe, insofern, dass Jungtiere geringere Faserdichten zeigen als adulte Degus (Abbildung 76; Tabelle 29) Die Analyse ließ keine Hemisphärenunterschiede beobachten (Tabelle 29).

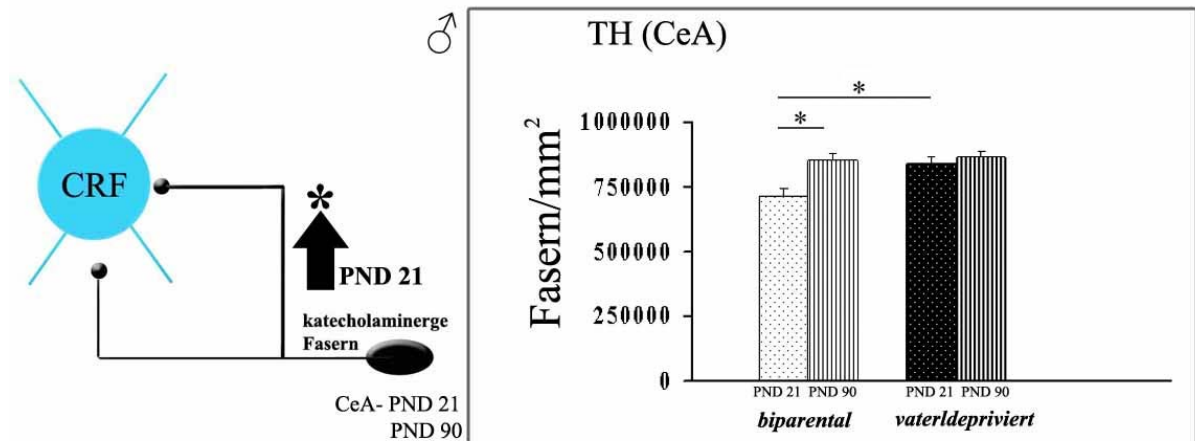


Abbildung 76: Dichteveränderungen TH-markierter Fasern im CeA: Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Jungtieren

**Legende:** TH-immunreaktive Fasern innervieren CRF-exprimierende Neurone im zentralen Kern der Amygdala. Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

#### 4.3.2.5 Zusammenfassung der Ergebnisse in der Amygdala

Das Schema in Abbildung 77 zeigt zusammengefasst die Ergebnisse der quantitativen morphologischen, wie auch der neurochemischen Analyse des basolateralen Kernkomplexes und des zentralen Kerns der Amygdala. Vaterdeprivierte Jungtiere zeigten eine signifikante Reduktion der Spinedichte, wie auch der Spinezahl in der lateralen Amygdala beobachten, wobei im Erwachsenenalter ein Zunahme der Zahl dendritischer Verzweigungen zu beobachten ist.

Allein von der Mutter aufgezogene Degus zeigten zudem eine signifikante Zunahme der Zelldichte PARV-immunreaktiver Interneurone (Jungtiere, wie auch erwachsene Degus) und eine Abnahme CaBP-D28k-exprimierender Zellen im basolateralen Kernkomplex, sowie im zentralen Kern der Amygdala. Vaterdeprivierte Degus zeigten eine signifikante Zunahme der Dichte CRF-positiver Zellen im basolateralen Kernkomplex der Amygdala, eine Verringerung der Dichte TH-immunreaktiver Fasern im basolateralen Kernkomplex der Amygdala und vaterdeprivierte Jungtiere zudem eine erhöhte Dichte TH-immunreaktiver Fasern im zentralen Kern der Amygdala.

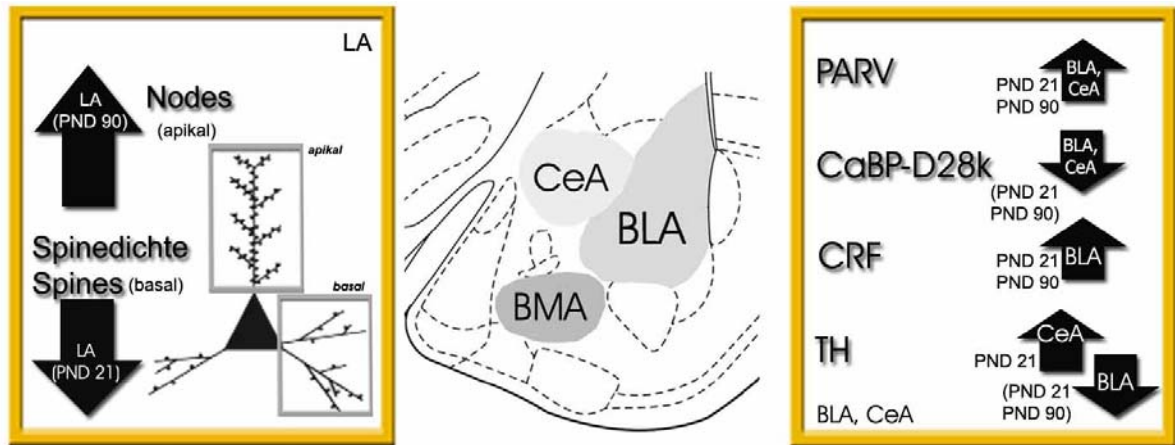


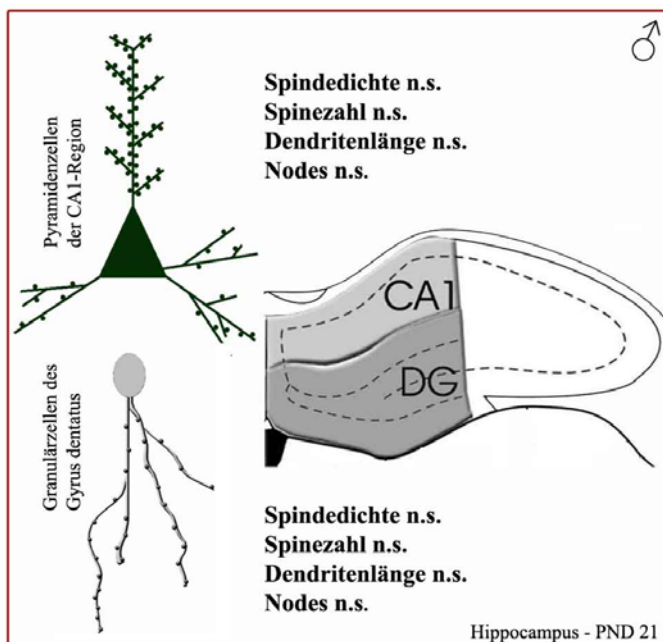
Abbildung 77: Zusammenfassung der Ergebnisse in der Amygdala

**Legende:** Nach oben gerichteter Pfeil entspricht einer Zunahme, nach unten gerichteter Pfeil einer Abnahme des entsprechenden Parameters bei den vaterdeprivierten Tieren, waagerechte Pfeile weisen auf keine Unterschiede hin; Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). The rat brain in stereotaxic coordinates. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.

### 4.3.3 Hippocampus

#### 4.3.3.1 Morphologische Änderungen hippocampaler Projektionsneurone

Die Analyse des Gyrus dentatus und der CA1-Region des Hippocampus biparental aufgewachsener und vaterdeprivierter Jungtiere wurde im Rahmen einer studentischen Projektarbeit nicht von mir selbst durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Studie ergaben keine signifikanten Unterschiede in der Spinedichte, der Spinezahl, Länge der Dendriten und der Zahl dendritischer Verzweigungen zwischen beiden Experimentalgruppen in beiden



hippocampalen Regionen (Gyrus dentatus und CA1-Region) (Abbildung 78).

Die Analyse adulter Degus wird sich aufgrund des Umfangs der Auswertung an diese Arbeit anschließen.

Abbildung 78: Analyse exzitatorischer Projektionsneurone im Hippocampus von Jungtieren (PND 21): Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren

**Legende:** Die Abbildung zeigt schematisch, dass sowohl in der CA1-Region, wie auch im Gyrus dentatus des Hippocampus keine Änderungen in der Morphologie exzitatorischer Projektionsneurone nachweisbar waren.

#### 4.3.3.2 Modifikationen des inhibitorischen Systems

In Abbildung 79 sind schematisch eine PARV-positive Zelle (B) im Gyrus dentatus und die analysierten Subregionen des Hippocampus (A) zu sehen.

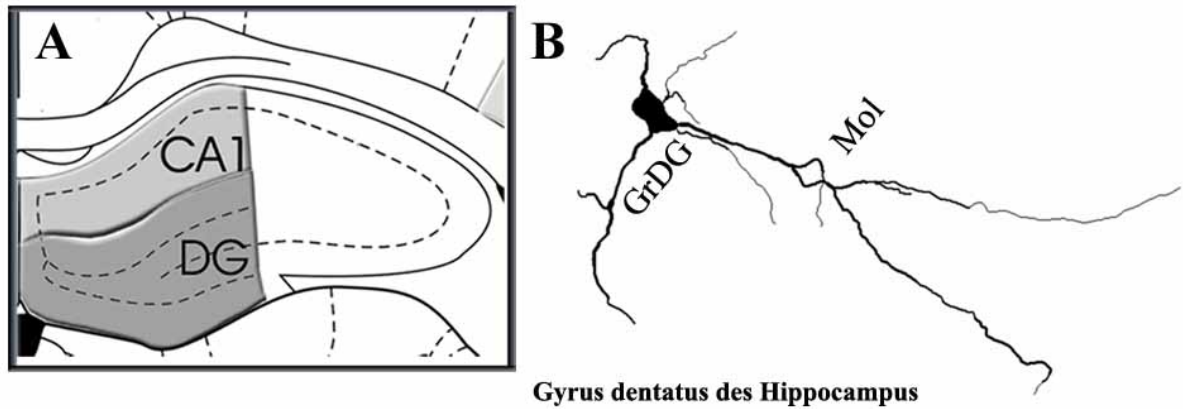


Abbildung 79: Subregionen des Hippocampus (A) und PARV-positives Interneuron im Gyrus dentatus des Hippocampus (B)

**Legende:** Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.; Zeichnung erstellt mit dem NeuroLucida-System (MicroBrightfield).

Abbildung 80 zeigt immunhistochemisch gefärbte PARV- und CaBP-D28k-positive GABAerge Neurone im Gyrus dentatus und der CA1-Region des Hippocampus.

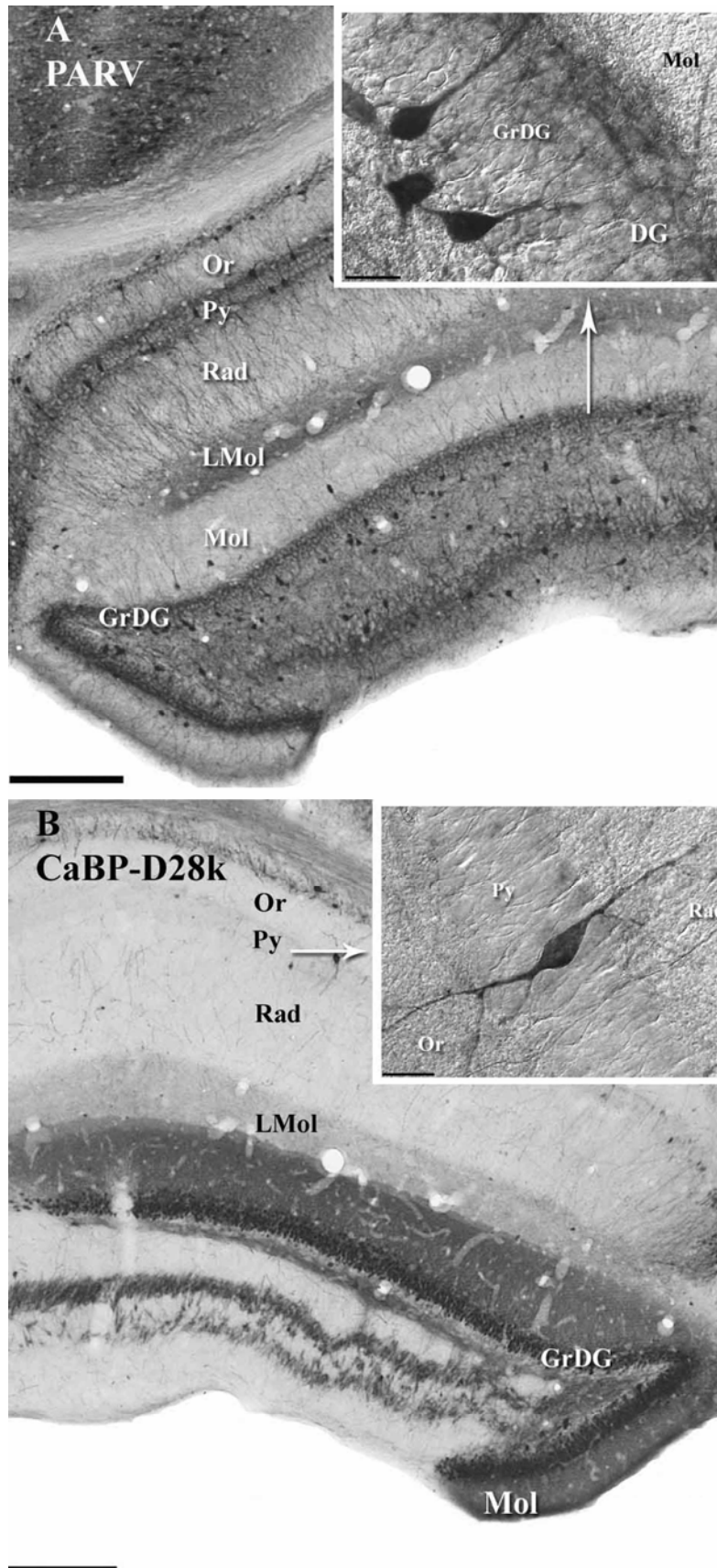
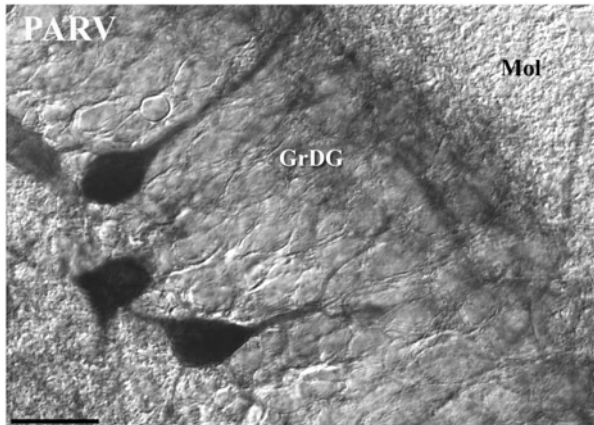


Abbildung 80: Immunhistochemische PARV(A)- und CaBP-D28k(B)-Färbungen im Hippocampus

**Legende:** (A) Übersichtsdarstellung der PARV-Färbung im Hippocampus, (B) Übersichtsdarstellung der CaBP-D28k-Färbung im Hippocampus; GrDG, stratum granulosum; Mol, stratum moleculare; LMol, stratum lacunosum-moleculare; Rad, stratum radiatum; Py, stratum pyramidale; Or, stratum oriens. Der Maßbalken entspricht 250 µm (A, B).



**PARV-exprimierende Interneurone im Hippocampus:** Die 3-Wege-ANOVA zeigte in der schichten- und regionsspezifischen Analyse folgende Unterschiede: im stratum moleculare (Mol), im stratum pyramidale (Py) und in der CA1-Region sind signifikante Unterschiede zwischen beiden Untersuchungsgruppen festzustellen. In der Molekularschicht des Gyrus



dentatus ist die ermittelte Zelldichte in der Gruppe der vaterdeprivierten Tiere größer im Vergleich zu biparentalen Tieren (Abbildung 82; Tabelle 29).

Abbildung 81: PARV-Färbung im Gyrus dentatus des Hippocampus

**Legende:** Mol, stratum moleculare; GrDG, stratum granulosum. Der Maßbalken entspricht 20 µm.

In der CA1-Region und deren inhärenter Pyramidenzellschicht sind die Verhältnisse dagegen entgegengesetzt (Abbildung 82; Tabelle 29). Signifikante Unterschiede hinsichtlich einer erhöhten Zelldichte juveniler im Kontrast zu adulten Tieren sind im stratum moleculare, granulosum, lacunosum-moleculare & radiatum, pyramidale und oriens, im Gyrus dentatus, sowie der CA1-Region nachweisbar (Tabelle 29). Signifikante Interaktionen zwischen den Faktorstufen Gruppenzugehörigkeit und Alter der Tiere ließen sich zudem in der Molekularschicht des Gyrus dentatus und der Pyramidenzellschicht der CA1-Region ermitteln (Tabelle 29). Der anschließende Post-hoc-Test (Tukey-Test) zeigte im stratum moleculare des Gyrus dentatus eine signifikant erhöhte Zelldichte vaterdeprivierter Jungtiere im Vergleich zu Tieren aus biparental Familien und eine höhere Zelldichte juveniler im Vergleich zu adulten Tieren (Abbildung 82; Tabelle 29). Im stratum pyramidale der CA1-Region ist eine signifikant erhöhte Zelldichte im Vergleich vaterdeprivierter zu biparental herangewachsenen Jungtieren nachweisbar (Abbildung 82; Tabelle 29). Erwachsene vaterdeprivierte Degus dagegen zeigten eine signifikant erniedrigte Zelldichte im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Tieren (Abbildung 82; Tabelle 29). Im stratum pyramidale zeigten zudem biparental aufgewachsene, wie auch vaterdeprivierte Jungtiere eine höhere Zelldichte als adulte (Abbildung 82; Tabelle 29). Hemisphärenunterschiede konnten weder in der regions-, noch in der schichtenspezifischen Analyse bestimmt werden (Tabelle 29).

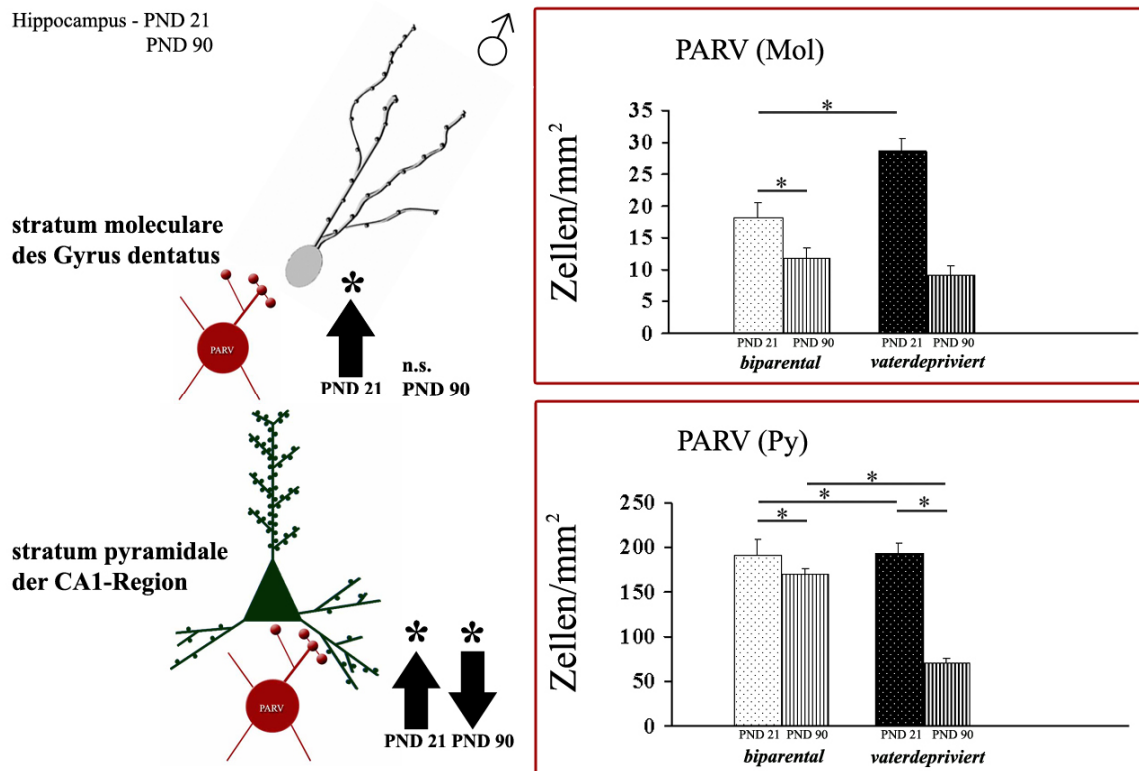


Abbildung 82: Veränderungen in der Zelldichte PARV-positiver Neurone: Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren (dargestellt sind nur signifikante Interaktionen der Faktoren Aufzuchtbedingung und Alter der Tiere)

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ); Innervationsschema adaptiert nach Freund (2003). Dargestellt sind nur signifikante Interaktionen der Faktoren Aufzuchtbedingung und Alter der Tiere.

**CaBP-D28k-exprimierende Neurone im Hippocampus:** In der statistischen Analyse (3-Wege-ANOVA) konnten lediglich für das stratum granulosum des Gyrus dentatus signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen bestimmt werden. CaBP-D28k-exprimierende Zellen, d.h. die Granulärzellen (Scharfman et al., 2000), traten in der Gruppe vaterdeprivierter Degus in höherer Dichte in Erscheinung als bei Tieren der biparentalen Kontrollgruppe (Tabelle 29). Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Altersstadien, d.h. eine höhere Zelldichte in juvenilen im Gegensatz zu adulten Degus, zeigten sich im stratum moleculare und dem Gyrus dentatus, sowie im stratum pyramidale und oriens der CA1-Region (Tabelle 29). Eine Wechselwirkung beider Parameter ließ sich lediglich im stratum oriens bestimmen (Tabelle 29). Der Tukey-Test (post-hoc) zeigte jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Faktorstufen (Tabelle 29). Hemisphärenunterschiede waren weder in der regions- noch schichtenspezifischen Analyse bestimmbar (Tabelle 29).

#### 4.3.3.3 Änderungen des extra-hypothalamischen CRF-Systems

Abbildung 84 zeigt schematisch eine komplett markierte CRF-positive Zelle im Gyrus dentatus des Hippocampus.

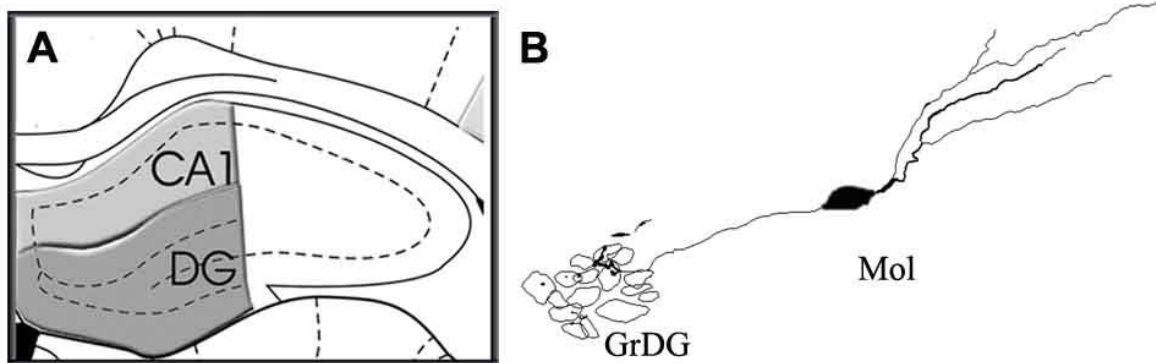


Abbildung 83: Subregionen des Hippocampus (A) und CRF-immunreaktives Neuron (schwarz) im stratum moleculare mit Kontakten zu Granulärzellen (weiß) im stratum granulosum (B)

**Legende:** Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). The rat brain in stereotaxic coordinates. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.; Zeichnung erstellt mit dem Neurolucida-System (MicroBrightfield).

Die statistische Analyse (3-Wege-ANOVA) zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen im Gyrus dentatus, im stratum pyramidale und oriens der CA1-Region, wobei vaterdeprivierte Tiere im Vergleich zu Tieren aus biparentalen Familien verringerte Zelldichten aufwiesen (Abbildung 85; Tabelle 29). Signifikante Unterschiede in der Dichte der CRF-Zellpopulation (Abbildung 85) zwischen den untersuchten Altersstadien konnten im stratum moleculare, granulosum, lacunosum-moleculare & radiatum, sowie im Gyrus dentatus und der CA1-Region ermittelt werden. Jungtiere weisen in diesen Schichten bzw. Regionen eine höhere Zelldichte als adulte Degus auf (Tabelle 29). Wechselwirkungen beider Parameter (Gruppenzugehörigkeit und Alter) zeigten sich im stratum granulosum und im Gyrus dentatus (Tabelle 29). Der anschließende Post-hoc-Test (Tukey-Test) zeigte für den Gyrus dentatus tendenzielle (PND 21) bzw. signifikante (PND 90) Unterschiede innerhalb der beiden analysierten Altersstufen, d.h. juvenile und adulte Degus, die ohne Vater herangewachsen sind, besitzen niedrigere Zelldichten als biparental aufgewachsene Tiere. Vaterdeprivierte juvenile Degus zeigten zudem signifikant höhere Zelldichten als vaterdeprivierte adulte Tiere (Abbildung 85; Tabelle 29).

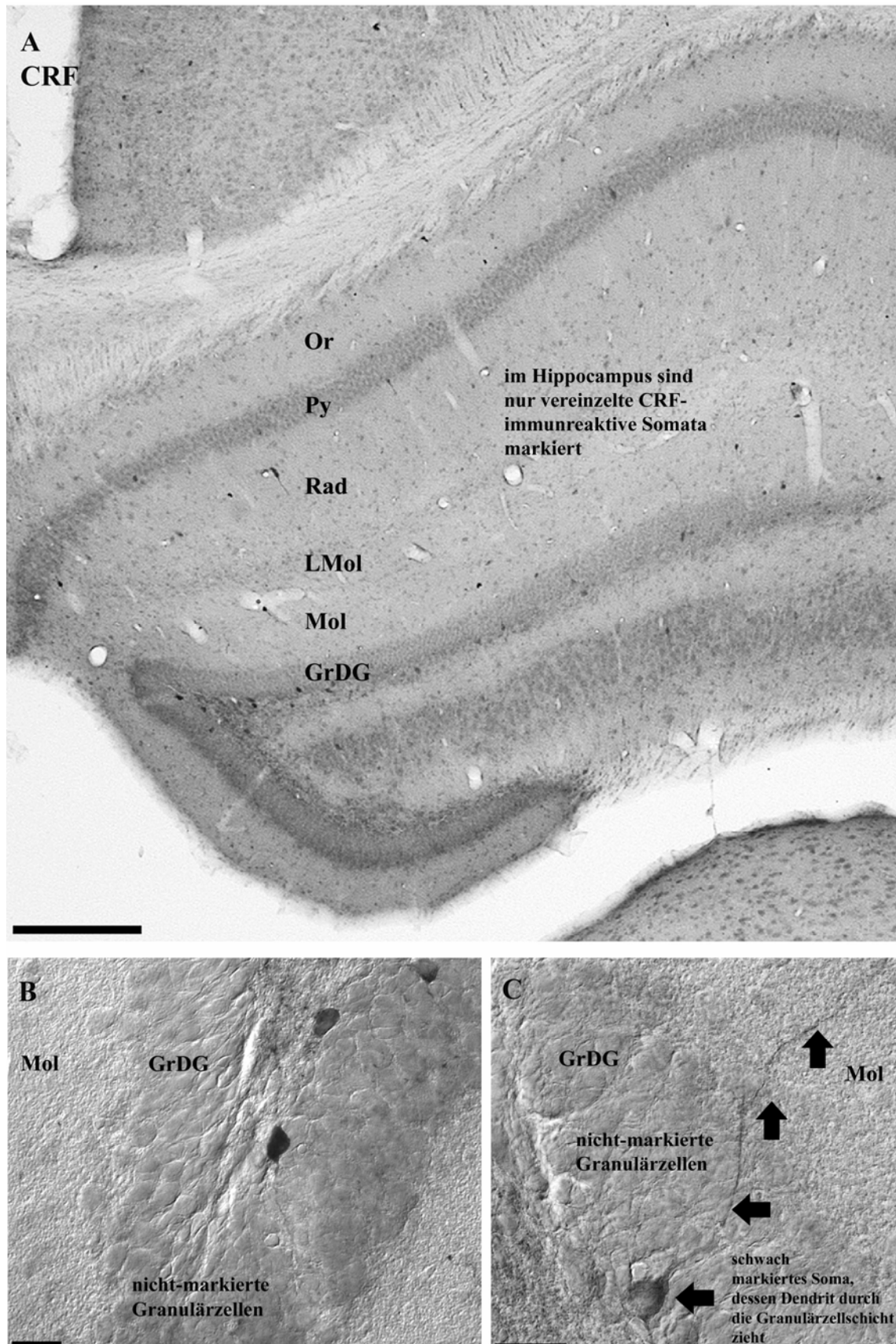


Abbildung 84: Immunhistochemische CRF-Immunfärbung im Hippocampus

**Legende:** (A) Übersichtsdarstellung der CRF-Markierung im Gyrus dentatus und der CA1-Region des Hippocampus, (B, C) Darstellung einzelner markierter CRF-immunreaktiver Neurone im Gyrus dentatus; GrDG, stratum granulosum; Mol,

stratum moleculare; LMol, stratum lacunosum-moleculare; Rad, stratum radiatum; Py, stratum pyramidale; Or, stratum oriens. Der Meßbalken entspricht 250 µm (A), 20 µm (B, C).

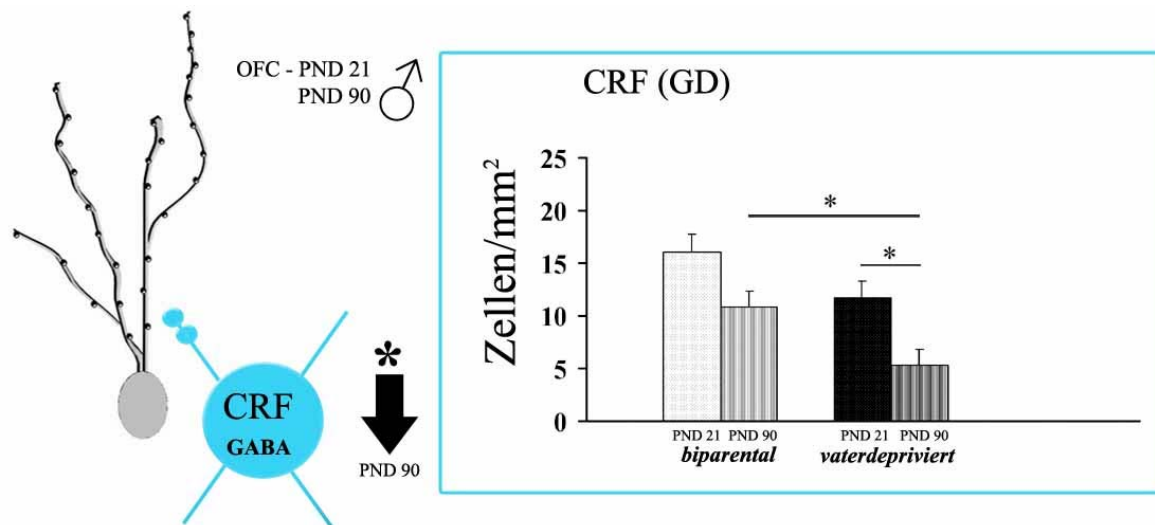


Abbildung 85: Veränderungen in der Zelldichte CRF-positiver Zellen im Gyrus dentatus: Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

Hemisphärenunterschiede waren weder in der regions- noch schichtenspezifischen Analyse nachweisbar, jedoch ließ sich eine tendenzielle Interaktion zwischen Alter und Hemisphäre im stratum oriens beobachten (Tabelle 29).

#### 4.3.3.4 Umgestaltung katecholaminerger Fasersysteme

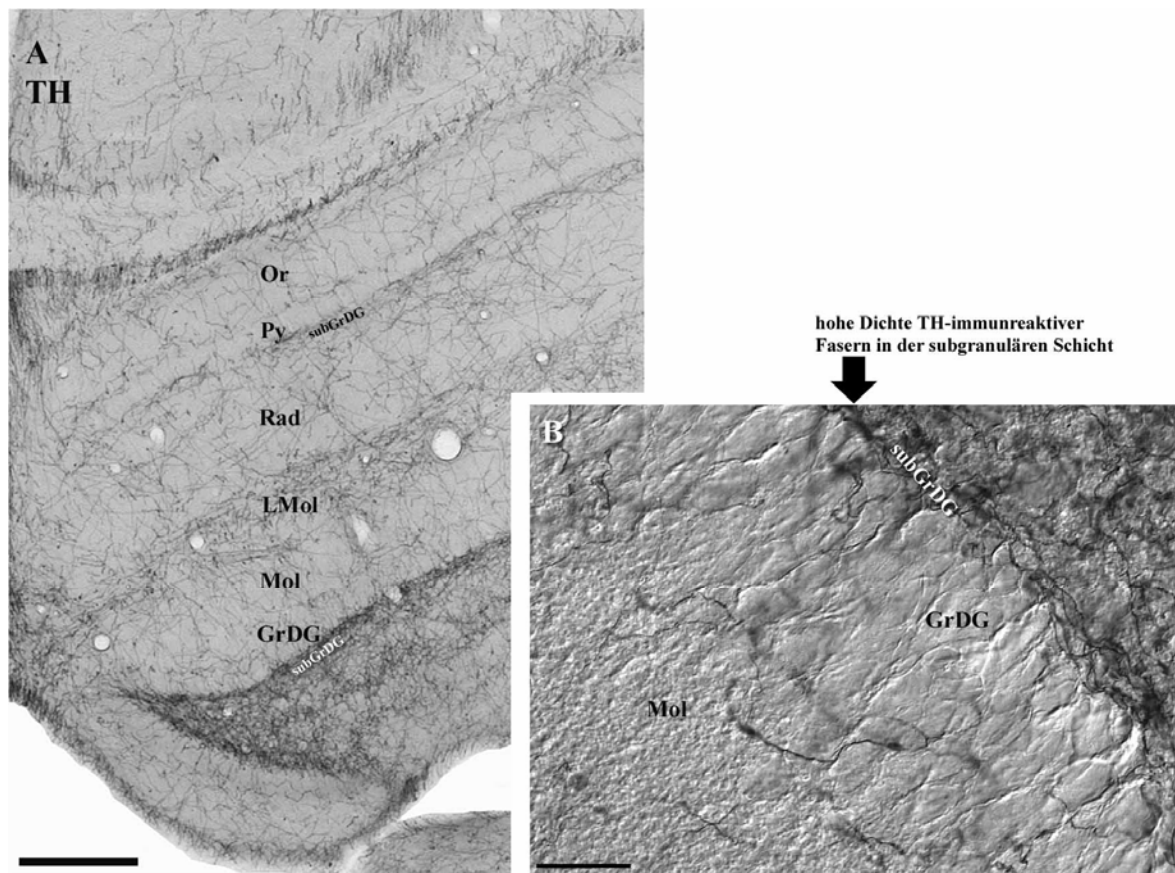


Abbildung 86: Immunhistochemische TH-Färbung im Hippocampus

**Legende:** subGrDG, subgranuläre Schicht; GrDG, stratum granulosum; Mol, stratum moleculare; LMol, stratum lacunosum-moleculare; Rad, stratum radiatum; subPy, subpyramidale Schicht; Py, stratum pyramidale; Or, stratum oriens. Der Maßbalken entspricht 250 µm (A), 20 µm (B).

Signifikante Unterschiede, d.h. eine erhöhte Dichte TH-immunmarkierter Fasern bei den vaterdeprivierten im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Degus konnten mit Hilfe der 3-Wege-ANOVA im stratum moleculare, sub-granulosum, lacunosum-moleculare, radiatum, sub-pyramidale, pyramidale und oriens, sowie im Gyrus dentatus und der CA1-Region nachgewiesen werden (Tabelle 29). Signifikante Unterschiede zwischen den Altersstufen zeigten sich im stratum sub-granulosum, lacunosum-moleculare, radiatum, sub-pyramidale und oriens, im Gyrus dentatus und der CA1-Region (Tabelle 29). Wechselwirkungen beider Faktoren ließen sich lediglich in der sub-pyramidalen Schicht und tendenziell in der CA1-Region bestimmen (Abbildung 87; Tabelle 29). In der sub-pyramidalen Schicht zeigte der Post-hoc-Test (Tukey-Test) signifikante Unterschiede innerhalb der beiden analysierten Altersstufen, d.h. Jungtiere und adulte Degus, die ohne Vater herangewachsen sind, zeigen höhere Faserdichten als Tiere aus biparentalen Familien. Zudem zeigten Jungtiere beider Experimentalgruppen höhere Faserdichten, als

erwachsene Tiere (Abbildung 87; Tabelle 29). Hemisphärenunterschiede ließen sich weder in der regions- noch in der schichtenspezifischen Analyse beobachten (Tabelle 29).

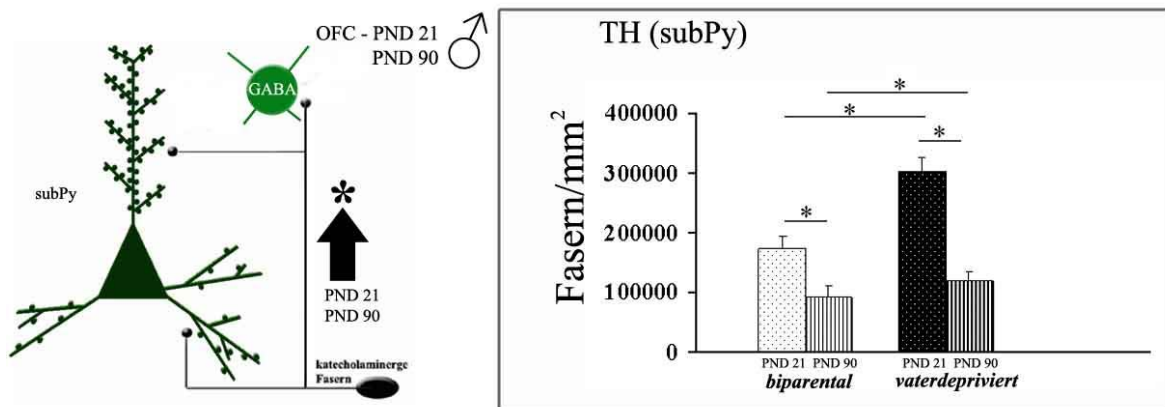


Abbildung 87: Dichteveränderungen TH-immunreaktiver Fasern im Hippocampus junger Degus: Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ).

#### 4.3.3.5 Zusammenfassung der Ergebnisse im Hippocampus

Abbildung 88 zeigt zusammengefasst die Ergebnisse der neuromorphologischen und neurochemischen Analyse in den analysierten Subregionen des Hippocampus. In der Analyse exzitatorischer Projektionsneurone am PND 21 konnten keine Unterschiede zwischen beiden Untersuchungsgruppen nachgewiesen werden. Ohne Vater herangewachsene Degus zeigten jedoch eine schichten- und regionsspezifische Zunahme (Mol) bzw. Abnahme (Py, CA1) der Zelldichte PARV-exprimierender Interneurone, der Dichte CaBP-D28k-immunpositiver Neurone in der Granulärzellschicht (Zunahme), der Dichte CRF-positiver Zellen im Gyrus dentatus, sowie im stratum pyramidale und oriens der CA1-Region (Abnahme), sowie eine deutliche Erhöhung der Dichte TH-immunreaktiver Fasern in fast allen analysierten Schichten des Hippocampus. Keine Änderungen zeigten sich in der morphologischen Analyse prinzipaler Zellen des Gyrus dentatus und der CA1-Region.

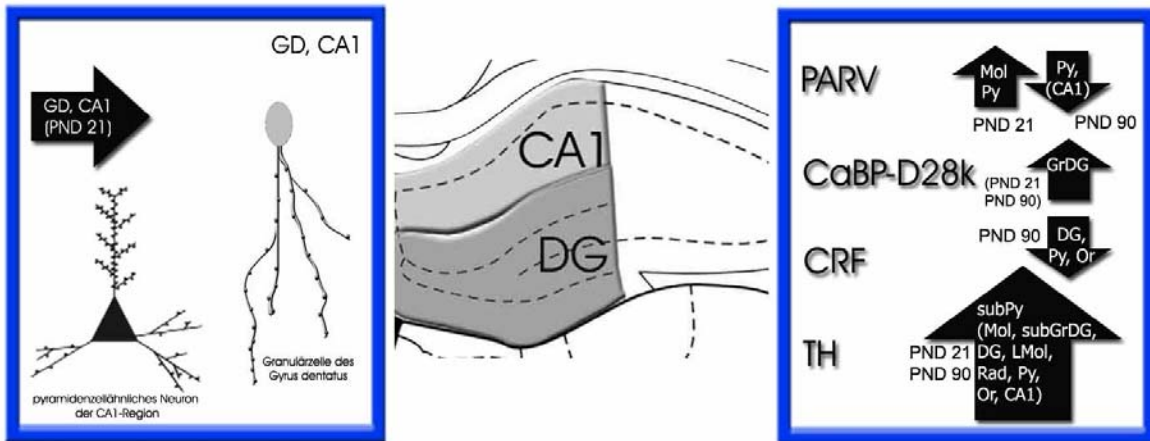


Abbildung 88: Zusammenfassung der Ergebnisse im Hippocampus

**Legende:** Nach oben gerichteter Pfeil entspricht einer Zunahme, nach unten gerichteter Pfeil einer Abnahme des entsprechenden Parameters bei den vaterdeprivierten Tieren, waagerechte Pfeile weisen auf keine Unterschiede hin; Neuroanatomische Schnitte in Anlehnung an Paxinos, G. & Watson, C. (2004). The rat brain in stereotaxic coordinates. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.

#### 4.3.4 Vergleich der Gehirn- und Körpergewichte

Wie Tabelle 30 zeigt, konnten zwischen den Untersuchungsgruppen statistisch bedeutsame Unterschiede im Körpergewicht noch im Hirngewicht bestimmt werden. Eine Ausnahme bildet der Vergleich der perfusionsfixierten Hirne im adulten Altersstadium. Vaterdeprivierte erwachsene im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Degus wiesen ein signifikant erhöhtes Hirngewicht auf (Abbildung 89; Tabelle 30).

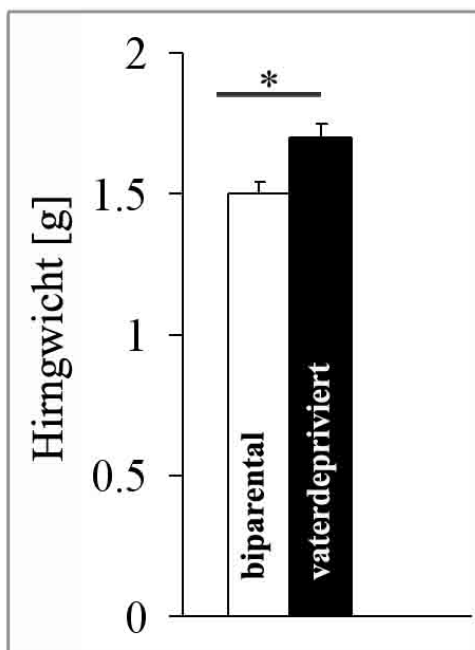


Abbildung 89: Unterschiede im Hirngewicht

**Legende:** Angegeben sind die Mittelwerte und Standardfehler. Sternchen zeigen signifikante Unterschiede.



## 5 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war, herauszufinden, welchen Einfluss väterliche Fürsorge auf die Entwicklung sozialer und kognitiver Verhaltensweisen, sowie die Reifung präfrontaler und limbischer Regionen seiner Nachkommen ausübt.

Durch die Untersuchung sozialer Verhaltensweisen im Familienverband, des Explorations- und Angstverhaltens in einer fremden Umgebung, des Lern- und impulsiven Verhaltens wurde nachgewiesen, dass das Fehlen väterlicher Fürsorge während der frühen postnatalen Entwicklung zu signifikanten Änderungen des Verhaltens der Jung- und erwachsenen Tiere führt. Durch die Quantifizierung des exzitatorischen synaptischen Inputs auf Pyramidenzellen, den immunhistochemischen Nachweis und die quantitative Analyse GABAerger und CRF-exprimierender Zellen, sowie modulatorischer, katecholaminerger Fasersysteme konnte zudem gezeigt werden, dass väterliche Fürsorge einen entscheidenden Beitrag zur Reifung morphologischer und neurochemischer neuronaler Netzwerke in präfrontalen und limbischen Regionen leistet.

Die Heterogenität dieser Ergebnisse spiegelt dabei die Komplexität der Bedeutung väterlicher Fürsorge wieder. In der folgenden Diskussion wird demzufolge zunächst besonderer Wert auf die Ergebnisse einzelner Verhaltenskomponenten bzw. neuronaler Systeme gelegt, um abschließend eine Integration der Daten in ein Gesamtbild vorzunehmen. Begonnen wird die Diskussion jedoch mit einer kritischen Beleuchtung der angewandten Methodik.

### 5.1 Methodologische Überlegungen

#### *Die Analyse des sozialen Verhaltens im Familienverband*

##### *Analyse des Mutterverhaltens*

Im Familienverband wurden neben den Interaktionen der Eltern mit ihren Nachkommen, ebenso die Interaktionen der Jungtiere mit ihren Eltern und ihren Geschwistern untersucht, wobei die Verhaltensanalyse im Familienverband in dem Zeitraum durchgeführt wurde, in dem die Vater-Jungtier-Kontakte komplexer werden und die Bedeutung der Mutter abnimmt (Wilson, 1982). Dementsprechend birgt die „späte“ postnatale Analyse die Möglichkeit in sich, die möglicherweise durch die Wegnahme des Vaters ausgelösten Veränderungen des Mutterverhaltens, in der Zeit, in der dieses für die Jungtiere von enormer Bedeutung ist, nicht zu entdecken.

Kritisch anzumerken, ist zudem die Tatsache, dass die Zahl der untersuchten Familien möglicherweise noch zu gering ist, da vorangegangene Studien zeigten, dass das Brutpflegeverhalten der Degufamilien recht unterschiedlich sein kann. Bspw. ist in Abbildung 37 zu erkennen, dass augenscheinlich Unterschiede im Pflegeverhalten zwischen allein erziehenden Müttern und Müttern aus biparentalen Familien bestehen, jedoch mit Hilfe der statistischen Prüfverfahren kein signifikanter Unterschied festzustellen war. Weitere Verhaltensanalysen sind derzeit in Arbeit.

#### *Analyse des Jungtierverhaltens*

Spielverhalten von Jungtieren wird in einer Vielzahl an Spezies beobachtet und zeigt einen typischen entwicklungsabhängigen Verlauf. Mit zunehmendem Alter der Tiere nimmt zumeist die Ausprägung dieses Verhaltens zu, verringert sich ab dem Zeitpunkt der Pubertät und zeigt sich in geringer Ausprägung im Erwachsenenalter (Foroud et al., 2004). Zum jetzigen Zeitpunkt scheint nur eine Untersuchung zum Spielverhalten am Degu vorzuliegen, die jedoch aufzeigt, dass Parallelen im Spielverhalten zwischen verschiedenen, nicht miteinander verwandten Spezies bestehen (Wilson & Kleiman, 1974). Demzufolge ist ein Vergleich der Ergebnisse mit Studien an anderen Tierarten, insbesondere der Ratte möglich. Die größte Problematik bei der Analyse des Verhaltens der Jungtiere war jedoch die Unterscheidung männlicher und weiblicher Jungtiere. Verschiedene Methoden, wie etwa die Rasur des Fells erschien aufgrund des zwar vorhandenen, aber feinen (kurzhaarigen) Fells der Tiere als unbrauchbar, ebenso konnten aufgrund des dunkelfarbigem Fells die bei Ratten üblichen Markierungen, bspw. mit Pikrinsäure, nicht angewandt werden. Dies sollte in weiteren Studien beachtet und nach Möglichkeit umgangen werden, um möglicherweise bestehende Geschlechtsunterschiede aufzudecken. Infolge dieser Schwierigkeit wurde jedoch darauf geachtet, dass das Geschlechterverhältnis in beiden Untersuchungsgruppen ausgeglichen war (vgl. dazu Tabelle 1).

#### ***Die Analyse des Verhaltens in der Open-Field-Arena***

##### *Analyse der Emotionalität/Ängstlichkeit*

Die Analyse des Verhaltens in der Open-Field-Arena wird bei einer Vielzahl an Spezies angewandt, um deren Reaktivität bzw. deren Explorationsverhalten, insbesondere hinsichtlich angstbezogener Verhaltensweisen in einer fremden Umgebung zu erfassen (Prut & Belzung, 2003). Die Analyse dieser Verhaltensweisen wurde in der vorliegenden Arbeit an adulten Tieren durchgeführt, um zu untersuchen, welche weitreichenden Folgen das Fehlen väterlicher Fürsorge während der postnatalen Entwicklung auf das

Explorationsverhalten und angstbezogene Verhaltensweisen im Erwachsenenalter besitzt. Durch die Begrenzung der Analyse auf das Erwachsenenalter beschränkt sich die Untersuchung jedoch auf die Langzeitfolgen der sozio-emotionalen Teildeprivation. Es bleibt unklar, ob die beobachteten Unterschiede in der Emotionalität/Ängstlichkeit auch bei vaterdeprivierten Jungtieren vorzufinden wären. Dies sollte nach Möglichkeit im Anschluß an diese Arbeit untersucht werden.

### ***Die Analyse des Verhaltens in der Skinner-Box***

#### *Analyse des Lernverhaltens/Impulskontrolle*

Die Erfassung impulsiver Verhaltensweisen am Tiermodell scheint äußerst schwierig, da das Konzept der Impulsivität bereits im Humanbereich äußerst vielschichtig definiert wird (Eviden, 1999). Anhand des FCN-Paradigmas erscheint es jedoch möglich, impulsive Verhaltensweisen, charakterisiert bspw. durch vorschnelle Verhaltensreaktionen (Eviden, 1999), am Tiermodell zu analysieren. In dieser Arbeit wurde das erste Mal gezeigt, dass auch der Degu in der Lage ist, komplexe Verhaltensabläufe innerhalb des FCN-Paradigmas zu erlernen, und dass vaterdeprivierte Tiere möglicherweise impulsive Verhaltensweisen zeigen. Dazu wurden, definiert nach Eviden (1998), sowohl die *Chain efficiency* (Belohnungshebel/Pellets), wie auch die *Response efficiency* (FCN-Hebel/Pellets) erfasst, wobei Änderungen im impulsiven Verhalten zu Veränderungen beider Parameter führen können (Eviden, 1998). Über diese beiden Parameter hinaus sind zudem weitere Parameter bestimmbar, mit denen sich impulsive Verhaltensweisen analysieren lassen. Diese sollten in weiteren, sich dieser Arbeit anschließenden Anwendungen des FCN-Paradigmas beim Degu in die Programmierung des Versuchsdesigns integriert werden, um ein umfassenderes Bild zu erlangen.

### ***Golgi-Technik und Analyse von Projektionsneuronen***

#### *Analyse von Projektionsneuronen in corticalen und subcorticalen Zentren*

Die Länge dendritischer Verzweigungen und die Zahl dendritischer Spines wurde durch das Nachzeichnen der kompletten Dendriten und Anklicken aller sichtbaren Ausbuchtungen am Dendriten, ob dünn und lang oder dick und kurz, in direkter Verbindung mit dem dendritischen Ast, bestimmt. Damit erschließt sich, dass verdeckte Spines, die sich bspw. hinter dem Dendriten befinden und während der mikroskopischen Analyse nicht sichtbar sind, in der Quantifizierung entfallen. Eine Korrektur wurde nicht vorgenommen (Feldman & Peters, 1979), da die Zählung sichtbarer Spines für verschiedene experimentelle Bedingungen validiert wurde (Horner & Arbuthnott, 1991).

Erwähnt werden muß auch die unterschiedliche Anzahl selektierter Neurone in den verschiedenen Hirnregionen. Diese Variabilität ergibt sich als Konsequenz der Größe der entsprechenden Region und aufgrund der Tatsache, dass mittels der Golgi-Färbe-Methode nur ein Bruchteil aller möglichen Neurone des ZNS angefärbt wird (Glickstein, 2006), was die Auswahl repräsentativer und komplett markierter Zellen mehr oder weniger stark eingeschränkt. Möglicherweise würde eine Erhöhung der Zellzahl eine höhere statistische Power gewährleisten. Diese Eigenschaften ließen es zudem als undurchführbar erscheinen, den zentralen Kern der Amygdala morphologisch zu analysieren.

Auch erscheint es wichtig, die neuromorphologischen Arbeiten insofern auszudehnen, so dass diese in eindeutiger Kongruenz mit den neurochemischen Analysen stehen. Bspw. wurde aufgrund der besonderen Konnektivität der lateralen Amygdala zum OFC (vgl. dazu Abschnitt 2.3) zunächst nur diese Subregion des basolateralen Kernkomplexes analysiert. Die Untersuchung des basalen Amygdalakerns steht dementsprechend noch aus. Ebenso, wie die morphologische Analyse des Hippocampus adulter Tiere oder den weiblichen Tieren, auf die aufgrund des zeitlichen Rahmens in dieser Arbeit verzichtet wurde.

### ***Immunhistochemische Methoden***

#### *Analyse GABAerger Interneurone, CRF-exprimierender Neurone/Fasern und modulatorischer, katecholaminerger Fasersysteme*

Der immunhistochemische Nachweis und die quantitative Analyse GABAerger und CRF-exprimierender Zellen, sowie modulatorischer Fasersysteme zeigte deutliche Auslenkungen infolge der Vaterdeprivation. Die in der Analyse der verschiedenen neurochemischen Systeme ermittelten Änderungen infolge des Fehlens väterlicher Fürsorge können auf verschiedene Arten interpretiert werden. Möglicherweise reflektiert der beschriebene Zellrück- oder -untergang Prozesse der Apoptose, da diese Interpretation anhand der Untersuchungen nicht ausgeschlossen werden kann. Studien an 12-Tage alten Ratten, die einer 24stündigen Isolationssituation (Trennung von der Mutter, eine sozio-emotionale Deprivation) ausgesetzt waren, zeigten bspw. einen erhöhten apoptischen Zelluntergang im Gyrus dentatus des Hippocampus (Zhang et al., 2002). Außerdem beschreiben Mirescu et al. (2004) eine deutliche Verringerung der Anzahl von Zellen im Gyrus dentatus von 180 Minuten, aber nicht von 15 Minuten täglich (PND 1-14) von der Mutter getrennten Ratten. Jedoch muss hierbei beachtet werden, dass die Paradigmen einer einmaligen Trennung/Deprivation von der Mutter (Studien an Ratten) für einen kurzen Zeitraum nicht exakt mit dem Deprivationsmodell dieser Dissertation in Einklang zu bringen ist.

Eine wahrscheinlichere Interpretation der immunocytochemisch nachweisbaren Veränderungen ist, sie auf Unterschiede in der Expression der entsprechenden Marker zurückzuführen. D.h., wenn die Expression, also die „physiologische“ Aktivität der Zelle hoch- oder herabgesetzt ist, dann ist davon auszugehen, dass auch weniger bzw. mehr Protein/Peptid synthetisiert wird. Dies kann zur Folge haben, dass die Syntheserate so gering wird, dass der Gehalt der nachzuweisenden neuronalen Marker unter dem Detektionslevel der hier angewendeten immunhistochemischen Methoden liegt und so ein Nachweis der Zellen ausbleibt, obwohl die Zelle im Gewebe noch existiert. Diese Interpretation einer veränderten neuronalen Aktivität wird durch Studien gestützt, die zeigen, dass die Synthese von Proteinen/Peptiden (oder aber auch ihrer mRNA) intrazellulär, in Abhängigkeit von ihrem Aktivitätslevel reguliert wird. Bspw. wird die Calbindin-D28k-mRNA infolge der Stimulation des Tractus perforans (Lowenstein et al., 1991) oder aber durch Gabe von Corticosteron (Iacopino & Christakos, 1990) im Hippocampus hochreguliert. Ebenso zeigt sich die CRF-Expression enorm aktivitätsabhängig. Asan et al. (2005) beschreiben u.a., dass Mäuse (und wie in dieser Arbeit auch beim Degu), im Unterschied zu Untersuchungen an Ratten, fast keine oder wenn, nur sehr wenige und schwach immunhistochemisch gefärbte CRF-Somata im zentralen Kern der Amygdala zeigen. Dieser scheinbare Unterschied in der Zellzahl konnte jedoch durch die Lokalisierung der CRF-mRNA widerlegt werden, die zeigte, dass Mäuse und Ratten eine ähnliche Zahl an CRF-exprimierenden Zellen im CeA aufweisen. Die Markierung der CRF-mRNA in Mäusen war jedoch deutlich schwächer als die in Ratten, was auf eine geringere Expression bei Mäusen hinweist, bei in etwa vergleichbarer Zellzahl bei den Ratten. Demzufolge scheint es auch bei den Untersuchungen dieser Dissertation wahrscheinlich, dass dieses erniedrigte Aktivitätsniveau und die damit verbundene, weniger ausgeprägte Expression von CRF unter der Detektionsschwelle immunhistochemischer Methoden liegt, und kein echter Verlust an Zellen vorliegt.

Ähnliche Effekte können in bezug auf die Expression des Enzyms Tyrosinhydroxylase (TH) beobachtet werden: ein Kainat-induzierter Status epilepticus und damit eine erhöhte neuronale Aktivität resultiert bspw. im Locus coeruleus in einem Anstieg der TH-Expression (Bengzon et al., 1999). Auch führt die Gabe von Methamphetamin zu einem dosisabhängigen Anstieg von TH im cerebellären Cortex von Mäusen, wohingegen eine Abnahme im Striatum zu beobachten ist (Ferrucci et al., 2006). Demzufolge kann vermutet werden, dass eine erniedrigte oder erhöhte Aktivität die Protein- bzw. Peptidlevel, bzw. die

Grenze, an der diese immunhistochemisch nachweisbar sind, in Abhängigkeit von der experimentellen Manipulation verändert wird.

An dieser Stelle muss bemerkt werden, dass das Enzym Tyrosinhydroxylase (TH) das erste Enzym in der Synthese aller Katecholamine ist und demzufolge sowohl in dopaminergen, wie auch in noradrenergen Fasern nachweisbar ist. Studien haben jedoch gezeigt, dass TH-markierte Fasern zumeist dopaminerg sind. Doppelmarkierungen gegen TH und das Enzym Dopamin- $\beta$ -Hydroxylase (DBH), d.h. das Syntheseenzym und somit einen speziellen Marker für noradrenerge Neurone und Fasern, haben gezeigt, dass nur ein geringer Teil doppelt markierter Fasern nachweisbar ist (Akil & Lewis, 1993), mit Ausnahme des Hippocampus in der TH-immunoreaktive Fasern überwiegend noradrenerg sind (Moudy et al., 1993). In Folgestudien sollten beide Transmittersysteme jedoch getrennt voneinander nachgewiesen werden.

Im Fall der Analyse GABAerger Interneurone charakterisiert durch ihre Expression der calciumbindenden Proteine Parvalbumin und Calbindin-D28k, stellt sich zudem die Frage, ob ein Anstieg der Expression dieser Proteine tatsächlich mit einer gesteigerten GABAergen Aktivität in Zusammenhang gebracht werden kann. Bekannt ist, dass die Aktivität von Glutamatdecarboxylase (GAD), dem Syntheseenzym von GABA, durch intrazelluläre Calciumkonzentrationen feinreguliert wird (Erecinska, 1996). Calciumbindende Proteine wie Parvalbumin, Calbindin-D28k oder aber auch Calretinin sind in der Lage die Calcium-Konzentration über die Bindung von Calcium-Ionen innerhalb der Zelle zu regulieren (Heizmann & Braun, 1995; Celio, 1990). Ein Anstieg an intrazellulärem Calcium wiederum triggert calcium-abhängige Phosphatase(n), die wiederum über die Phosphorylierung und Dephosphorylierung die Aktivität der GAD regulieren (Bao et al., 1995). Im Detail bedeutet dies, dass GAD-65, eine der beiden Isoformen, die hauptsächlich in Axonterminalien vorzufinden ist und hauptsächlich bei gesteigerter zellulärer Aktivität agiert (Stone et al., 1999; Esclapez et al., 1994), durch Phosphorylierung aktiviert wird, wohingegen GAD-67, die zweite Isoform, die insbesondere im Zellkörper vorzufinden ist und insbesondere den tonischen Status der GABA-Synthese reguliert (Stone et al., 1999; Esclapez et al., 1994), durch Phosphorylierung inhibiert wird. Es ist möglich, dass eine erhöhte Präsenz an calciumbindenden Proteinen zu einer gesteigerten Bindung von Calcium-Ionen führt, damit zum einen GAD-67 disinhibiert und die Synthese von GABA im Soma gesteigert und zum anderen GAD-65 inhibiert und die Synthese von GABA in den Axonterminalien bei erhöhter zellulärer Aktivität vermindert wird. Folglich ist zu erwarten, dass eine erhöhte Expression calciumbindender Proteine, die Calcium-Konzentration in der

Zelle vermindert und somit die Ausschüttung von GABA in Abhängigkeit vom Tonus der Zelle und folglich von der Aktivierung der GAD-65 (GABA↓) oder GAD-67 (GABA↑) modifiziert.

Zum Abschluß der methodischen Diskussionsion der immunhistochemischen Analyse muß noch auf den überraschenden Befund zur Analyse der Hirn- und Körpergewichte eingegangen werden. Generell scheinen keine Unterschiede sowohl im Körper-, als auch im Hirngewicht zwischen vaterdeprivierten und biparental aufgewachsenen *Degus* zu bestehen. Mit Ausnahme der Hirngewichte perfusionsfixierter Tiere. Hier zeigt sich ein signifikant erhöhtes Hirngewicht erwachsener vaterdeprivierter im Vergleich zu biparental aufgewachsenen *Degus*. Eine klare Interpretation dieses Ergebnisses ist bis jetzt noch nicht vorhanden.

## **5.2 Die Bedeutung väterlicher Fürsorge bei der Entwicklung sozialer und kognitiver Verhaltensweisen seiner Nachkommen**

### ***Soziale Verhaltensweisen im Familienverband***

*Zeigen „allein erziehende“ Degumütter veränderte soziale Verhaltensweisen im Familienverband? Kompensieren Degumütter das Fehlen väterlicher Fürsorge? Zeigen vaterdeprivierte Jungtiere veränderte soziale Verhaltensweisen im Familienverband?*

In der vorliegenden Arbeit konnte nachgewiesen werden, dass der Vater in der biparentalen Spezies *Octodon degus* intensives Brutpflegeverhalten zeigt. Demnach resultiert das Fehlen väterlicher Fürsorge (Pflegen und ausgeprägter Kontakt zu den Jungtieren) in einer unzulänglichen familiären Situation, die sich nachteilig auf die Entwicklung der Jungtiere auswirken sollte. Die Hypothese dieser Arbeit, dass das Fehlen väterlicher Fürsorge durch ein gesteigertes Brutpflegeverhalten der Mutter kompensiert wird, konnte nicht bestätigt werden. Die Intensität des Brutpflegeverhaltens der Mütter mit ihren Jungen in den vaterdeprivierten Familien unterschied sich nicht von Müttern in den biparentalen Familien. Diese Ergebnisse zeigen, dass vaterdeprivierte Jungtiere tatsächlich in einer Teildeprivation aufwachsen und ihnen insgesamt weniger Brutpflegeverhalten zuteil wird, als ihren gleichaltrigen Artgenossen in den biparentalen Familien. Dies scheint nicht nur ein Phänomen der Spezies *Octodon degus* zu sein, sondern wurde auch bei der biparentalen californischen Maus (*Peromyscus californicus*) beobachtet. Auch hier erhalten Jungtiere aus vaterdeprivierten Familien eine verringerte elterliche Fürsorge im Vergleich zu Tieren, die in biparentalen Familien aufwachsen (Bredy et al., 2004). Wie wichtig ausgeprägte soziale Kontakte während der frühen postnatalen Phase für die Entwicklung der Jungtiere sind,

zeigen Studien an Ratten. In dieser Spezies, bei denen nur die Mutter die Aufzucht der Jungen bewältigt (Lonstein & DeVries, 2000), ließ sich beobachten, dass Änderungen der mütterlichen Fürsorge sowohl das Verhalten, die kognitive und wie auch die neuronale Entwicklung der Jungtiere grundlegend beeinflussen. Rattenjunge, die von ihren Müttern in hohem Maß gesäubert und gesäugt wurden, weisen deutliche Vorteile zu Nachkommen auf, denen diese gesteigerte Zuwendung nicht zuteil wurde. Es konnten verbesserte Lern- und Gedächtnisleistungen in räumlichen Lerntests, aber auch reduziertes Angstverhalten in einer fremden Umgebung nachgewiesen werden (Open-Field-Test) (Cameron et al., 2005; Caldji et al., 1998; Liu et al., 2000). Auch die im Versuch induzierte intensive Umsorgung der Jungtiere unterstützt diese Ergebnisse. Versuchstiere (Ratten), die früh in ihrer Entwicklung für kurze Zeit aus dem Familienverband entnommen wurden (*Handling*) (Meaney et al., 1991), werden vom Muttertier anschließend nachhaltiger umsorgt, als nicht-gehandelte Tiere. In kognitiven Verhaltenstests wurde schließlich nachgewiesen, dass auch diese Tiere geringeres Angstverhalten, wie auch geringere Fehlleistungen in kognitiv-räumlichen Lerntests zeigten (Meaney et al., 1991; Zaharia et al., 1996). Diese Beobachtungen legen die Schlussfolgerung nahe, dass die umfassende Pflege und Sorge um die Jungtiere eine bessere Anpassung an die zum Teil stressreichen Umweltbedingungen gewährleistet. Degujunge, den diese Fürsorge durch das Fehlen des Vaters nicht zukommt, weisen somit vermutlich einen deutlichen Entwicklungsnachteil gegenüber Tieren aus biparentalen Familien auf. Diese Annahme wurde tatsächlich durch die Beobachtung spezifischer sozialer Verhaltensweisen vaterdeprivierter im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Jungtieren im Familienverband bestätigt. Vaterdeprivierte Degujunge bauen weniger soziale Kontakte, ausgedrückt durch das „Pflegeverhalten“, das sie den Eltern zuteil werden lassen, auf. Bekannt ist, dass gegenseitiges Putzen bei zahlreichen Tierarten die familiären Beziehungen und soziale Strukturen stärkt (Palagi et al., 2004). Diese Beobachtungen lassen den Schluß zu, dass Jungtiere, die allein von der Mutter aufgezogen wurden, Defizite in der Generierung sozialen Verhaltens zeigen.

Neben diesen verminderten sozialen Kontakten zu den Eltern bzw. der Mutter initiieren vaterdeprivierte Jungtiere zudem signifikant *häufiger* kämpferisches Spielverhalten („Play fighting“) mit ihren Geschwistern. Das Spielverhalten ist in einer Vielzahl verschiedener Spezies beobachtbar (Wilson & Kleiman, 1974; Pellis & Pellis, 1998) und versteht sich als eine der frühesten Formen sozialen Verhaltens, wobei in der Literatur verschiedene Theorien über die Funktion des Spielverhaltens diskutiert werden. Es wird spekuliert, dass Spielverhalten eine Art Training widerspiegelt, um motorische, soziale, aber auch kognitive



Fertigkeiten zu schulen. Diese umfassen Verteidigungsstrategien oder den sozialen Umgang mit anderen Artgenossen (Palagi et al., 2004; Wilson & Kleiman, 1974). Studien belegen aber auch, dass das Spielverhalten eine eigene Verhaltensform darstellt, die insbesondere in der frühen Entwicklung von Säugetieren zu beobachten ist (Pellis & Pellis, 2005; Vanderschuren et al., 1997). Das wiederholte Anschüren dieser spielerischen Kämpfe ohne einen Unterschied in der Dauer dieses Verhaltens zu zeigen, legt die Vermutung nahe, dass vaterdeprivierte Tiere bereits als Jungtiere impulsive Verhaltensweisen entwickelt haben, die sich bis in das Erwachsenenalter (vgl. dazu die Ergebnisse in der Skinner-Box) fortsetzen. Impulsivität wird in der Literatur vielfältig charakterisiert. Bspw. wird Impulsivität mit dem Unvermögen bestimmte Verhaltensweisen zu unterdrücken, instabiler Affektkontrolle oder „unbedachten“, vorschnellen Verhaltensreaktionen in Verbindung gebracht (Evenden, 1999).

### ***Einfluss der väterlichen Fürsorge auf die Entwicklung des Explorations- und Angstverhaltens***

*Beeinflusst das Fehlen väterlicher Fürsorge die Emotionalität/Ängstlichkeit vaterdeprivierter Tiere?*

Neben den früh in der Entwicklung beobachtbaren Auswirkungen des Fehlens väterlicher Fürsorge ist natürlich von besonderem Interesse, inwieweit sich diese Deprivationssituation auf Verhaltensparameter im Erwachsenenalter niederschlägt. Die einstigen Familienverbände sind nun aufgelöst und die deprivierten Jungtiere zu erwachsenen Tieren gereift. Die Frage stellt sich nun, inwieweit das Fehlen väterlicher Fürsorge auch jetzt noch Auswirkungen auf soziale oder aber auch kognitive Verhaltensweisen hat. Um diese Hypothese zu prüfen, wurden vaterdeprivierte und biparental erwachsene Tiere im Open-Field, d.h. einer neuen, fremdartigen und vor allem ungeschützten Umgebung (es bietet sich den Tieren kein Unterschlupf), getestet, um das Explorations- und angstbesetzte Verhaltensweisen zu untersuchen. Die Ergebnisse dieser Analyse zeigen, dass vaterdeprivierte Tiere signifikant kürzere Strecken in der Open-Field-Arena zurücklegen, eine geringere Laufktivität im Zentrum der Arena zeigen, weniger im Zentrum der Arena verweilen und auch weniger häufig darin eintreten, sowie weniger Putzverhalten zeigen, als biparental aufgewachsene Degus. Während die Parameter Wegstrecke, Aufrichten und Springen vor allem die Explorationsaktivität widerspiegeln, sind die Parameter Aktivität, Eintritte, Aufenthaltsdauer im Zentrum, sowie Vokalisation und Ausscheidung im Zusammenhang mit angstbesetztem Verhalten zu interpretieren. Insbesondere Nagetiere, deren natürliches Habitat keine ungeschützten freien Flächen darstellt und die in komplexen

sozialen Strukturen -wie der Degu (z.B. Lee, 2004)- leben, stellt die Open-Field-Arena eine angstinduzierende Umgebung dar (Prut & Belzung, 2003). Eine Reduktion des horizontalen Explorationsverhaltens in der Open-Field-Arena, wie auch eine Vermeidung des zentralen Bereiches der Open-Field-Arena sprechen also hinreichend für verringertes Angstverhalten vaterdeprivierter Tiere (Prut & Belzung, 2003). Der gegenteilige Effekt ist bspw. bei Degus zu beobachten, die vom ersten bis zum siebten postnatalen Tag (PND) dreimal täglich für eine Stunde von ihren Eltern und Geschwistern getrennt wurden. Die Tiere zeigten am PND 8 ein signifikant gesteigertes horizontales Explorationsverhalten bzw. motorische Hyperaktivität und gesteigertes Putzverhalten in der fremden Open-Field-Umgebung (Braun et al., 2003), was auf eine Verringerung der Emotionalität/Ängstlichkeit schließen läßt. Interessanterweise zeigen früh von ihrer Mutter entwöhnte Ratten, also Tiere, die die *mütterliche Fürsorge* früh entbehren mussten, gesteigerte Emotionalität/Angst im Open-Field (Lehmann & Feldon, 2000).

### ***Einfluss der väterlichen Fürsorge auf die Entwicklung Analyse der Lernleistungen im Erwachsenenalter***

*Zeigen vaterdeprivierte Tiere Defizite im Erlernen einer operanten Konditionierungsaufgabe?*

Neben der Analyse angstbesetzten Verhaltens in einer fremden, ungeschützten Umgebung war das Ziel dieser Arbeit zu prüfen, inwieweit das Fehlen väterlicher Fürsorge in der postnatalen Entwicklung kognitiver Leistungen hat. Dies wurde anhand eines Belohnungslernens an erwachsenen Tieren geprüft. Die Experimente in der Skinner-Box zeigten, dass biparental aufgewachsene Tiere die Trainingskriterien in einer operanten Konditionierungsaufgabe eher erreichen (eine bestimmte Sequenz an Hebelldrücken wird durch Futter verstärkt) als vaterdeprivierte Tiere. Demzufolge scheint das Aufwachsen ohne Vater in kognitiven Defiziten zu resultieren, die sich bis ins Erwachsenenalter fortsetzen. Der Vater generiert durch seine Anwesenheit folglich ein anregendes sozio-emotionales Umfeld, welches eine grundlegende Voraussetzung für die Entwicklung kognitiver Leistungen darstellt. Interessanterweise konnte in einer Untersuchung an der biparentalen kalifornischen Maus festgestellt werden, dass das Fehlen väterlicher Fürsorge keinen Einfluß auf die kognitive Leistung/Entwicklung (in bestimmten Lernparadigmen) seines Nachwuchses ausübt. Im Erwachsenenalter getestete vaterdeprivierte Mäuse und Tiere aus biparentalen Familien zeigten keine Unterschiede im „Object Recognition-Test“ (Wiedererkennungstest) und im „Barnes Maze-Test“ (Test zur Analyse räumlichen Lernens, involviert den *Hippocampus*) (Bredy et al., 2004). Die Sozialkontakte des Vaters mit seinen

Nachkommen scheinen also nur bestimmte Teilbereiche kognitiven Lernens zu beeinflussen, insbesondere die, die mit einer Belohnung/präfrontalen Regionen in Zusammenhang stehen.

### ***Einfluss der väterlichen Fürsorge auf die Entwicklung impulsiver Verhaltensweisen***

#### *Zeigen vaterdeprivierte Tiere impulsive Verhaltensweisen?*

Die Analyse familiärer Beziehungen im Familienverband hat gezeigt, dass vaterdeprivierte Jungtiere vermehrt impulsive Verhaltensweisen entwickeln, die sich in einer gesteigerten Frequenz des spielerischen Kämpfens niederschlägt. In Untersuchungen an Ratten konnte beobachtet werden, dass impulsive Verhaltensweisen relativ stabil bis ins Erwachsenenalter der Tiere erhalten bleiben (Dellu-Hagedorn & Simon, 2003). Auch beim Menschen wird Impulsivität als eine stabile und komplexe Persönlichkeitsdisposition charakterisiert (Whiteside & Lynam, 2000; Herpertz & Saß, 1997). Entsprechend sind die Ergebnisse dieser Arbeit einzuordnen. Vaterdeprivierte erwachsene Tiere betätigen signifikant häufiger den Belohnungshebel und öffnen signifikant häufiger die Klappe, die zum Erhalt einer Belohnung notwendig sind. Einerseits zeigen diese Beobachtungen, dass die Tiere in der Lage sind zu erfassen, dass sowohl der Belohnungshebel, wie auch die Klappe mit einer Belohnung assoziiert sind. Auf der anderen Seite bedeutet dies, dass der Belohnungshebel, ebenso wie die Klappe „vorschnell“ betätigt werden, um die Belohnung in Form eines Futterpellets zu erhalten, welche die Tiere nur dann erhalten, wenn eine komplett erfüllte Sequenz an Hebelrücken ausgeführt wird. Diese Beobachtungen sprechen dafür, dass vaterdeprivierte Degus auch im Erwachsenenalter impulsive Verhaltensweisen zeigen. Dass tatsächlich ein Zusammenhang zwischen Impulsivität und dem Aufwachsen in einer (Teil-) Deprivation besteht, zeigt die Untersuchung von Wood et al. (2006) an Ratten. Tiere, die in einer sensorisch angereicherten Umwelt aufwachsen, zeigten im Vergleich zu sozial isolierten Tieren bessere Lernergebnisse in einer Konditionierungsaufgabe (Betätigung eines Hebels wird sucroseverstärkt), wohingegen sozial isolierte Tiere aufgrund impulsiver Verhaltensweisen (gehäufte Zahl an Fehlleistungen) schlechter abschnitten.

### 5.3 Der Einfluss väterlicher Fürsorge auf die Ausreifung neuronaler Strukturen

#### *Morphologische und neurochemische Änderungen im OFC vaterdeprivierter Tiere*

Studien zur Funktionalität des orbitofrontalen Cortex (OFC) haben gezeigt, dass diese corticale Region an der Verarbeitung emotionaler Stimuli, aber auch an der Generierung sozialer Verhaltensweisen beteiligt ist, und durch eine postnatal verzögerte, insbesondere auch schichtenspezifische Reifung charakterisiert wird (vgl. dazu Abschnitt 2.3). Grundlage der Informationsverarbeitung im OFC sind dabei vor allem zwei typische Zellformen, exzitatorische glutamaterge Pyramidenzellen, sowie hemmende GABAerge Interneurone (vgl. dazu Abschnitt 2.3).

#### *Beeinflusst das Fehlen väterlicher Fürsorge während der frühen Postnatalentwicklung die Ausreifung von Pyramidenzellen des OFC?*

Vaterdeprivierte Jungtiere zeigten im OFC eine signifikant geringe Zahl und Dichte synaptischer Spines am Apikal- und Basaldendriten von Pyramidenzellen der Schicht II/III. Diese morphologischen und synaptischen Veränderungen korrelieren mit dem Fehlen sozio-emotionaler Zuwendung durch den Vater und damit eingeschränkter sozio-emotionaler, aber auch sensorischer Erfahrungen zwischen allein erziehender Mutter und Kind, wobei ein kausaler Zusammenhang schwierig zu belegen ist. Dendritische Spines, d.h. erregende Synapsen, sind außerordentlich plastisch. Am Degu ist bekannt, dass parallel zur Zunahme des Hirngewichts eine Zunahme der Spinedichte und -zahl der Schicht II/III Pyramidenzellen im dorsalen anterioren cingulären Cortex (ACd), einer Subregion des mPFC, vom postnatalen Tag 1 bis 21 zu verzeichnen ist (Helmeke, 2003). Sensorische wie auch emotionale Erfahrungen führen zudem nachweislich zu quantitativen, wie auch strukturellen Änderungen, die gegenwärtig bereits durch *in vitro*-Untersuchungen am lebenden Zellmaterial beobachtet werden können (Harms & Dunaevsky, 2006; Segal, 2005; Ovtcharoff et al., 2006; Bock, 2005; Helmeke et al., 2001; Poeggel et al., 2003; Ovtcharoff & Braun, 2001). Es lässt sich ableiten, dass die väterliche Fürsorge für die Nachkommen eine angereicherte Umwelt schafft, die im kindlichen Hirn, insbesondere in „emotionalen“ Regionen wie dem OFC, die Bildung synaptischer Verbindungen *fördert*, wohingegen vaterdeprivierte Tiere eine verzögerte/gehemmte Entwicklung synaptischer Strukturen zeigen. Die geringere Spinezahl bzw. -dichte basaler und apikaler Dendriten pyramidaler Neurone der corticalen Schichten II/III des OFC vaterdeprivierter Tiere reflektiert wahrscheinlich eine Reduktion thalamischen Inputs, der hauptsächlich auf Dendriten in Schicht III, den Basaldendriten, und den äußeren Teil der Schicht I, die

---

Position distaler apikaler Dendritensegmente, terminiert (Krettek & Price, 1977; Nieuwenhuys, 1994). Der Thalamus ist die Schaltstation für (fast) alle wichtigen sensorischen Bahnen zum Cortex (Kandel et al., 1996) und insbesondere der mediodorsale Thalamus erhält Input aus der Amygdala, die wiederum selbst reziprok mit dem OFC verbunden ist (Pitkänen, 2000) und ebenfalls ähnliche deprivationsinduzierte neuromorphologische Veränderungen aufweist. Die geringere Zahl und Dichte dendritischer Spines an apikalen und basalen Dendriten an Schicht II/III Pyramidenzellen weist darüber hinaus wahrscheinlich auf eine verminderte Dichte corticocorticaler Afferenzen hin, die hauptsächlich Dendriten in den Schichten I bis III innervieren (Nieuwenhuys, 1994). Diese entstammen unter anderem cortical-sensorischen Regelkreisen (Rolls, 2004). In Voruntersuchungen an Pyramidenneuronen des somatosensorischen Cortex (SSC) zeigte sich interessanterweise die auch im OFC und der Amygdala beobachteten niedrigeren Spinedichten und -zahlen am Basaldendriten (Helmeke et al., 2007). Dies weist darauf hin, dass bei vaterdeprivierten Tieren die afferenten und efferenten Regionen des OFC, z.B. Amygdala und SSC und möglicherweise auch andere, nicht-analyisierte Gebiete, ebenfalls deprivationsinduzierte dendritische und synaptische Veränderungen ihrer Projektionsneurone aufweisen. Es bleibt somit zu vermuten, dass die geringere Dichte und Zahl dendritischer Spines des OFC eine Anpassung an den möglicherweise verminderten Informationsfluß aus diesen Regionen darstellt, der wahrscheinlich in einer chronischen Hypofunktion des OFC resultieren könnte. Diese postulierte Hypofunktion erweist sich als stabil, denn erwachsene vaterdeprivierte Degus zeigen immer noch vergleichbare neuromorphologische Änderungen an Pyramidenzellen der Schicht II/III wie bereits am postnatalen Tag 21, d.h. eine verringerte Zahl und Dichte dendritischer Spines und signifikant verkürzte Apikaldendriten. Das Fehlen väterlicher Fürsorge während der frühen postnatalen Entwicklung scheint daher die Entwicklung dendritischer Spines orbitofrontaler exzitatorischer Projektionsneurone weit über die ebenfalls angenommene sensible Phase hinaus nicht nur zu verzögern, sondern vermutlich langfristig zu hemmen.

*Beeinflusst das Aufwachsen ohne Vater die Ausreifung funktionell differenzierbarer inhibitorischer GABAerger Interneurone des OFC? Wird der verminderte exzitatorische Input durch den GABAergen Input kompensiert?*

Die Aktivität der Pyramidenzellen wird neben den Afferenzen aus corticalen und subcorticalen Gebieten vor allem durch die Verschaltung mit lokalen inhibitorischen Interneuronen moduliert (Kahle & Frotscher, 2002). Vaterdeprivierte Jung-, und erwachsene Tiere zeigten eine signifikant erhöhte Aktivität/Proteinexpression Parvalbumin-

exprimierender GABAerger Interneurone in beiden Subregionen des OFC. Diese Subpopulation kontrolliert insbesondere den efferenten Output der Projektionsneurone (Freund, 2003; Gulyàs & Freund, 1996; Gulyàs et al., 1999; Zaitsev et al., 2005). Diese GABA-vermittelte Herabsetzung des efferenten Informationsausgangs verstärkt demnach die ohne hin schon verminderte Inputaktivität dieser Neurone (reduzierte Spinedichten und -zahlen). Die Efferenzen dieser insgesamt gesehen offenbar hypoaktiven Pyramidenzellen erreichen insbesondere den cingulären Cortex, den Hippocampus, sensorische, sowie insuläre und temporale Cortices und die Amygdala (Cavada et al., 2000; Öngür & Price, 2000). Untersuchungen an vaterdeprivierten 21 Tage alten Degus zeigen im anterioren cingulären Cortex eine deutliche Imbalance exzitatorischer und inhibitorischer Synapsen (Ovtscharoff jr. et al., 2006). Im SSC, wie auch in der Amygdala sind, wie bereits diskutiert, ebenfalls deprivationsinduzierte Verminderungen exzitatorischer Spinesynapsen vorhanden. Es präsentieren sich somit deutliche Unterschiede in den eng mit einander verknüpften limbischen aber auch nicht-limbischen Regionen (SSC) zwischen Tieren aus biparentalen Familien und Familien mit allein erziehenden Müttern.

Im Gegensatz zu Parvalbumin-exprimierenden Interneuronen des OFC sind innerhalb der zweiten analysierten GABAergen Subpopulation keine Unterschiede in der Aktivität/Proteinexpression zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren beider Altersstufen in beiden Subregionen des OFC nachweisbar. Calbindin-D28k-exprimierende Neurone sind vor allem für die Regulation des Inputs an exzitatorischen Projektionsneuronen durch die Innervation der Dendritenbäume verantwortlich (Freund, 2003; Gulyàs et al., 1999; Gulyàs et al., 1996).

Diese Beobachtungen weisen darauf hin, dass offenbar ganz selektiv nur eine Subpopulation der GABAergen Neurone (Parvalbumin-immunreaktive Zellen) im orbitofrontalen Cortex von der Vaterdeprivation beeinflusst wird. Interessanterweise weisen Studien zur Bedeutung corticaler GABAerger Interneurone bei der Genese psychopathologischer Erkrankungen auf ähnliche Unterschiede zwischen beiden GABAergen Subpopulationen hin. Verschiedene Untersuchungen zeigen insbesondere ein spezifisches Defizit Parvalbumin-immunreaktiver Neurone bei Schizophrenen im Vergleich zu Kontrollpersonen (Reynolds et al., 2002; Lewis et al., 2005). Möglicherweise spielt dabei auch die unterschiedliche Innervation durch monoaminerge Fasern eine entscheidende Rolle (siehe auch folgende Abschnitte). Bekannt ist, dass ausschließlich Calbindin-D28k-haltige Neurone im Neocortex, wie auch Hippocampus von serotonergen Fasern innerviert werden, Parvalbumin-exprimierende Zellen jedoch nicht (Hornung &

---

Celio, 1992; Freund et al., 1990). Für die Amygdala und möglicherweise auch den Neocortex zeigt sich zudem, dass Parvalbumin-immunopositive Zellen von dopaminergen Fasern kontaktiert werden (Brinley-Reed & McDonald, 1999; Sesack et al., 1998). Diese Ungleichheiten stehen möglicherweise im Zusammenhang mit der unterschiedlichen „Empfänglichkeit“ dieser Zellpopulationen gegenüber sensorischen und sozio-emotionalen Deprivationserfahrungen, die seit geraumer Zeit als (Teil-)Ursache psychopathologischer Erkrankungen diskutiert werden.

*Beeinflusst das Aufwachsen ohne Vater die Ausreifung CRF-exprimierender Neurone des OFC?*

GABAerge Interneurone können nicht nur aufgrund der Expression spezifischer calciumbindender Proteine charakterisiert werden. Weitere Subklassen dieser lokalen Netzwerkneurone exprimieren zudem oder ausschließlich Peptide, die die Funktion eines Cotransmitters übernehmen können (Kahle & Frotscher, 2002). Der Corticotropin-Releasing Factor (CRF) übernimmt bspw. in (einigen?) extra-hypothalamischen Regelkreisen diese Funktion (Baram & Hatalski, 1998; Chen et al., 2004). Vaterdeprivierte Jungtiere, wie auch erwachsene Degus zeigen eine signifikant erhöhte Aktivität/Proteinexpression CRF-exprimierender Neurone in beiden Subregionen des OFC. Es ist daher eine erhöhte Aktivität/Proteinexpression der CRF-Zellen nachweisbar, die potentiell in der Lage sind, diesen exzitatorischen Neuromodulator auszuschütten (Baram & Hatalski, 1998; Chen et al., 2004). Untersuchungen am Hippocampus zeigen, dass CRF seine erregende Wirkung am CRF-R1-Rezeptor entfaltet, der auf dendritischen Spines exzitatorischer Projektionsneurone lokalisiert ist (Chen et al., 2004). CRF ist infolgedessen dazu befähigt, die synaptische Effizienz und die dendritische Differenzierung zu beeinflussen (Baram & Hatalski, 1998; Chen et al., 2004). Es bleibt zu spekulieren, ob diese gesteigerte CRF-Präsenz im orbitofrontalem Cortex ähnlich zu interpretieren ist und wenn, positiv im Sinne einer Effektivitätssteigerung der synaptischen Transmission oder negativ, im Sinne einer exzessiven Ausschüttung. Bekannt ist, dass exzessiv freigesetztes CRF zu Schädigungen oder zum Absterben unreifer Zellen führen kann (Baram & Hatalski, 1998; Avishai-Eliner, 2002). Aufgrund dieser Tatsachen und der Annahme, dass CRF vergleichbare Eigenschaften im OFC, insbesondere auch die Lokalisierung des CRF-R1 auf dendritischen Spines, zeigt, liegt die Vermutung nahe, dass die signifikant erhöhte Aktivität/Proteinexpression CRF-positiver Zellen im Zusammenhang mit der beobachteten Reduktion dendritischer Spines zu beurteilen ist.

Interessanterweise belegen Studien am Hippocampus, dass CRF insbesondere in Parvalbumin-exprimierenden GABAergen Interneuronen vorzufinden ist (Yan et al., 1998; Chen et al., 2004), der Zellpopulation, die im OFC ebenfalls eine deprivationsinduzierte Zunahme der Dichte zeigt. Auch kann die in dieser GABAergen Subpopulation beobachtete Stabilität der Änderungen ebenfalls in der Analyse CRF-haltiger Zellen nachgewiesen werden. Erwachsene vaterdeprivierte Tiere zeigen nach wie vor mehr CRF-Neurone in beiden analysierten Regionen des OFC. Es bleibt allerdings zu prüfen, inwieweit die Beobachtungen an CRF-exprimierenden Neuronen im Hippocampus exakt auf die Eigenschaften der CRF-Neurone im OFC zutreffen.

*Beeinflusst das Aufwachsen ohne Vater die Innervation der OFC durch modulatorische, katecholaminerge Fasern?*

Neurone des präfrontalen Cortex werden durch monoaminerge Fasersysteme innerviert. Im lateralen OFC (LO) zeigt sich eine signifikant erhöhte Dichte Tyrosinhydroxylase (TH)-immunreaktiver Fasern bei Degus, die allein von ihrer Mutter aufgezogen wurden. TH ist das erste Enzym in der Synthese aller Katecholamine. TH-immunmarkierte Fasern sind im OFC, wie einleitend beschrieben, vermutlich dopaminerg (Akil & Lewis, 1993; Lewis et al., 1987). Dopamin entfaltet seine inhibitorische Wirkung auf die Pyramidenzellen direkt an den Dendriten oder indirekt über die Erregung GABAerger Neurone (Grace, 2002). Es ist somit zu vermuten, dass die angenommene Hypoaktivierung/Hypoaktivität des OFC nicht nur durch eine verminderte Zahl erregender Synapsen oder aber die gesteigerte Präsenz Parvalbumin-exprimierender GABAerger Interneurone in dieser Region zustande kommt, sondern zusätzlich durch eine erhöhte, dopaminvermittelte Hemmung durch die Erregung GABAerger Interneurone und die Hemmung der Pyramidenzellen (wenn auch nur im LO) verstärkt wird. Zahlreiche Untersuchungen zeigen, dass verschiedene Stressoren eine erhöhte dopaminerge Innervation des präfrontalen Cortex (PFC) induzieren (siehe Review, Pezze & Feldon, 2004). Es besteht bspw. ein Zusammenhang zwischen Dopaminausschüttung des medialen PFC, einer dem OFC sehr ähnlichen und benachbarten Region (Fuster, 2000; Gabbott et al., 2005; Van Eden & Uylings, 1985), und konditionierter Angst. Tiere, die wiederholt in eine Kammer gebracht wurden, in der sie vormals einen elektrischen Fußschock erhielten, zeigen eine deutliche Erhöhung des Dopaminmetabolismus im PFC (Pezze & Feldon, 2004). Eine Änderung des Dopaminstoffwechsels wird zudem im Zusammenhang mit einigen psychiatrischen Erkrankungen diskutiert. Die Borderline-Störung, zu deren Erscheinungsbild impulsive Verhaltensweisen gerechnet werden, steht in enger Relation mit Dysfunktionen der



dopaminergen Aktivität (Friedel, 2004). Ergebnisse, die möglicherweise den Zusammenhang zwischen den beobachteten deprivationsinduzierten Verhaltensänderungen und neuromorphologischen/neuro-chemischen Veränderungen belegen.

### ***Morphologische und neurochemische Änderungen in der Amygdala***

#### *Beeinflusst das Fehlen väterlicher Fürsorge während der frühen Postnatalentwicklung die Ausreifung pyramidalen Zellen der Amygdala?*

Neurobiologische und Verhaltensuntersuchungen der Amygdala zeigen, dass diese Hirnregion an der Etablierung emotionaler Verhaltensweisen beteiligt ist (Swanson & Petrovich, 1998). Insbesondere ergaben Analysen am Tiermodell deren Beteiligung an der Generierung des Angstverhaltens (Sah et al., 2003; Davis & Whalen, 2001; Maren, 1999), des Belohnungslernens (Baxter & Murray, 2002), aber auch an Lernprozessen bzw. der „emotionalen“ Gedächtnisbildung (McGaugh et al., 2002; McGaugh, 2002; Squire & Kandel, 1999).

Die quantitativ-neuromorphologische 3D-Analyse exzitatorischer Projektionsneurone der lateralen Amygdala vaterdeprivierter im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Jungtieren zeigte, dass Tiere, die allein von der Mutter aufgezogen wurden, eine verringerte Zahl und Dichte dendritischer Spines am Basaldendriten der pyramidenzellartigen Neuronen nachweisen lassen. Afferenzen in den lateralen Kern der Amygdala stammen unter anderem aus dem Thalamus, der Schaltstation fast aller sensorischen Bahnen (Kandel et al., 1996). Cortico-amygdalärer Input stammt unter anderem aus dem OFC, aber auch dem SSC (Pitkänen, 2000), in dem, wie bereits besprochen, ähnliche deprivationsinduzierte Veränderungen erregender Spinesynapsen beobachtet werden konnten (Helmeke et al., 2007). Der vermutlich reduzierte Input aus dem aufgrund eingeschränkter sensorischer und sozio-emotionaler Erfahrungen „unterversorgten“ Thalamus und den mutmaßlich „hypoaktiven“ corticalen Regionen induziert möglicherweise die nachgewiesene Reduktion in der Zahl und Dichte dendritischer Spines und somit ebenfalls eine deutliche Unteraktivierung/Unteraktivität der lateralen Amygdala. Dies kann zu Störungen bei der Etablierung (emotionaler) Gedächtnisinhalte führen. Es ist bekannt, dass durch Stimulation des Thalamus oder corticaler Bahnen langanhaltende Änderungen der synaptischen Effizienz in der Amygdala nachzuweisen sind und dass Läsionen der Amygdala die Gedächtnisbildung für emotional bedeutsame Sinnesreize blockieren (Kandel et al., 1996; Squire & Kandel, 1999). Darüber hinaus ist besonders der basolaterale Kernkomplex von beträchtlicher Bedeutung für die Etablierung emotionaler Zustände wie Angst und Furcht (Kandel et al., 1996). Lokale Infusionen angstlösender Pharmaka oder Läsionen

unterbinden bspw. Angst- und Furchtverhalten (Kandel et al., 1996; Sah et al., 2003). Es werden dadurch jedoch nicht alle angstbesetzten Verhaltensweisen beeinflusst. Es konnte gezeigt werden, dass bspw. die Vermeidung der offenen Arme im Elevated Plus-maze nicht beeinträchtigt werden (Sah et al., 2003), was in Übereinstimmung mit der Steigerung angstbesetzter Verhaltensweisen vaterdeprivierter Tiere im Open-Field gesehen werden kann.

Interessanterweise zeigen *erwachsene* vaterdeprivierte Tiere lediglich eine höhere Zahl apikal-dendritischer Verzweigungen der Pyramidenneurone in der lateralen Amygdala. Diese Beobachtung kann im Zusammenhang mit den im Anschluß erörterten Dichteveränderungen CRF-exprimierender Zellen diskutiert werden. CRF ist in der Lage die Expression des neurotrophen Faktors Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) zu steigern (Ma et al., 1999). BDNF ist, wie Untersuchungen zeigen, von besonderer Bedeutung für die Dendritogenese und vor allem der Ausformung dendritischer Verzweigungen (Wirth et al., 2003). So dass die beobachtete Zunahme CRF-exprimierender Zellen im Erwachsenenalter diesen Effekt erklären könnte, wobei dabei ungeklärt bleibt, wieso diese Effekte bei vaterdeprivierten Jungtieren nicht nachgewiesen werden konnten.

*Beeinflusst das Aufwachsen ohne Vater die Ausreifung funktionell differenzierbarer inhibitorischer GABAerger Neurone der Amygdala?*

Die Analyse inhibitorischer GABAerger Interneurone im basolateralen Kernkomplex und dem zentralen Kern der Amygdala ergab bei vaterdeprivierten im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Tieren wie im OFC eine signifikante Zunahme der Aktivität/Proteinexpression Parvalbumin-exprimierender Neurone sowohl bei den Jung-, als auch erwachsenen Tieren. Im Gegensatz zum OFC ist ebenfalls eine signifikante Abnahme der Aktivität/Proteinexpression Calbindin-D28k-immunreaktiver Zellen vaterdeprivierter Degus im Vergleich zu Tieren aus biparentalen Familien in diesen Regionen nachweisbar. Das Fehlen sensorischer, wie auch sozio-emotionaler Erfahrungen die Entwicklung beider Zellpopulationen beeinflusst somit in der Amygdala, die in ihren morphologischen Eigenschaften corticalen GABAergen Interneuronen äußerst ähnlich sind (McDonald & Betette, 2001; McDonald, 1997; Sah et al., 2003).

Die Calbindin-D28k-immunreaktiven Interneurone sind, wie für den Hippocampus und Neocortex bekannt, durch die Innervation der Dendritenbäume exzitatorischer Projektionsneurone in der Lage den Input dieser Zellen zu hemmen (Freund, 2003; Gulyàs et al., 1999; Gulyàs et al., 1996). Die verringerte Dichte dieses Zelltyps kann somit (unter Annahme einer vergleichbaren Funktion dieser Zellen in der Amygdala) als

kompensatorischer Prozess verstanden werden, d.h., als Resultat der Reduktion erregender Spinesynapsen erfolgt eine angepasste, verminderte dendritische Hemmung. Eine Vermutung, die es in zukünftigen Untersuchungen zu belegen gilt.

Efferenzen der BLA erreichen vor allem den zentralen Kern der Amygdala (CeA) (Pitkänen et al., 1997; Swanson & Petrovich, 1998; Sah et al., 2003). Im CeA vaterdeprivierter im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Jung-, wie auch erwachsenen Tieren ist ebenfalls eine erhöhte Dichte Parvalbumin-immunreaktiver Neurone nachweisbar. Der CeA ähnelt in seinen morphologischen Eigenschaften dem angrenzenden Striatum (Swanson & Petrovich, 1998; Sah et al., 2003), wobei striatale Parvalbumin-exprimierende Neurone wie auch im Cortex oder aber auch der basolateralen Amygdala GABAerge Interneurone repräsentieren (Prensa et al., 1998), die folglich die lokale Netzwerkaktivität inhibieren. Möglicherweise werden so Projektionsneurone und damit der Output des CeA gehemmt. Interessanterweise sind diese Projektionsneurone GABAerg (Sah et al., 2003). Im Striatum enthalten diese GABAergen Projektionsneurone das calciumbindene Protein Calbindin-D28k (Prensa et al., 1998), wonach vermutet werden kann, dass diese Eigenschaft auch für den CeA zutrifft. Die Analyse dieser Subpopulation im Vergleich zwischen vaterdeprivierten und biparental aufgewachsenen Degus zeigt, dass Calbindin-D28k-exprimierende Neurone in geringerer Dichte nachweisbar sind. Daraus könnte geschlossen werden, dass GABAerge Projektionsneurone im CeA möglicherweise in verminderter Zahl bzw. verminderter Aktivität vorliegen, die zusätzlich, verstärkt durch Parvalbumin-exprimierende GABAerge Interneurone, inhibiert werden. Diese deutlich verringerte GABAerge Aktivität könnte nachgeschaltete, insbesondere hypothalamische, als auch autonome Hirnregionen (Swanson & Petrovich, 1998; Sah et al., 2003) disinhibieren. In der Literatur wird vermutet, dass GABAerge Bahnen des CeA GABAerge Neurone des Hirnstamms kontaktieren, wobei jedoch die exakten Verschaltungsprinzipien noch nicht bekannt sind (Sah et al., 2003). GABAerge Bahnen verlaufen bspw. zum Locus coeruleus (LC) oder zur ventralen tegmental Area (VTA), den Synthesestätten von Noradrenalin und Dopamin, die weitere Teile des Großhirns mit diesen modulatorischen Fasern versorgen (Sah et al., 2003). Werden auch in diesen Regionen GABAerge Neurone disinhibiert, erklärt sich sehr wahrscheinlich die deutlich gesteigerte noradrenerge Innervation des Hippocampus (siehe folgende Abschnitte) oder aber die gesteigerte dopaminerge Innervation des OFC (LO) und der Amygdala.

---

*Beeinflusst das Aufwachsen ohne Vater die Ausreifung CRF-exprimierender Neurone bzw. Fasern der Amygdala?*

Die Übereinstimmungen zwischen OFC und der reziprok verschalteten Amygdala trifft auch auf die Ergebnisse der Analyse CRF-immunreaktiver Zellen der Amygdala zu. Vaterdeprivierte Jungtiere, wie auch erwachsene Tiere zeigen eine deutliche Zunahme der Aktivität/Proteinexpression CRF-exprimierender Zellen im basolateralen Kernkomplex der Amygdala. In Parallelität zur Interpretation der Befunde im OFC ist die gesteigerte Präsenz dieser Neurone vermutlich mit einer gesteigerten (übermäßigen?) Freisetzung von CRF verbunden. Piekut & Phipps (1998) machten in diesem Zusammenhang eine äußerst interessante Beobachtung. Durch die Gabe von Kainat wurden am Tiermodell epileptische Anfälle induziert. Die anschließend durchgeführte immunhistochemische Untersuchung zeigte schließlich einen deutlichen Anstieg CRF-immunreaktiver Somata in Regionen, in denen bei Kontrolltieren nur wenige oder keine CRF-Zellkörper zu beobachten waren, insbesondere auch im basolateralen Kernkomplex der Amygdala. Es scheint daher ein Zusammenhang zwischen einer gesteigerten CRF-Immunreaktivität und neuropathologischen Prozessen zu existieren. Möglicherweise induziert die Gabe von Kainat (neben der Aktivierung von Glutamatrezeptoren (Kandel et al., 1996)) die Exprimierung und anschließende Freisetzung von CRF in diesen Regionen, das aufgrund seiner (in der BLA angenommenen) exzitatorischen Wirkung in der Lage ist epileptische Anfälle (in bereits erregten Gewebe) zu generieren. Diese Beobachtung lässt die Vermutung aufkommen, dass vaterdeprivierte Degus durch die erhöhte Aktivität/Proteinexpression CRF-exprimierender Zellen eine Anfälligkeit für eine übersteigerte neuronale Aktivierung/Aktivität der BLA (und weiterer Regionen?) zeigen, die vermutlich mit der Reduktion exzitatorischer Spines in Verbindung gebracht werden kann. Belegt wird diese Vermutung durch Humanstudien zur Temporallappenepilepsie, aber auch an Ratten, bei denen epileptische Anfälle induziert wurden. Beide Untersuchungen zeigen signifikant verringerte Dichten dendritischer Spines als Folge der Epilepsie (Bothwell et al., 2001; Jiang et al., 1998).

Im zentralen Kern der Amygdala konnten keine Unterschiede zwischen beiden Untersuchungsgruppen nachgewiesen werden. Interessant ist aber in diesem Zusammenhang die Beobachtung, dass im Degu im Gegensatz zur Ratte keine oder nur wenige CRF-immunreaktive Neurone im CeA nachgewiesen werden konnten. Diese Beobachtung ist vergleichbar zu Mäusen, bei denen ebenfalls nur wenige/keine CRF-Somata im Kontrast zu zahlreichen und intensiv gefärbten CRF-immunreaktiven Fasern

nachweisbar waren (Asan et al., 2005). Abschließend sei noch bemerkt, dass in einigen GABAergen Neuronen des CeA CRF nachweisbar ist (Sah et al., 2003). Es wirft sich die Frage auf, ob dies möglicherweise in der Population der GABAergen Projektionsneurone der Fall ist, da ebenso CRF-Projektionsbahnen (wie auch GABAerge Bahnen) in den Hirnstamm, bspw. in den LC, nachgewiesen werden konnten (Koegler-Muly et al., 1993).

*Beeinflusst das Aufwachsen ohne Vater die Innervation der Amygdala durch modulatorische, katecholaminerge Fasern?*

Die Innervation durch katecholaminerge Fasern ist ebenfalls in der Amygdala präsent, wobei TH-immunreaktive Fasern in dieser Region vermutlich dopaminerg sind (Brinley-Reed & McDonald, 1999). TH-immunreaktive Fasern weisen in der Gruppe vaterdeprivierter im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Tieren eine geringere Faserdichte in der BLA auf. Die geringere Dichte dopaminerg Fasern spiegelt möglicherweise eine kompensatorische Anpassung an die verringerte Zahl dendritischer Spines oder aber die gesteigerte Aktivität/Proteinexpression Parvalbumin-immunreaktiver GABAerger Interneurone vaterdeprivierter Jungtiere wieder. Dopamin ist über seine Wirkung an pyramidalen Zellen und GABAergen Neuronen in der Lage, die Feuerrate pyramidaler Zellen der BLA zu senken (Grace, 2002). Es scheint, dass die dopaminerge Innervation an die neuromorphologischen Änderungen pyramidaler Neurone der BLA angepasst zu sein scheint. Interessanterweise hemmt die Freisetzung von Dopamin in der BLA die inhibitorische Wirkung des PFC auf Neurone der BLA (Rosenkranz & Grace, 1999; Grace 2002). Damit wird gewährleistet, dass bei der Darbietung eines emotionalen Stimulus dieser in der BLA verstärkt dargeboten wird, wodurch eine sensorisch-regulierte affektive Antwort verstärkt wird. Entsprechend scheint eine Verringerung dopaminerg Afferenzen und eine möglicherweise verringerte Ausschüttung dieses Transmitters emotionales Verhalten oder emotionale Lernprozesse zu beeinträchtigen (Rosenkranz & Grace, 1999; Grace, 2002).

Im zentralen Kern der Amygdala ist im Gegensatz zur BLA eine erhöhte Dichte TH-immunreaktiver Fasern bei Jungtieren nachweisbar, die allein von der Mutter aufgezogen wurden. Diese erhöhte dopaminerge Innervation führt möglicherweise und in Kongruenz zu den Beobachtungen des GABAergen Systems zu einer gesteigerten Inhibition efferenter Fasern aus diesem Kerngebiet. Im zentralen Kern, so zeigen Studien an Ratten, werden insbesondere CRF-produzierende (GABAerge Projektions?-)Neurone von einem dichten dopaminerg Fasernetz umspinnen, die Synapsen mit diesen CRF-haltigen Somata (über inhibitorische D2-Rezeptoren) etablieren und somit einen direkten Einfluß auf CRF-

Neurone in dieser Region ausüben (Eliava et al., 2003). Die erhöhte dopaminerge Innervation des CeA resultiert so gegebenenfalls in einer gesteigerten Hemmung der CRF-Neurone, die in Regionen wie den Hypothalamus oder Hirnstamm projizieren (Gray, 1993), wodurch unmittelbar emotionale Verhaltensreaktionen, insbesondere auch (konditionierte) Angst (Ledoux, 2000) beeinflusst werden (vgl. dazu auch die vorangegangenen Abschnitte).

### ***Morphologische und neurochemische Änderungen im Hippocampus***

*Beeinflusst das Fehlen väterlicher Fürsorge während der frühen Postnatalentwicklung die Ausreifung hippocampaler Projektionsneurone?*

Im Vergleich zu den Beobachtungen im OFC und in der lateralen Amygdala zeigten die Granulärzellen des Gyrus dentatus und die Pyramidenzellen der CA1-Region des Hippocampus junger Degus keine Änderungen in ihrer Morphologie. Dieses Ergebnis könnte eine Erklärung für Verhaltensbeobachtungen an der biparentalen californischen Maus liefern, denn dort wurde gezeigt, dass adulte biparental aufgewachsene und vaterdeprivierte Mäuse keine Unterschiede in räumlichen Lerntests, d.h. hippocampus-vermitteltem Lernen, zeigen (Bredy et al., 2004).

Es bleibt jedoch die Frage offen, ob sich die Deprivation auf neuromorphologische Eigenschaften des Hippocampus erwachsener Tiere auswirkt, da nachgewiesen wurde, dass hippocampal exzitatorische Projektionsneurone im Erwachsenenalter eine deutliche Plastizität gegenüber stressreichen Erfahrungen (McEwen, 2001; Shors et al., 2004) aufweisen. Diese Möglichkeit sollte durch anschließende Untersuchungen aufgeklärt werden.

*Beeinflusst das Aufwachsen ohne Vater die Ausreifung funktionell differenzierbarer inhibitorischer GABAerger Interneurone des Hippocampus?*

Dass hippocampale Strukturen durch die sozio-emotionale (Teil-)Deprivation nicht unbeeinflusst bleiben, zeigen die immunocytochemischen Untersuchungen. Vaterdeprivierte Jungtiere zeigen in der Molekularschicht des Gyrus dentatus, wie auch in der Pyramidenzellschicht der CA1-Region eine signifikante Zunahme der Aktivität/Proteinexpression Parvalbumin-exprimierender Neurone. Eine gesteigerte Aktivität/Proteinexpression Parvalbumin-positiver GABAerger Interneurone in diesen Schichten resultiert möglicherweise in einer erhöhten Hemmung afferenter Signale des Hippocampus vaterdeprivierter im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Tieren. Afferente Fasern treten vor allem über den Tractus perforans aus der Regio enthorinalis in

das Ammonshorn (Cornu ammonis, CA) ein, wobei ein Großteil dieser Fasern an den Granulärzellen des Gyrus dentatus endet (Kahle & Frotscher, 2002). Die synaptischen Kontakte zu den Dendriten der Granulärzellen werden dabei hauptsächlich in der Molekularschicht etabliert. Afferente Fasern erreichen über den Tractus perforans zudem die Dendriten der Pyramidenzellen der Ammonshorns (Kahle & Frotscher, 2002), wodurch auch in der Pyramidenzellschicht eintreffende Impulse inhibiert werden. Neben den Kontakten afferenter Fasern mit den Granulär- und Pyramidenzellen des Hippocampus werden zudem Verbindungen mit hemmenden GABAergen Neuronen aufgebaut, durch deren Aktivierung erregende Projektionsneurone inhibiert werden (Kahle & Frotscher, 2002). Daraus resultiert vermutlich eine umfassende Reduktion einkommender Signale in beiden analysierten hippocampalen Regionen. Interessanterweise stammen diese afferenten Bahnen, die sich in der enthorinalen Rinde vereinigen, aus der Amygdala, aber auch aus corticalen Gebieten, die, wie bereits diskutiert, deutliche Änderungen ihrer neuromorphologischen und neurochemischen Eigenschaften im Sinne einer funktionellen Hypoaktivität/Hypoaktivierung aufweisen und vermutlich weniger exzitatorische Afferenzen in assoziierte Regionen entsenden. Funktionell ergibt sich aus der Tatsache dieser gesteigerten Inhibition die Möglichkeit, dass Prozesse der synaptischen Bahnung und Verstärkung (Langzeitpotenzierung, LTP) nachteilig beeinflusst werden. Die Reizung mit einer Serie hochfrequenter Impulse führt am Tiermodell zu einer deutlichen Zunahme der synaptischen Stärke, die bei wiederholter Reizung tage- oder sogar wochenlang bestehen blieb (Squire & Kandel, 1999). Dieser Mechanismus wird in deutlichem Zusammenhang mit Lernprozessen und der Speicherung von Gedächtnisinhalten verstanden (Squire & Kandel, 1999). Es bleibt anhand der Beobachtungen zu vermuten, dass insbesondere diese Prozesse durch das Aufwachsen unter sensorisch und sozio-emotional deprivierten Bedingungen gestört werden.

Vaterdeprivierte im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Tiere zeigten zudem eine deutliche Zunahme der Aktivität/Proteinexpression Calbindin-D28k-immunopositiver Zellen der Granulärzellschicht. Bekannt ist, dass Calbindin-D28k nicht exklusiv von Interneuronen exprimiert wird, sondern auch in Prinzipalzellen, insbesondere in den Körnerzellen des Gyrus dentatus, nachweisbar ist (McDonald, 1997; Miettinen et al., 1992; Gulyás et al., 1991; Scharfman et al., 2000). Möglicherweise kann die gesteigerte Zahl der Granulärzellen (oder Interneurone?) im Gyrus dentatus mit einer erhöhten Neurogenese in Zusammenhang gebracht werden, jedoch sprechen bisherige Befunde eher gegen diese Hypothese (Gage & van Praag, 2002). Vermutlich spiegelt die nachgewiesene erhöhte Zahl

---

Calbindin-D28k-immunreaktiver Granulärzellen jedoch eher eine Steigerung der Calbindin-D28k-Exprimierung wider, deren Ursache jedoch unbekannt ist.

Erstaunlicherweise, und im Gegensatz zu den morphologischen Veränderungen vaterdeprivierter Tiere sind diese hippocampalen Veränderungen nicht bis in das Erwachsenenalter stabil. Adulte vaterdeprivierte Tiere zeigen keine Änderungen in der Molekularschicht und eine Abnahme der Aktivität/Proteinexpression Parvalbumin-exprimierender Neurone in der Pyramidenzellschicht der CA1-Region. Entsprechend werden in der CA1-Region Afferenzen weniger inhibiert als im juvenilen vaterdeprivierten Tier, wobei jedoch vermutlich eine grundlegende Hypoaktivierung des Hippocampus insbesondere durch die Afferenzen aus den vermutlich (immer noch) geringfügig aktivierten Regionen der Amygdala und des OFC, weiterhin bestehen bleibt.

*Beeinflusst das Aufwachsen ohne Vater die Ausreifung CRF-exprimierender Neurone des Hippocampus?*

CRF-exprimierende Zellen des Hippocampus (der Ratte) gehören nachweislich zur Population GABAerger Neurone, insbesondere Parvalbumin-immunopositiver Zellen (Yan et al., 1998; Chen et al., 2004), wobei CRF in diesen Neuronen als exzitatorischer Neuromodulator fungiert (Baram & Hatalski, 1998; Chen et al., 2004). Vaterdeprivierte Jungtiere zeigen im Gyrus dentatus eine tendenziell verringerte Aktivität/Proteinexpression CRF-immunopositiver Zellen, wobei dieser Effekt erst im Erwachsenenalter signifikant wird. Ebenso ist eine Abnahme in der CRF-Zellaktivität im Vergleich vaterdeprivierter Tiere zu Tieren aus biparentalen Familien in den strata pyramidale und oriens der CA1-Region nachweisbar. Möglicherweise bedeutet dies, dass durch den Mangel des modulierenden Transmitters CRF die synaptische Informationsübertragung negativ beeinflusst wird. Untersuchungen zur Funktionalität von CRF am Hippocampus bestätigen die Beeinflussung der synaptischen Effektivität, sowie der dendritischen Differenzierung durch CRF über den CRF-R1, der auf dendritischen Spines lokalisiert ist (Baram & Hatalski, 1998; Chen et al., 2004). Studien zeigen bspw., dass die Gabe von CRF-Antagonisten die dendritischen Längen und Verzweigungen im Sinne einer „Hyperverzweigung“ verändern, wodurch vermutlich die Etablierung stabiler synaptischer Kontakte verhindert wird (Chen et al., 2004). Ein Ergebnis das möglicherweise auch auf die unter Deprivationsbedingungen aufgewachsenen Degus zutrifft. Dies birgt die Notwendigkeit in sich, hippocampale Strukturen erwachsener vaterdeprivierter Tiere quantitativ morphologisch zu analysieren, um möglicherweise den Einfluß von CRF auf Granulärzellen und Pyramidenzellen nach dem 21. postnatalen Tag zu untersuchen. Es ist nicht auszuschließen, dass diese Effekte



zeitlich verzögert auftreten und erst in der Adoleszenz oder im Erwachsenenalter nachweisbar sind.

*Beeinflusst das Aufwachsen ohne Vater die Ausreifung modulatorischer, katecholaminerger Fasern?*

Fasern, die das Enzym Tyrosinhydroxylase (TH) beinhalten, sind im Hippocampus nachweisbar noradrenerg (Moudy et al., 1993). Vaterdeprivierte Jungtiere, wie auch erwachsene Tiere zeigen in dem Faserband, das dicht unter der Pyramidenzellschicht der CA1-Region verläuft, eine signifikant erhöhte Dichte TH-immunreaktiver Fasern. Vaterdeprivierte im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Tieren zeigen zudem eine deutlich erhöhte Dichte TH-immunreaktiver Fasern im stratum moleculare, sowie im gesamte Gyrus dentatus, im stratum lacunosum-moleculare, stratum radiatum, stratum pyramidale, stratum oriens und der gesamten CA1-Region. Noradrenalin bewirkt im Hippocampus möglicherweise eine Steigerung des inhibitorischen Tonus über die Erregung inhibitorischer Interneurone aller Schichten, was unter anderem durch elektrophysiologische Analysen belegt wurde (Bergles et al., 1996; Milner & Bacon, 1989). Es ist bekannt, dass die Noradrenalin ausschüttung im Hippocampus wesentlich an der Induktion von LTP beteiligt ist (Hopkins & Johnston, 1999; Walling & Harley, 2004), was für eine verstärkte Etablierung von Langzeitgedächtnisinhalten spricht. Dies steht in Übereinstimmung mit der Beobachtung, dass hauptsächlich emotional besetzte Erfahrungen besonders gut gespeichert werden (Squire & Kandel, 1999), wobei in diesem Fall von einer Interaktion zwischen Amygdala und hippocampalem Gedächtnissystem ausgegangen wird. In diesem Fall sind die Ergebnisse zum GABAergen System interessant. Es wurde spekuliert, dass die gesteigerte Hemmung afferenten Inputs in den Hippocampus möglicherweise LTP-Prozesse beeinträchtigt. Es ist also möglich, dass die gesteigerte Präsenz noradrenerger Fasern eine gegenläufige und somit kompensatorische Reaktion auf diese deprivationsinduzierten morphologischen Änderungen des GABAergen Systems darstellt, um eine „normale“ Funktionalität des Hippocampus herzustellen. Eine Spekulation, die es in zukünftigen Untersuchungen zu belegen gilt.

#### **5.4 Allgemeine Diskussion und Ausblick**

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass der Vater eine wichtige Quelle sensorischer, wie auch sozio-emotionaler Stimulation darstellt, und dass das Fehlen väterlicher Fürsorge während der postnatalen Entwicklung einen Einfluß auf die Etablierung sozialer, wie auch kognitiver Verhaltensweisen und die Reifung präfrontaler und limbischer Hirnsysteme hat.

---

Vaterdeprivierte Jungtiere, wie auch erwachsene Degus zeigen impulsive Verhaltensweisen, die vermutlich mit einer Hypoaktivität/Hypoaktivierung des orbitofrontalen Cortex und der Amygdala in Zusammenhang stehen. Diese Befunde werden einerseits durch Beobachtungen an allein von ihrer Mutter aufgezogenen Kindern bestätigt, die unter anderem gesteigerte Aggressivität und mangelnde Impulskontrolle aufweisen (Baskerville, 2002; O'Neill, 2002). Andererseits wird impulsives Verhalten, Änderungen in der Emotionalität, sowie sozial auffälliges Verhalten in der präklinischen und klinischen Forschung häufig mit Läsionen bzw. einem Hypometabolismus (Hypofunktion?) des OFC oder der Amygdala in Verbindung gebracht (Cardinal et al. 2004; Winstanley et al., 2004; Berlin et al., 2004; Soloff et al., 2003). Insbesondere wird in einer aktuellen Untersuchung von Pellis et al. (2006) diskutiert, dass Schädigungen des orbitofrontalen Cortex bei jungen Ratten möglicherweise mit einem gesteigerten „Play fighting“ der Jungtiere in Zusammenhang steht, was in Einklang mit Ergebnissen bei den vaterdeprivierten jungen Degus steht. Im Erwachsenenalter gehen impulsive Verhaltensweisen mit einer geringeren Lernleistung im Belohnungslernen vaterdeprivierter im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Tieren einher. Impulsive Verhaltensweisen werden in der Humanliteratur im Zusammenhang mit verringerten Lernleistungen genannt. Eine Studie von Dellu-Hagedorn & Simon (2003) wies bspw. nach, dass junge impulsive Ratten (analysiert durch das FCN-Paradigma) bis ins Erwachsenenalter impulsiv blieben und deutliche Fehlleistungen in kognitiven Lerntests zur Analyse des Arbeitsgedächtnisses zeigten. Darüber hinaus verhalten sich vaterdeprivierte Degus deutlich ängstlicher in einer fremden Umgebung als Tiere, die nicht depriviert wurden. Dieser Befund scheint in enger Beziehung zu den beobachteten neuromorphologischen und neurochemischen Veränderungen der Amygdala zu stehen, da die Amygdala insbesondere an der Generierung von Angst und Angstverhalten beteiligt ist (LeDoux, 2000; Davis, 2000).

Ziel dieser Arbeit war es, anhand des biparentalen Tiermodells *Octodon degus* zu untersuchen, ob und wie das Fehlen väterlicher Fürsorge, einer sensorischen, wie auch sozio-emotionalen Teildeprivation sich auf soziale, wie auch kognitive Verhaltensparameter auswirkt und/oder sich in neuromorphologisch/neurochemischen Änderungen ausgewählter präfrontaler und limbischer Hirnstrukturen niederschlägt. Dieses Gebiet ist damit noch nicht erschöpft. Anschließende Fragstellungen könnten überprüfen, inwiefern das Fehlen der väterlichen Fürsorge bspw. durch die Zuwendung eines anderen männlichen („Stiefvater“), eines weiteren weiblichen Tieres („Tante“) oder aber durch eine experimentell induzierte Stimulation der Tiere (bspw. durch Handling) kompensiert werden kann. Es bleibt zu

klären, ob die hirnbioologischen Befunde auch bei weiblichen Tieren, die die gleichen Verhaltensergebnisse zeigen, zu beobachten sind und ob weitere Hirngebiete (bspw. weitere Gebiete des PFC) involviert und in ihrer Funktionalität modifiziert werden, insbesondere hinsichtlich der Auslenkung weiterer Transmittersysteme, wie des serotonergen Systems, welches eng mit der Ausprägung von Impulsivität assoziiert ist (Evdenden, 1999).

Ein erster Schritt der neuro- und verhaltensbiologischen Grundlagenforschung zur Bedeutung väterlicher Fürsorge wurde mit dieser Arbeit getan. Weitere sind jedoch unentbehrlich, um noch mehr Belege aufzuzeigen, wie wichtig ein stabiles sozio-emotionales familiäres Umfeld, insbesondere die Bedeutung beider Elternteile, für eine positive Entwicklung ist.

## 6 Literaturverzeichnis

- Aggleton, J-P. & Saunders, R.C. (2000). The amygdala - what's happened in the last decade. In: Akil, M. & Lewis, D.A. (1993). The dopaminergic innervation of monkey entorhinal cortex. *Cerebral Cortex*, 3(6):533-550.
- Andressen, C., Blumcke, I. & Celio, M.R. (1993). Calcium-binding proteins: selective markers of nerve cells. *Cell and Tissue Research*, 271(2):181-208.
- Asan, E., Yilmazer-Hanke, D.M., Eliava, M., Hantsch, M., Lesch, K.-P. & Schmitt, A. (2005). The Corticotropin-Releasing Factor (CRF)-system and monoaminergic afferents in the central amygdala: investigations in different mouse strains and comparison with the rat. *Neuroscience*, 131: 953-976.
- Asan, E. (1998). The catecholaminergic innervation of the rat amygdala. *Advances in Anatomy, Embryology, and Cell Biology*, 142:1-118.
- Avishai-Eliner, S., Brunson, K.L., Sandman, C.A. & Baram, T.Z. (2002). Stressed-out, or in (utero)? *Trends in Neuroscience*, 25(10) 518- 524.
- Bao, J., Cheung, W.Y. & Wu, J.Y. (1995). Brain L-glutamate decarboxylase. Inhibition by phosphorylation and activation by dephosphorylation. *The Journal of Biological Chemistry*, 270(12):6464-6467.
- Baram, T.Z. & Hatalski, C.G. (1998). Neuropeptide-mediated excitability: a key triggering mechanism for seizure generation in the developing brain. *Trends in Neurosciences*, 21(11):471-476.
- Baskerville, S. (2002). The Politics of Fatherhood. *PS: Political Science and Politics*,35(4):695-699.
- Baxter, M.G. & Murray, E.A. (2002). The amygdala and reward. *Nature reviews. Neuroscience*, 3(7):563-573.
- Ben-Ari, Y., Khalilov, I., Represa, A. & Gozlan, H. (2004). Interneurons set the tune of developing networks. *Trends in Neurosciences*, 27(7):422-427.
- Bengzon, J., Hansson, S.R., Hoffman, B.J. & Lindvall, O. (1999). Regulation of norepinephrine transporter and tyrosine hydroxylase mRNAs after kainic acid-induced seizures. *Brain Research*, 842(1):239-242.
- Berdel, B., Morys, J. & Maciejewska, B. (1997). Neuronal changes in the basolateral complex during development of the amygdala of the rat. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 15(6):755-765.
- Bergles, D.E., Doze, V.A., Madison, D.V. & Smith, S.J. (1996). Excitatory actions of norepinephrine on multiple classes of hippocampal CA1 interneurons. *The Journal of Neuroscience*, 16(2):572-585.
- Berlin, H.A., Rolls, E.T. & Kischka, U. (2004). Impulsivity, time perception, emotion and reinforcement sensitivity in patients with orbitofrontal cortex lesions. *Brain*, 127(5):1108-1126.
- Blanz, B., Geisel, B., Laucht, M., Esser, G. & Schmidt, M.H. (1986). Role of the father in the development of school-age children. Results of an epidemiologic study. *Zeitschrift für Kinder- und Jugendpsychiatrie*, 14(1):5-31.
- Bock, J., Gruss, M., Becker, S. & Braun, K. (2005). Experience-induced changes of dendritic spine densities in the prefrontal and sensory cortex: correlation with developmental time windows. *Cerebral Cortex*, 15(6):802-808.
- Bothwell, S., Meredith, G.E., Phillips, J., Staunton, H., Doherty, C., Grigorenko, E., Glazier, S., Deadwyler, S.A., O'Donovan, C.A. & Farrell, M. (2001). Neuronal hypertrophy in the neocortex of patients with temporal lobe epilepsy. *The Journal of Neuroscience*, 21(13):4789-4800.

- Bourgeois, J.P., Goldman-Rakic, P.S. & Rakic, P. (1994). Synaptogenesis in the prefrontal cortex of rhesus monkeys. *Cerebral Cortex*, 4(1):78-96.
- Braun K., Kremz, P., Wetzel, W., Wagner, T. & Poeggel, G. (2003). Influence of maternal deprivation on the behavioral development in *Octodon degus*: Modulation by maternal vocalizations. *Developmental Psychobiology*, 42:237-245.
- Braun, K. & Bogerts, B. (2001). Erfahrungsgesteuerte neuronale Plastizität: Bedeutung für Pathogenese und Therapie psychischer Erkrankungen. *Nervenarzt*, 72(1):3-10.
- Braun, K., Lange, E., Metzger, M. & Poeggel, G. (2000). Maternal separation followed by early social deprivation affects the development of monoaminergic fiber systems in the medial prefrontal cortex of *Octodon degus*. *Neuroscience*, 95:309-318.
- Bredy, T.W., Lee, A.W., Meaney, M.J. & Brown, R.E. (2004). Effect of neonatal handling and paternal care on offspring cognitive development in the monogamous California mouse (*Peromyscus californicus*). *Hormones and Behavior*, 46:30-38.
- Bremner, J.D., Narayan, M., Anderson, E.R., Staib, L.H., Miller, H.L. & Charney, D.S. (2000). Hippocampal volume reduction in major depression. *The American Journal of Psychiatry*, 157(1):115-118.
- Brinley-Reed, M. & McDonald, A.J. (1999). Evidence that dopaminergic axons provide a dense innervation of specific neuronal subpopulations in the rat basolateral amygdala. *Brain Research*, 850(1-2):127-135.
- Brodbeck, A.J. & Irwin, O.C. (1946). The speech behavior of infants without families. *Child Development*, 17:145-156.
- Brown, S.M., Henning, S. & Wellman, C.L. (2005). Mild, short-term stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, 15(11):1714-1722.
- Brummelte, S. & Teuchert-Noodt, G. (2006). Postnatal development of dopamine innervation in the amygdala and the entorhinal cortex of the gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Brain Research*, 1125(1):9-16.
- Busche, A., Polascheck, D., Lesting, J., Neddens, J. & Teuchert-Noodt, G. (2004). Developmentally induced imbalance of dopaminergic fibre densities in limbic brain regions of gerbils ( *Meriones unguiculatus*). *Journal of Neural Transmission*, 111(4):451-63.
- Caldji, C., Tannenbaum, B., Sharma, S., Francis, D., Plotsky, P.M. & Meaney, M.J. (1998). Maternal care during infancy regulates the development of neural systems mediating the expression of fearfulness in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(9):5335-5340.
- Cameron, N.M., Champagne, F.A., Parent, C., Fish, E.W., Ozaki-Kuroda, K. & Meaney, M.J. (2005). The programming of individual differences in defensive responses and reproductive strategies in the rat through variations in maternal care. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29(4-5):843-865.
- Cardinal, R.N. (2003). Emotion and Motivation. *Natural Sciences Tripos, 1B Psychology*. (online unter: [http://egret.psychol.cam.ac.uk/psychology/2002-3/HANDOUT\\_1B\\_Emotion\\_Motivation\\_3.pdf](http://egret.psychol.cam.ac.uk/psychology/2002-3/HANDOUT_1B_Emotion_Motivation_3.pdf))
- Cardinal, R.N., Winstanley, C.A. Robbins, T.W. & Everitt, B.J. (2004). Limbic corticostriatal systems and delayed reinforcement. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1021:33-50.
- Carrasco, G.A. & Van de Kar, L.D. (2002). Neuroendocrine pharmacology oft stress. *European Journal of Pharmacology*, 463: 235-272.
- Cavada, C., Company, T., Tejedor, J., Cruz-Rizzolo, R.J. & Reinoso-Suarez, F. (2000). The anatomical connections of the macaque monkey orbitofrontal cortex. A review. *Cerebral Cortex*, 10(3):220-242.

- Celio, M.R. (1990). Calbindin D-28k and Parvalbumin in the rat nervous system. *Neuroscience*, 35 (2):375-475.
- Cetin, T., Freudenberg, F., Füchtmeier, M. & Koch, M. (2004). Dopamine in the orbitofrontal cortex regulates operant responding under a progressive ratio of reinforcement in rats. *Neuroscience Letters*, 370:114-117.
- Chen, Y., Bender, R.A., Brunson, K.L., Pomper, J.K., Grigoriadis, D.E., Wurst, W. & Baram, T.Z. (2004). Modulation of dendritic differentiation by corticotropin-releasing factor in the developing hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(44):15782-15787.
- Chen, Y., Bender, R.A., Frotscher, M. & Baram, T.Z. (2001). Novel and transient populations of corticotropin-releasing hormone-expressing neurons in developing hippocampus suggest unique functional roles: a quantitative spatiotemporal analysis. *The Journal of Neuroscience*, 21(18):7171-7181.
- Chen, Y., Brunson, K.L., Adelman, G., Bender, R.A., Frotscher, M. & Baram, T.Z. (2004). Hippocampal corticotropin releasing hormone: pre- and postsynaptic location and release by stress. *Neuroscience*, 126: 533-540.
- Coleman, R.W. & Provence, S. (1957). Environmental retardation (hospitalism) in infants living in families. *Pediatrics*, 19(2):285-292.
- Colorado, R.A., Shumake, J., Conejo, N.M., Gonzalez-Pardo, H. & Gonzalez-Lima, F. (2006). Effects of maternal separation, early handling, and standard facility rearing on orienting and impulsive behavior of adolescent rats. *Behavioural Processes*, 71:51-58.
- Davidson, R.J., Putnam, K.M. & Larson, C.L. (2000). Dysfunction in the neural circuitry of emotion regulation—a possible prelude to violence. *Science*, 289(5479):591-594.
- Davis, M. & Whalen, P.J. (2001). The amygdala: vigilance and emotion. *Molecular Psychiatry*, 6: 13-34.
- Davis, M. (2000). The role of the amygdala in conditioned and unconditioned fear and anxiety. In: Aggleton, J.P. (2000). *The amygdala: a functional analysis (2nd edition)*. New York: Oxford University Press.
- Dellu-Hagedorn, F., Trunet, S. & Simon, H. (2004). Impulsivity in youth predicts early age-related cognitive deficits in rats. *Neurobiology of Aging*, 25(4):525-537.
- Eliava, M., Yilmazer-Hanke, D., Asan, E. (2003). Interrelations between monoaminergic afferents and corticotropin-releasing factor-immunoreactive neurons in the rat central amygdaloid nucleus: ultrastructural evidence for dopaminergic control of amygdaloid stress systems. *Histochemistry and Cell Biology*, 20(3):183-197.
- Erb, S., Salmaso, N., Rodaro, D. & Stewart, J. (2001). A role for the CRF-containing pathway from central nucleus of the amygdala to bed nucleus of the stria terminalis in the stress-induced reinstatement of cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology*, 158: 360-365.
- Erecinska, M., Nelson, D., Daikhin, Y. & Yudkoff, M. (1996). Regulation of GABA level in rat brain synaptosomes: fluxes through enzymes of the GABA shunt and effects of glutamate, calcium, and ketone bodies. *Journal of Neurochemistry*, 67(6):2325-2334.
- Erhard, R. & Janig, H. (2003). Folgen von Vaterentbehrung: Eine Literaturstudie. unter: [http://bmsgk.cms.apa.at/cms/site/attachments/7/6/8/CH0124/CMS1060093253921/folgen\\_von\\_vaterentbehrung.pdf](http://bmsgk.cms.apa.at/cms/site/attachments/7/6/8/CH0124/CMS1060093253921/folgen_von_vaterentbehrung.pdf)
- Esclapez, M., Tillakaratne, N.J., Kaufman, D.L., Tobin, A.J. & Houser, C.R. (1994). Comparative localization of two forms of glutamic acid decarboxylase and their mRNAs in rat brain supports the concept of functional differences between the forms. *The Journal of Neuroscience*, 14(3 Pt 2):1834-1855.

- Evenden, J.L. (1998). The pharmacology of impulsive behaviour in rats II: the effects of amphetamine, haloperidol, imipramine, chlordiazepoxide and other drugs on fixed consecutive number schedules (FCN 8 and FCN 32). *Psychopharmacology*, 138(3-4):283-294.
- Evenden, J.L. (1999) Impulsivity: a discussion of clinical and experimental findings. *Journal of Psychopharmacology*, 13(2):180-192.
- Evenden, J.L. (1999). Varieties of impulsivity. *Psychopharmacology*, 146(4):348-361.
- Feldman, M.L. & Peters, A. (1979). A technique for estimating total spine numbers on Golgi-impregnated dendrites. *The Journal of Comparative Neurology*, 188(4):527-542.
- Ferrucci, M., Busceti, C.L., Falleni, A., Giorgi, F.S., Ruggieri, S. & Fornai, F. (2006). Effects of methamphetamine on the cerebellar cortex: a preliminary study. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1074:149-153.
- Fiala, J.C., Spacek, J. & Harris, K.M. (2002). Dendritic spine pathology: cause or consequence of neurological disorders? *Brain Research. Brain Research Reviews*, 39(1):29-54.
- File, S.E., Gonzalez, L.E. & Gallant, R. (1998). Role of the basolateral nucleus of the amygdala in the formation of a phobia. *Neuropsychopharmacology*, 19(5):397-405.
- Foroud, A., Whishaw, I.Q. & Pellis, S.M. (2004). Experience and cortical control over the pubertal transition to rougher play fighting in rats. *Behavioural Brain Research*, 149(1):69-76.
- Franz, M., Lieberz, K., Schmitz, N. & Schepank, H. (1999). Wenn der Vater fehlt. Epidemiologische Befunde zur Bedeutung früher Abwesenheit des Vaters für die psychische Gesundheit im späteren Leben. *Zeitschrift für Psychosomatische Medizin*, 45:260-278.
- Freund, T.F. (2003). Interneuron diversity series: Rhythm and mood in perisomatic inhibition. *Trends in Neuroscience*, 26(9):489-495.
- Freund, T.F., Gulyàs, A.I., Acsády, T., Görcs, T. & Tóth, K. (1990). Serotonergic control of the hippocampus via local interneurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 87: 8501-8505.
- Friedel, R.O. (2004). Dopamine dysfunction in borderline personality disorder: a hypothesis. *Neuropsychopharmacology*, 29(6):1029-1039.
- Frotscher, M. & Leranth, C. (1988). Catecholaminergic innervation of pyramidal and GABAergic nonpyramidal neurons in the rat hippocampus. Double label immunostaining with antibodies against tyrosine hydroxylase and glutamate decarboxylase. *Histochemistry*, 88(3-6):313-319.
- Fuster, J.M. (2000). Prefrontal neurons in networks of executive memory. *Brain Research Bulletin*, 52(5):331-336.
- Gabbott, P.L., Warner, T.A., Jays, P.R., Salway, P. & Busby, S.J. (2005). Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *The Journal of Comparative Neurology*, 492(2):145-177.
- Gage, F.H. & van Praag, H. (2002). Neurogenesis in adult brain. In: Davis, K.L., Charney, D., Coyle, J.T. & Nemeroff, C. (2002). *Neuropsychopharmacology: The fifth generation of progress. American College of Neuropsychopharmacology*. (online unter: <http://www.acnp.org/default.aspx?Page=Home>).
- Gao, W.J., Wang, Y., Goldman-Rakic, P.S. (2003). Dopamine modulation of perisomatic and peridendritic inhibition in prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience*, 23(5):1622-1630.
- Garey, L.J., Ong, W.Y., Patel, T.S., Kanani, M., Davis, A., Mortimer, A.M., Barnes, T.R.E. & Hirsch, S.R. (1998). Reduced dendritic spine density on cerebral cortical pyramidal neurons in schizophrenia. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 65:446-453.
- Garfield, C.F. & Isacco, A. (2006). Fathers and the well-child visit. *Pediatrics*, 117(4):637-645.

- Gerfen, C.R., Baimbridge, K.G. & Miller, J.J. (1985). The neostriatal mosaic: compartmental distribution of calcium-binding protein and parvalbumin in the basal ganglia of the rat and monkey. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 82(24):8780-8784.
- Glickstein, M. (2006). Golgi and Cajal: The neuron doctrine and the 100th anniversary of the 1906 Nobel Prize. *Current Biology*, 16(5): R147-R151.
- Golgi, C., Bentivoglio, M. & Swanson, L. (2001). On the fine structure of the pes Hippocampi major (with plates XIII-XXIII). 1886. *Brain Research Bulletin*, 54(5):461-483.
- Gos, T., Becker, K., Bock, J., Malecki, U., Bogerts, B., Poeggel, G. & Braun, K. (2006). Early neonatal and postweaning social emotional deprivation interferes with the maturation of serotonergic and tyrosine hydroxylase-immunoreactive afferent fiber systems in the rodent nucleus accumbens, hippocampus and amygdala. *Neuroscience*, 140(3):811-821.
- Grace, A. A. (2002). *Dopamine*. In: Davis, K.L., Charney, D., Coyle, J.T. & Nemeroff, C. (2002). Neuropsychopharmacology: The fifth generation of progress. American College of Neuropsychopharmacology. (online unter: <http://www.acnp.org/default.aspx?Page=Home>).
- Gray, T.S. (1993). Amygdaloid CRF pathways. Role in autonomic, neuroendocrine, and behavioral responses to stress. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 697:53-60.
- Grutzendler, J., Kasthuri, N. & Gan, W.B. (2002). Long-term dendritic spine stability in the adult cortex. *Nature*, 420(6917):751-752.
- Gu, Q. (2002). Neuromodulatory transmitter systems in the cortex and their role in cortical plasticity. *Neuroscience*, 111(4):815-835.
- Gubernick, D.J. & Teferi, T. (2000). Adaptive significance of male parental care in a monogamous mammal. *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 267(1439):147-150.
- Gulyàs, A.I. & Freund, T.F. (1996). Pyramidal cell dendrites are the primary targets of calbindin D28k-immunoreactive interneurons in the hippocampus. *Hippocampus*, 6(5):525-534.
- Gulyàs, A.I., Hajos, N. & Freund, T.F. (1996). Interneurons containing calretinin are specialized to control other interneurons in the rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 16(10):3397-3411.
- Gulyàs, A.I., Megias, M., Emri, Z. & Freund, T.F. (1999). Total number and ratio of excitatory and inhibitory synapses converging onto single interneurons of different types in the CA1 area of the rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 19(22):10082-10097.
- Gulyas, A.I., Toth, K., Danos, P. & Freund, T.F. (1991). Subpopulations of GABAergic neurons containing parvalbumin, calbindin D28k, and cholecystokinin in the rat hippocampus. *The Journal of Comparative Neurology*, 312(3):371-378.
- Harms, K.J. & Dunaevsky, A. (2006). Dendritic spine plasticity: Looking beyond development. *Brain Research: in press*.
- Hasue, R.H. & Shammah-Lagnado, S.J. (2002). Origin of the dopaminergic innervation of the central extended amygdala and accumbens shell: a combined retrograde tracing and immunohistochemical study in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 454(1):15-33.
- Heckers, S. & Konradi, C. (2002). Hippocampal neurons in schizophrenia. *Journal of Neuronal Transmission*, 109:891-905.
- Heim, C. & Nemeroff, C.B. (1999). The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. *Biological Psychiatry*, 49: 1023-1039.
- Heizmann, C.W. & Braun, K. (1995). *Calcium regulation by calcium-binding proteins in neurodegenerative disorders*. Heidelberg: Springer.



- Helmeke, C., Becker, K., Bredy, T.W., Schroeter, A., Abraham, A. & Braun, K. (2007). Paternal deprivation results in reduced spine densities in the orbitofrontal cortex and enhances the frequency of play-fighting behavior. In prep.
- Helmeke, C. (2003). Einfluss frühkindlicher Sozialerfahrung auf die funktionelle Reifung des anterioren cingulären Cortex der Strauchratte (*Octodon degus*). *Dissertationsschrift*, Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg.
- Helmeke, C., Ovtscharoff Jr, W., Poeggel, G. & Braun, K. (2001). Juvenile emotional experience alters synaptic inputs on pyramidal neurons in the anterior cingulate cortex. *Cerebral Cortex*, 11:717-727
- Helmeke, C., Poeggel, G. & Braun, K. (2001). Differential emotional experience induces elevated spine densities on basal dendrites of pyramidal neurons in the anterior cingulate cortex of *Octodon degus*. *Neuroscience*, 104:927-931.
- Herpertz, S. & Sass, H. (1997). Impulsiveness and impulse control. On the psychological and psychopathological conceptualisation. *Nervenarzt*, 68(3):171-183.
- Hof, P.R., Glezer, I.I., Conde, F., Flagg, R.A., Rubin, M.B., Nimchinsky, E.A., Vogt-Weisenhorn, D.M. (1999). Cellular distribution of the calcium-binding proteins parvalbumin, calbindin, and calretinin in the neocortex of mammals: phylogenetic and developmental patterns. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 16(2):77-116.
- Hopkins, W.F. & Johnston, D. (1988). Noradrenergic enhancement of long-term potentiation at mossy fiber synapses in the hippocampus. *Journal of Neurophysiology*, 59(2):667-687
- Hornak, J., Bramham, J., Rolls, E.T., Morris, R.G., O'Doherty, J., Bullock, P.R. & Polkey, C.E. (2003). Changes in emotion after circumscribed surgical lesions of the orbitofrontal and cingulate cortices. *Brain*, 126(Pt 7):1691-1712.
- Horner, C.H. & Arbuthnott E. (1991). Methods of estimation of spine density-are spines evenly distributed throughout the dendritic field? *Journal of Anatomie*, 177:179-184.
- Hornung, J.P. & Celio, M.R. (1992). The selective innervation by serotonergic axons of Calbindin-containing interneurons in the neocortex and hippocampus of the marmoset. *The Journal of Comparative Neurology*, 320:457-467.
- Huttenlocher, P.R. (1979). Synaptic density in human frontal cortex-developmental changes and effects of aging. *Brain Research*, 163(2):195-205.
- Iacopino, A.M. & Christakos, S. (1990). Corticosterone regulates calbindin-D28k mRNA and protein levels in rat hippocampus. *The Journal of Biological Chemistry*, 265(18):10177-10180.
- Ishida, Y., Shirokawa, T., Miyaishi, O., Komatsu, Y. & Isobe, K. (2000). Age-dependent changes in projections from locus coeruleus to hippocampus dentate gyrus and frontal cortex. *European Journal of Neuroscience*, 12(4):1263-1270.
- Jantschke, B., Welker, C., Klaiber-Schuh, A. (1998). Rearing without Paternal Help in the Bolivian Owl Monkey *Aotus azarae boliviensis*: A Case Study 1. *Folia Primatologica*, 69:115-120.
- Jiang, M., Lee, C.L., Smith, K.L. & Swann, J.W. (1998). Spine loss and other persistent alterations of hippocampal pyramidal cell dendrites in a model of early-onset epilepsy. *The Journal of Neuroscience*, 18(20):8356-8368.
- Kahle, W. & Frotscher, M. (2002). *Taschenatlas der Anatomie, Bd.3: Nervensystem und Sinnesorgane*. Stuttgart: Thieme.
- Kandel, E.R., Schwartz, J.H. & Jessell, T.M. (1996). *Neurowissenschaften: Eine Einführung*. Heidelberg: Spektrum Verlag.
- Kim, J.J. & Yoon, K.S. (1998). Stress: metaplastic effects in the hippocampus. *Trends in Neuroscience*, 21(12):505-509.

- Kindler, H. & Grossmann, K. (2004). Vater-Kind-Bindung und die Rolle der Väter in den ersten Lebensjahren ihrer Kinder. In: L. Ahner. (2004) *Frühe Bindung. Entstehung und Entwicklung*. München/Basel: Ernst Reinhardt Verlag.
- Koegler-Muly, S.M., Owens, M.J., Ervin, G.N., Kilts, C.D. & Nemeroff, C.B. (1993). Potential corticotropin-releasing factor pathways in the rat brain as determined by bilateral electrolytic lesions of the central amygdaloid nucleus and the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Journal of Neuroendocrinology*, 5(1):95-98.
- Kolb, B., Pellis, S. & Robinson, T.E. (2004). Plasticity and functions of the orbital frontal cortex. *Brain and Cognition*, 55(1):104-115.
- Krech, D. & Crutchfield, R.S. (1992). *Grundlagen der Psychologie*. Augsburg: Bechtermünz Verlag.
- Krettek, J.E. & Price, J.L. (1977). The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 171(2):157-191.
- LeDoux, J. (2000). The amygdala and emotion: a view through fear. In: Aggleton, J.P. (2000). *The amygdala: a functional analysis (2nd edition)*. New York: Oxford UP.
- Lee, T.M. (2004). Octodon degus: a diurnal, social, and long-lived rodent. *ILAR journal/National Research Council, Institute of Laboratory Animal Resources*, 45(1):14-24.
- Lehmann, J. & Feldon, J. (2000). Long-term biobehavioral effects of maternal separation in the rat: consistent or confusing?. *Reviews in Neuroscience*, 11:383-408.
- Levitt, P., Eagleson, K.L. & Powell, E.M. (2004). Regulation of neocortical interneuron development and the implications for neurodevelopmental disorders. *Trends in Neurosciences*, 27(7):400-406.
- Lewis, D.A., Hashimoto, T. & Volk, D.W. (2005). Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nature Reviews. Neuroscience*, 6(4): 312-324.
- Lewis, D.A., Campbell, M.J., Foote, S.L., Goldstein, M. & Morrison, J.H. (1987). The distribution of tyrosine hydroxylase-immunoreactive fibers in primate neocortex is widespread but regionally specific. *Journal of Neuroscience*, 7: 279-290.
- Libhaber, N. & Eilam, D. (2004). Parental investment in social voles varies and relatively independent of litter size. *Journal of Mammalogy*, 85(4): 748-755.
- Liu, D., Diorio, J., Day, J.C., Francis, D.D. & Meaney, M.J. (2000). Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. *Nature Neuroscience*, 3:799-806.
- Lonstein, J.S. & De Vries, G.J. (1999). Sex differences in the parental behaviour of adult virgin prairie voles: independence from gonadal hormones and vasopressin. *Journal of Neuroendocrinology*, 11(6):441-449.
- Lowenstein, D.H., Miles, M.F., Hatam, F. & McCabe, T. (1991). Up regulation of calbindin-D28K mRNA in the rat hippocampus following focal stimulation of the perforant path. *Neuron*, 6(4):627-633.
- Ma, Y.L., Chen, K.Y., Wei, C.L. & Lee, E.H. (1999). Corticotropin-releasing factor enhances brain-derived neurotrophic factor gene expression to facilitate memory retention in rats. *Chinese Journal of Physiology*, 42(2):73-81.
- Maccaferri, G. & Lacaille, J.C. (2003). Interneuron Diversity series: Hippocampal interneuron classifications-making things as simple as possible, not simpler. *Trends in Neurosciences*, 26(10):564-571.
- Maren, S. (1999). Long-term potentiation in the amygdala: a mechanism for emotional learning and memory. *Trends in Neuroscience*, 22(12) 561-567.
- McDonald, A.J. & Betette, R.L. (2001). Parvalbumin-containing neurons in the rat basolateral amygdala: morphology and co-localization of Calbindin-D(28k). *Neuroscience*, 102(2):413-425.

- McDonald, A.J. (1997). Calbindin-D28k immunoreactivity in the rat amygdala. *The Journal of Comparative Neurology*, 383:231-244.
- McEwen, B.S. (1999). Stress and the aging hippocampus. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 20(1):49-70.
- McEwen, B.S. (2001). Plasticity of the hippocampus: adaptation to chronic stress and allostatic load. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 933:265-277.
- McGaugh, J.L. (2002). Memory consolidation and the amygdala: a systems perspective. *Trends in Neuroscience*, 25(9):456.
- McGaugh, J.L., McIntyre, C.K. & Power, A.E. (2002). Amygdala modulation of memory consolidation: interaction with other brain systems. *Neurobiology of Learning and Memory*, 78(3):539-552.
- McKinney, R.A. (2005). Physiological roles of spine motility: development, plasticity and disorders. *Biochemical Society Transactions*, 33(Pt 6):1299-1302.
- Meaney, M.J., Mitchell, J.B., Aitken, D.H., Bhatnagar, S., Bodnoff, S.R., Iny, L.J. & Sarrieau, A. (1991). The effects of neonatal handling on the development of the adrenocortical response to stress: implications for neuropathology and cognitive deficits in later life. *Psychoneuroendocrinology*, 16(1-3):85-103.
- Miettinen, R., Gulyàs, A.I., Baimbridge, K.G., Jacobowitz, D.M. & Freund, T.F. (1992). Calretinin is present in non-pyramidal cells of rat hippocampus - II. Coexistence with other calcium binding proteins and GABA. *Neuroscience*, 48(1) 29-43.
- Milner, T.A. & Bacon, C.E. (1989). GABAergic neurons in the rat hippocampal formation: ultrastructure and synaptic relationships with catecholaminergic terminals. *The Journal of Neuroscience*, 9(10):3410-3427.
- Milner, T.A. & Bacon, C.E. (1989). Ultrastructural localization of tyrosine hydroxylase-like immunoreactivity in the rat hippocampal formation. *The Journal of Comparative Neurology*, 281(3):479-495.
- Mirescu, C., Peters, J.D. & Gould, E. (2004). Early experience alters response of adult neurogenesis to stress. *Nature Neuroscience*, 7(8): 841-846.
- Moon, J.S., Kim, J.J., Chang, I.Y., Chung, Y.Y., Jun, J.Y., You, H.J. & Yoon, S.P. (2002). Postnatal development of parvalbumin and calbindin D-28k immunoreactivities in the canine anterior cingulate cortex: transient expression in layer V pyramidal cells. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 20(6):511.
- Mott, D.D. & Dingledine, R. (2003). Interneuron diversity series: Interneuron research - challenges and strategies. *Trends in Neuroscience*, 26 (9): 484-488.
- Moudy, A.M., Kunkel, D.D. & Schwartzkroin, P.A. (1993). Development of dopamine-beta-hydroxylase-positive fiber innervation of the rat hippocampus. *Synapse*, 15(4):307-318.
- Murmu, M.S., Salomon, S., Biala, Y., Weinstock, M., Braun, K., Bock, J. (2006). Changes of spine density and dendritic complexity in the prefrontal cortex in offspring of mothers exposed to stress during pregnancy. *The European Journal of Neuroscience*, 24(5):1477-1487.
- Nieoullon, A. & Coquerel, A. (2003). Dopamine: a key regulator to adapt action, emotion, motivation and cognition. *Current Opinion in Neurology*, 16 Supplement 2:3-9.
- Nieoullon, A. (2002). Dopamine and the regulation of cognition and attention. *Progress in Neurobiology*, 67(1):53-83.
- Nieuwenhuys, R. (1994). The neocortex. An overview of its evolutionary development, structural organization and synaptology. *Anatomy and Embryology*, 190(4):307-337.
- O'Neill, R. (2002). Experiments in Living: The Fatherless Family. *CIVITAS*, September, 1-20. (online unter: <http://www.civitas.org.uk/pubs/experiments.php>)

- Ohara, P.T., Granato, A., Moallem, T.M., Wang, B.R., Tillet, Y. & Jasmin, L. (2003). Dopaminergic input to GABAergic neurons in the rostral agranular insular cortex of the rat. *Journal of neurocytology*, 32(2):131-141.
- Oleskevich, S., Descarries, L. & Lacaille, J.C. (1989). Quantified distribution of the noradrenaline innervation in the hippocampus of adult rat. *The Journal of Neuroscience*, 9(11):3803-3815.
- Ongur, D. & Price, J. L.(2000). The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cerebral Cortex*, 10(3):206-219.
- Ovtscharoff, W. Jr., Helmeke, C. & Braun, K. (2006). Lack of paternal care affects synaptic development in the anterior cingulate cortex. *Brain Research*, 1116(1):58-63.
- Ovtscharoff Jr, W. & Braun, K. (2001). Maternal separation and social isolation modulate the postnatal development of synaptic composition in the infralimbic cortex of Octodon degus. *Neuroscience*, 104:33-40.
- Palagi, E., Cordoni, G. & Borgognini Tarli, S. M. 2004). Immediate and delayed benefits of play behaviour: new evidence from chimpanzees (Pan troglodytes). *Ethology*, 110: 949-962.
- Paxinos, G. & Watson, C. (2004). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.
- Pellis, S.M., Hastings, E., Shimizu, T., Kamitakahara, H., Komorowska, J., Forgie, M.L. & Kolb, B. (2006). The effects of orbital frontal cortex damage on the modulation of defensive responses by rats in playful and nonplayful social contexts. *Behavioral Neuroscience*, 120(1):72-84.
- Pellis, S.M. & Pellis, V.C. In: Whishaw, I.Q. & Kolb, B. (2005). *The behavior of the laboratory rat*. New York: Oxford University Press.
- Pellis, S.M. & Pellis, V.C. (1998). Play fighting of rats in comparative perspective: a schema for neurobehavioral analyses. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 23(1):87-101.
- Pezze, M.A. & Feldon, J. (2004). Mesolimbic dopaminergic pathways in fear conditioning. *Progress in Neurobiology*, 74:301-320.
- Piekut, D.T. & Phipps, B. (1998). Increased corticotropin-releasing factor immunoreactivity in select brain sites following kainate elicited seizures. *Brain Research*, 781(1-2):100-113.
- Pitkänen A., Savander, V. & LeDoux, J.E. (1997). Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends in Neuroscience*, 20(11):517-523.
- Pitkänen, A. (2000). Connectivity of the rat amygdaloid complex. In: Aggleton, J.P. (2000). *The amygdala: a functional analysis (2nd edition)*. New York: Oxford University Press.
- Poeggel, G., Helmeke, C., Abraham, A., Schwabe, T., Friedrich, P. & Braun, K. (2003). Juvenile emotional experience alters synaptic composition in the rodent cortex, hippocampus, and lateral amygdala. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100:16137-16142.
- Poeggel, G., Nowicki, L. & Braun, K. (2003). Early social deprivation alters monoaminergic afferents in the orbital prefrontal cortex of Octodon degus. *Neuroscience*, 116(3):617-620.
- Prensa, L., Gimenez-Amaya, J.M. & Parent, A. (1998). Morphological features of neurons containing calcium-binding proteins in the human striatum. *The Journal of Comparative Neurology*, 390(4):552-563.
- Prut, L. & Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology*, 463(1-3):3-33.
- Rees, S.L., Lovic, V. & Fleming, A.S. In: Whishaw, I.Q. & Kolb, B. (2005). *The behavior of the laboratory rat*. New York: Oxford University Press.

- Reynolds, G.P., Beasley, C.L. & Zhang, Z.J. (2002). Understanding the neurotransmitter pathology of schizophrenia: selective deficits of subtypes of cortical GABAergic neurons. *Journal of Neural Transmission*, 109(5-6):881-889.
- Reynolds, T.J. & Wright, J.W. (1979). Early postnatal physical and behavioural development of degus (*Octodon degus*). *Laboratory Animals*, 13:92-99.
- Rolls, E.T. (2004). The functions of the orbitofrontal cortex. *Brain and Cognition*, 55(1):11-29.
- Rosenkranz, J.A. & Grace, A.A. (1999). Modulation of basolateral amygdala neuronal firing and afferent drive by dopamine receptor activation in vivo. *Journal of Neuroscience*, 19(24):11027-11039.
- Sah, P., Faber, E.S.L., Lopez de Arementia, M. & Power, J. (2003). The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiological Reviews*, 83:803-834.
- Scharfman, H.E., Goodman, J.H. & Sollas, A.L. (2000). Granule-like neurons at the hilar/CA3 border after status epilepticus and their synchrony with area CA3 pyramidal cells: functional implications of seizure-induced neurogenesis. *The Journal of Neuroscience*, 20(16):6144-6158.
- Schradin, C. & Pillay, N. (2003). Paternal care in the social and diurnal striped mouse (*Rhabdomys pumilio*): laboratory and field evidence. *Journal of Comparative Psychology*, 117(3):317-324.
- Segal, M. (2005). Dendritic spines and long-term plasticity. *Nature Reviews. Neuroscience*, 6:277-284.
- Sesack, S.R., Hawrylak, V.A., Melchitzky, D.S. & Lewis, D.A. (1998). Dopamine innervation of a subclass of local circuit neurons in monkey prefrontal cortex: ultrastructural analysis of tyrosine hydroxylase and parvalbumin immunoreactive structures. *Cerebral Cortex*, 8(7):614-622.
- Shors, T.J., Falduto, J. & Leuner, B. (2004). The opposite effects of stress on dendritic spines in male vs. female rats are NMDA receptor-dependent. *European Journal of Neuroscience*, 19:145-150.
- Soloff, P.H., Meltzer, C.C., Becker, C., Greer, P.J., Kelly, T.M. & Constantine, D. (2003). Impulsivity and prefrontal hypometabolism in borderline personality disorder. *Psychiatry Research*, 123(3):153-163.
- Spitz, R.A. (1945). Hospitalism-An Inquiry Into the Genesis of Psychiatric Conditions. *Psychoanalytic Study of The Child*, 1:53-74.
- Squire, L.R. & Kandel, E.R. (1999). *Gedächtnis: Die Natur des Erinnerns*. Berlin: Spektrum.
- Stone, D.J., Walsh, J. & Benes, F.M. (1999). Localization of cells preferentially expressing GAD(67) with negligible GAD(65) transcripts in the rat hippocampus. A double in situ hybridization study. *Brain research. Molecular Brain Research*, 71(2):201-109.
- Strange, P. G. (2000). Dopamine Receptors, *Tocris Reviews*, 15. (online unter: <http://www.biotrend.com/reviews/>)
- Swanson, L.W. & Petrovich, G.D. (1998). What is the amygdala? *Trends in Neuroscience*, 21 (8): 323-331.
- Teicher, M.H., Andersen, S.L., Polcari, A., Anderson, C.M., Navalta, C.P., Kim, D.M. (2003). The neurobiological consequences of early stress and childhood maltreatment. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 27(1-2):33-44.
- Thomas, J.A. & Birney, E.C. (1979). Parental care and mating system of prairie voles, *Microtus ochrogaster*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 5: 171-186.
- Trepel, M. (1999). *Neuroanatomie. Struktur und Funktion. 2. überarbeitete Auflage*. München, Jena: Urban & Fischer Verlag.
- Van Eden, C.G. & Uylings, H.B. (1985). Cytoarchitectonic development of the prefrontal cortex in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 241(3):253-267.

- Vanderschuren, L.J., Niesink, R.J. & Van Ree, J.M. (1997). The neurobiology of social play behavior in rats. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 21(3):309-326.
- Vermetten, E., Schmahl, C., Lindner, S., Loewenstein, R.J. & Bremner, J.D. (2006). Hippocampal and amygdalar volumes in dissociative identity disorder. *The American Journal of Psychiatry*, 163(4):630-636.
- Von Euler, U.S.(1971). Synthese, Speicherung und Freisetzung des adrenergischen Neurotransmitters. *Klinische Wochenschrift*, 49(9):524-529.
- Walling, S.G. & Harley, C.W. (2004). Locus ceruleus activation initiates delayed synaptic potentiation of perforant path input to the dentate gyrus in awake rats: a novel beta-adrenergic- and protein synthesis-dependent mammalian plasticity mechanism. *The Journal of Neuroscience*, 24(3):598-604.
- Whiteside, S.P. & Lynam, D.R. (2000). The Five Factor Model and impulsivity: using a structural model of personality to understand impulsivity. *Personality and Individual Differences*, 30: 669-689.
- Wilson, S.C. (1982). Contact-promoting behavior, social development, and relationship with parents in sibling juvenile degus (*Octodon degus*). *Developmental Psychobiology*, 15:257-268.
- Wilson, S.C. & Kleiman, D.G. (1974). Eliciting Play: A Comparative Study: (Octodon, Octodontomys, Pediolagus, Phoca, Chocropsis, Ailuropoda). *American Zoologist*, 14(1):341-370.
- Winstanley, C.A., Theobald, D.E., Cardinal, R.N. & Robbins, T.W. (2004). Contrasting roles of basolateral amygdala and orbitofrontal cortex in impulsive choice. *Journal of Neuroscience*, 24(20):4718-4722.
- Winterfeld, K.T., Teuchert-Noodt, G. & Dawirs, R.R. (1998). Social environment alters both ontogeny of dopamine innervation of the medial prefrontal cortex and maturation of working memory in gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Journal of Neuroscience Research*, 52(2):201-209.
- Wirth, M.J., Brun, A., Grabert, J., Patz, S. & Wahle, P.(2003). Accelerated dendritic development of rat cortical pyramidal cells and interneurons after biolistic transfection with BDNF and NT4/5. *Development*, 130(23):5827-5838.
- Wood, D.A., Siegel, A.K. & Rebec, G.V. (2006). Environmental enrichment reduces impulsivity during appetitive conditioning. *Physiology & Behavior*, 88:132-137.
- Wright, S.L & Brown, R.E. (2000). Maternal behavior, paternal behavior, and pup survival in CD-1 albino mice (*Mus musculus*) in three different housing conditions. *Journal of Comparative Psychology*, 114:183-192.
- Yan, X.X., Baram, T.Z., Gerth, A., Schultz, L. & Ribak, C.E. (1998). Co-localization of corticotropin-releasing hormone with glutamate decarboxylase and calcium-binding proteins in infant rat neocortical interneurons. *Experimental Brain Research*, 123:334-340.
- Yan, X.X., Toth, Z., Schultz, L., Ribak, C.E., Baram, T.Z. (1998). Corticotropin-releasing hormone (CRH-) containing neurons in the immature rat hippocampal formation: light and electron microscopic features and colocalization with glutamate decarboxylase and Parvalbumin. *Hippocampus*, 8:231-243.
- Yoon, S.P., Chung, Y.Y., Chang, I.Y., Kim, J.J., Moon, J.S. & Kim, H.S. (2000). Postnatal development of parvalbumin and calbindin D-28k immunoreactivities in the canine hippocampus. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 19(3):143-154.
- Zaharia, M.D., Kulczycki, J., Shanks, N., Meaney, M.J. & Anisman, H. (1996). The effects of early postnatal stimulation on Morris water-maze acquisition in adult mice: genetic and maternal factors. *Psychopharmacology (Berl)*, 128(3):227-239.
- Zaitsev, A.V., Gonzalez-Burgos, G., Povysheva, N.V., Kröner, S., Lewis, D.A. & Krimer, L.S. (2005). Localization of calcium-binding proteins in physiologically and morphologically

characterized interneurons of monkey dorsolateral prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, 15:1178-1186.

Zhang, Z.J. & Reynolds, G.P. (2002). A selective decrease in the relative density of parvalbumin-immunoreactive neurons in the hippocampus in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 55:1-10.

Ziabreva, I., Poeggel, G., Schnabel, R. & Braun, K. (2003). Separation-induced receptor changes in the hippocampus and amygdala of *Octodon degus*: influence of maternal vocalizations. *Journal of Neuroscience*, 23:5329-5336.

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Degu ( <i>Octodon degus</i> ).....	11
Abbildung 2: Übersicht zu den Fragestellungen.....	13
Abbildung 3: Analyseeinheiten.....	14
Abbildung 4: Degufamilie.....	15
Abbildung 5: Verschaltung ausgewählter Strukturen des limbischen Systems (vereinfachtes Schema).....	17
Abbildung 6: Subregionen und afferente/efferente Verbindungen des OFC (keine Vollständigkeit).....	19
Abbildung 7: Innervationsschema einer corticalen Pyramidenzelle.....	20
Abbildung 8: Einzelne Subkerne der Amygdala.....	21
Abbildung 9: Analysierte Subregionen und afferente/efferente Verschaltung der Amygdala (keine Vollständigkeit).....	22
Abbildung 10: Schichtung des Gyrus dentatus und CA1-Region des Hippocampus.....	24
Abbildung 11: Afferente/efferente Verschaltungen des Gyrus dentatus und der CA1-Region des Hippocampus (keine Vollständigkeit).....	24
Abbildung 12: Pyramidenzelle des OFC.....	27
Abbildung 13: Innervationsschema einer Pyramidenzelle durch CaBP-D28k- und PARV-exprimierende Interneurone.....	29
Abbildung 14: Innervationsschema einer hippocampalen Pyramidenzelle durch ein CRF-exprimierendes Neuron.....	32
Abbildung 15: Dopamin-/Noradrenalin-Synthese.....	33
Abbildung 16: Dopaminerge Innervation des präfrontalen Cortex und des basolateralen Kernkomplexes der Amygdala (schematisch).....	34
Abbildung 17: Analyse des Verhaltens.....	37
Abbildung 18: Morphologische und neurochemische Analyse (keine Vollständigkeit der analysierten Regionen und neurochemischen Marker).....	38
Abbildung 19: Gehege.....	39
Abbildung 20: Spielverhalten („Play fighting“).....	43
Abbildung 21: Schematische Darstellung der Grundfläche der Open-Field-Arena.....	44
Abbildung 22: Skinner-Box-Apparatur.....	48
Abbildung 23: Training/Gewöhnung (Tag 3).....	49
Abbildung 24: Training (Tag 4).....	49
Abbildung 25: Training (Tag 5).....	49
Abbildung 26: Training (Tag 6).....	50
Abbildung 27: FCN-Training (FCN-1).....	50
Abbildung 28: Training (FCN-3).....	50
Abbildung 29: Training (FCN-5).....	51
Abbildung 30: Skinner-Box-FCN-Test (FCN-5).....	51
Abbildung 31: Lateraler Kern der Amygdala.....	55
Abbildung 32: OFC.....	55
Abbildung 33: Parameter zur Analyse der Golgi-imprägnierten Neurone.....	57
Abbildung 34: Immunhistochemisch analysierte Regionen.....	60
Abbildung 35: Densiometrische Analyse der Faserdichte.....	63
Abbildung 36: Dauer des Säugens der Jungtiere.....	66
Abbildung 37: Dauer der Pflege der Jungtiere.....	67
Abbildung 38: Dauer des Kontakts („Aneinanderschmiegen“).....	68
Abbildung 39: Dauer des Jungtier-Eltern-Putzverhaltens.....	69
Abbildung 40: Frequenz des „Play fightings“.....	70
Abbildung 41: Gruppenunterschiede in der Laufstrecke in der gesamten Open-Field-Arena.....	71
Abbildung 42: Geschlechtsunterschiede in der Gruppe der vaterdeprivierten Degus in der Laufstrecke in der Open-Field-Arena.....	72
Abbildung 43: Unterschiede in der Laufstrecke in der Open-Field-Arena zwischen vaterdeprivierten und biparental aufgewachsenen Weibchen.....	72
Abbildung 44: Gruppenunterschiede in der Laufaktivität im Zentrum der Open-Field-Arena.....	73
Abbildung 45: Gruppenunterschiede in der Anzahl der Eintritte in das Zentrum der Open-Field-Arena.....	73
Abbildung 46: Gruppenunterschiede in der Aufenthaltsdauer im Zentrum der Open-Field-Arena.....	74
Abbildung 47: Gruppenunterschiede im Putzverhalten (Körper) in der Open-Field-Arena.....	75
Abbildung 48: Gruppenunterschiede im Putzverhalten (Gesicht) in der Open-Field-Arena.....	76
Abbildung 49: Lernkurve der verschiedenen Trainingskriterien.....	77
Abbildung 50: Gruppenunterschiede in der <i>Chain efficiency</i> .....	78
Abbildung 51: Gruppenunterschiede hinsichtlich der Klappenbetätigung pro Minute.....	79



---

Abbildung 52: Orbitofrontaler Cortex (A) und Pyramidenzelle der Schicht II/III in dieser Region (B) .....	80
Abbildung 53: Veränderungen am Apikal- und Basaldendriten im OFC von Jungtieren (PND 21): Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren .....	81
Abbildung 54: Veränderungen am Apikaldendriten im OFC adulter Degus: Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren .....	82
Abbildung 55: Immunhistochemische PARV (A)- und CaBP-D28k (B)-Färbungen im OFC .....	83
Abbildung 56: PARV-immunpositive Zellen in den Schichten II/III des OFC .....	84
Abbildung 57: Dichteveränderungen PARV-positiver Interneurone im LO und VO: Vergleich biparental aufgewachsener und vaterdeprivierter Tiere am PND 21 und PND 90 .....	84
Abbildung 58: Immunhistochemische CRF-Färbung im OFC .....	85
Abbildung 59: Dichteveränderungen CRF-exprimierender Neurone im LO und im VO: Vergleich biparental aufgewachsener und vaterdeprivierter Tiere am PND 21 und PND 90 .....	86
Abbildung 60: Immunhistochemische TH-Färbung im OFC .....	87
Abbildung 61: Dichteveränderungen TH-immunreaktiver Fasern im LO: Vergleich biparental aufgewachsener und vaterdeprivierter Tiere am PND 21 und PND 90 .....	87
Abbildung 62: Zusammenfassung der Ergebnisse im OFC .....	88
Abbildung 63: Analytierte Subregionen der Amygdala (A) und pyramidales Neuron in der lateralen Amygdala (B) .....	89
Abbildung 64: Morphologische Änderungen in der lateralen Amygdala (LA) juveniler Degus: Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren .....	90
Abbildung 65: Morphologische Änderungen in der lateralen Amygdala (LA) adulter Degus: Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren .....	91
Abbildung 66: Basolateraler Kernkomplex und zentraler Kern der Amygdala (A), PARV- und CaBP-D28k-exprimierende Interneurone in dieser Region (B und C) .....	92
Abbildung 67: Dichteveränderungen PARV-exprimierender Neurone in der Amygdala vaterdeprivierter im Vergleich zu biparental aufgewachsenen Degus .....	93
Abbildung 68: Immunhistochemische PARV-Färbung in der Amygdala .....	94
Abbildung 69: Immunhistochemische CaBP-D28k-Färbung in der Amygdala .....	95
Abbildung 70: Basolateraler Kernkomplex und zentraler Kern der Amygdala (B), sowie CRF-markierte Fasern um nicht-markierte Zellen (Sterne) (A) und CRF-positive Zellen (C) in diesen Regionen .....	96
Abbildung 71: Unterschiede in der Dichte CRF-exprimierender Zellen in der BLA zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Degus .....	97
Abbildung 72: CRF-immunreaktives Neuron in der BLA, das an nicht-markierte Somata (Sterne) angrenzt .....	97
Abbildung 73: CRF-immunreaktive Fasern im zentralen Kern der Amygdala (CeA) .....	98
Abbildung 74: Immunhistochemische TH-Färbung in der Amygdala .....	99
Abbildung 75: TH-Färbungen im basolateralen Kernkomplex der Amygdala .....	100
Abbildung 76: Dichteveränderungen TH-markierter Fasern im CeA: Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Jungtieren .....	101
Abbildung 77: Zusammenfassung der Ergebnisse in der Amygdala .....	102
Abbildung 78: Analyse exzitatorischer Projektionsneurone im Hippocampus von Jungtieren (PND 21): Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren .....	102
Abbildung 79: Subregionen des Hippocampus (A) und PARV-positives Interneuron im Gyrus dentatus des Hippocampus (B) .....	103
Abbildung 80: Immunhistochemische PARV(A)- und CaBP-D28k(B)-Färbungen im Hippocampus .....	104
Abbildung 81: PARV-Färbung im Gyrus dentatus des Hippocampus .....	105
Abbildung 82: Veränderungen in der Zelldichte PARV-positiver Neurone: Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren (dargestellt sind nur signifikante Interaktionen der Faktoren Aufzuchtbedingung und Alter der Tiere) .....	106
Abbildung 83: Subregionen des Hippocampus (A) und CRF-immunreaktives Neuron (schwarz) im stratum moleculare mit Kontakten zu Granulärzellen (weiß) im stratum granulosum (B) .....	107
Abbildung 84: Immunhistochemische CRF-Immunfärbung im Hippocampus .....	108
Abbildung 85: Veränderungen in der Zelldichte CRF-positiver Zellen im Gyrus dentatus: Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren .....	109
Abbildung 86: Immunhistochemische TH-Färbung im Hippocampus .....	110
Abbildung 87: Dichteveränderungen TH-immunreaktiver Fasern im Hippocampus junger Degus: Vergleich zwischen biparental aufgewachsenen und vaterdeprivierten Tieren .....	111
Abbildung 88: Zusammenfassung der Ergebnisse im Hippocampus .....	112
Abbildung 89: Unterschiede im Hirngewicht .....	112

**Abkürzungsverzeichnis**

°C	Grad Celsius
5-HT <sub>1A</sub> -Rezeptor	Serotonin-Rezeptor 1A
ANOVA	Varianzanalyse (Analysis of variance)
Auqa dest.	<i>Aqua distillata</i> (destilliertes Wasser)
BLA	basolateraler amygdaloider Komplex
CA	<i>Cornu ammonis</i> (Ammonshorn)
CA1	<i>Cornu ammonis</i> -Region 1
CaBP-D28k	Calbindin-D28k
CaCl <sub>2</sub>	Calciumchlorid
CeA	zentraler Kern der Amygdala
cm	Zentimeter
CRF	Corticotropin-releasing Factor
CRF-R1	Corticotropin-releasing Factor Rezeptor 1
D1-Rezeptor	Dopamin-Rezeptor 1
DAB	3,3'-diaminobenzidin-Hydrochlorid
DBH	Dopamin-β-Hydroxylase
DG	Gyrus dentatus des Hippocampus
FCN	Fixed consecutive number (festgelegte Zahl)
g	Gramm
GABA	γ-Amino-Buttersäure (γ-amminobutyric acid)
GAD	Glutamatdecarboxylase
GrDG	stratum granulosum des Gyrus dentatus
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
HCl	Chlorwasserstoffsäure bzw. Salzsäure
HgCl <sub>2</sub>	Quecksilberchlorid
K <sub>2</sub> CrO <sub>4</sub>	Kaliumchromat
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	Kaliumbichromat
KCl	Kaliumchlorid
l	Liter
LA	laterale Amygdala
LC	Locus coeruleus
LMol	stratum lacunosum moleculare
LO	lateraler orbitofrontaler Cortex
M	Mol
ml	Milliliter
Mol	stratum moleculare des Gyrus dentatus
mPFC	medialer präfrontaler Cortex
mRNA	Boten-Ribonukelinsäure (messenger ribonucleic acid)
N	Zahl der Versuchstiere bzw. Versuchselemente

NaCl	Natriumchlorid
NaHCO <sub>3</sub>	Natriumhydrogencarbonat
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Natriumdihydrogenphosphat
NIH	National Institutes of Health (USA)
n.s.	nicht signifikant
OFC	orbitofrontaler Cortex
Or	stratum oriens
PARV	Parvalbumin
PB	Phosphatpuffer (phosphate buffer)
PBS	phosphatgepufferte Saline (phosphate buffered saline)
PFA	Paraformaldehyd
PFC	präfrontaler Cortex
pH	<i>Pondus hydrogenii</i>
PND	postnataler Tag (postnatal day)
PVN	paraventriculärer Kern des Hypothalamus
Py	stratum pyramidale
Rad	stratum radiatum
SEM	Standardfehler (standard error of the mean)
SN	Substantia nigra
TH	Tyrosinhydroxylase
VO	ventromedialer orbitofrontaler Cortex
VTA	ventrale tegmentale Area
ZAK	Ziege-anti-Kaninchen
ZAM	Ziege-anti-Maus
ZNS	Zentralnervensystem
ZNS	Ziege-Normal-Serum

---

**Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Untersuchungsgruppen der Verhaltensanalyse - Sozialverhalten im Familienverband .....	41
Tabelle 2: Parameter der Eltern-Jungtier-Interaktionen .....	41
Tabelle 3: Parameter der Jungtier-Eltern-Interaktionen .....	42
Tabelle 4: Parameter der Jungtier-Jungtier-Interaktionen .....	43
Tabelle 5: Untersuchungsgruppen der Verhaltensanalyse - Open-Field und Skinner-Box .....	44
Tabelle 6: Analysierte Parameter im Open-Field .....	46
Tabelle 7: N-Zahlen (Open-Field) .....	46
Tabelle 8: Analysierte Parameter zum Lernverhalten in der Skinner-Box .....	52
Tabelle 9: Analysierte Parameter nach dem FCN-Test (Skinner-Box) .....	53
Tabelle 10: N-Zahlen (Skinner-Box) .....	53
Tabelle 11: Untersuchungsgruppen - Golgi PND 21 .....	54
Tabelle 12: Untersuchungsgruppen - Golgi PND 90 .....	54
Tabelle 13: Analysierte Parameter der Golgi-Neurone .....	57
Tabelle 14: Untersuchungsgruppen - Immunhistochemie PND 21 .....	59
Tabelle 15: Untersuchungsgruppen - Immunhistochemie PND 90 .....	59
Tabelle 16: Analysierte Parameter der immunhistochemischen Analyse .....	63
Tabelle 17: N-Zahlen (Immunhistochemie) .....	64
Tabelle 18: Parameter - soziales Verhalten im Familienverband .....	66
Tabelle 19: Änderungen der Parameter - soziales Verhalten im Familienverband .....	71
Tabelle 20: Parameter - Explorations- und Angstverhalten .....	71
Tabelle 21: Änderungen der Parameter - Explorations- und Angstverhalten .....	76
Tabelle 22: Testergebnisse (Verhaltensbeobachtung) .....	159
Tabelle 23: Testergebnisse (Open-Field - Lauftrecken) .....	160
Tabelle 24: Testergebnisse (Open-Field - Verhaltensweisen) .....	160
Tabelle 25: Testergebnisse (Open-Field - Zentrum der Arena) .....	160
Tabelle 26: Testergebnisse (Skinner-Box - Lernverhalten) .....	160
Tabelle 27: Testergebnisse (Skinner-Box - FCN-Test, Test auf Impulsivität) .....	161
Tabelle 28: Testergebnisse (exzitatorische Pyramidenzellen - Golgi-Imprägnerung) .....	162
Tabelle 29: Testergebnisse (Immunhistochemie) .....	169
Tabelle 30: Testergebnisse (Hirn- und Körpergewichte) .....	171

## Anhang

### Protokolle

*Golgi-Imprägnationslösung: (5% = 50 g pro 1 Liter)*

- Lösung A: 5%  $K_2Cr_2O_7$  (Merck, Deutschland) in Aqua dest.
- Lösung B: 5%  $HgCl_2$  (Merck, Deutschland) in Aqua dest.
- Lösung C: 5%  $K_2CrO_4$  (Merck, Deutschland) in Aqua dest.

Aus diesen 3 Lösungen werden zwei weitere Lösungen hergestellt (D, E):

- Lösung D: Lösung A + Lösung B (1:1)
- Lösung E: Lösung C + aqua dest. (1:2,5)
- Aus den Lösungen D und E wird die Golgi-Lösung hergestellt: 100 ml der Lösung D werden in 140 ml der Lösung E verrührt.

Die Golgi-Lösung wird zum Schutz vor Lichteinwirkung in dunklen Plastik-Flaschen bei Raumtemperatur aufbewahrt. Wichtig: vor dem Gebrauch muss die Lösung mindestens eine Woche stehen gelassen werden.

*0,1M Tyrodepuffer (1 Liter)*

NaCl → 8 g  
KCl → 200 mg (M 74,56)  
 $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  → 200 mg (147,02)  
Na  $HCO_3$  → 1g (M84,0)  
Na  $H_2PO_4 \cdot 2H_2O$  → 40 mg (M156,01)

- lösen in Aqua dest.
- pH-Wert mit NaCl oder HCl auf 6,8-7,2 einstellen
- kühl aufbewahren

*4% Paraformaldehyd (PFA) in 0,1M Natriumacetat-Puffer (pH=6,5) (1 Liter)*

- 8,2 g Natriumacetat abwiegen
- mit ca. 800 ml Aqua dest. auffüllen und rühren
- pH-Wert auf 6,5 mit konzentrierter HCl einstellen
- auf 1 Liter mit Aqua dest. auffüllen
- Zugabe von PFA:
  - 40g PFA in Becherglas
  - dazu ca. 500 ml des Natriumacetat-Puffers
  - lösen durch Rühren und Erhitzen
- in geeignetes Gefäß filtrieren, restlichen Puffer zugeben und kühl stellen

*4% Paraformaldehyd (PFA) in 0,1M Natriumborat-Puffer (pH=9,3) (1 Liter)*

- 20,1 g Natriumborat abwiegen
- mit ca. 800 ml Aqua dest. auffüllen
- rühren und erhitzen
- einstellen des pH-Werts auf 9,3 mit NaOH

- auf 1 Liter mit Aqua dest. auffüllen
- Zugabe von PFA:
  - 40 g PFA in Becherglas
  - dazu ca. 500 ml des Natriumborat-Puffers
  - lösen durch Rühren und Erhitzen
- in geeignetes Gefäß filtrieren, restlichen Puffer zugeben und kühl stellen

*Stammlösungen (1 Liter)*

Stammlösung 1 - Säure 0,1M 12 g Na H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> • H<sub>2</sub>O in Aqua dest.

Stammlösung 2 - Base 0,1M 30,5 g Na<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub> in Aqua dest.

*0,1M Phosphatgepufferte Saline (PBS, pH= 7,4) (1 Liter)*

200 ml Stammlösung 1 + 800 ml Stammlösung 2 + 6 g NaCl

- pH-Wert mit HCl oder NaOH auf 7,4 einstellen

*0,1M PB - Phosphatpuffer (PB, pH= 7,4) (1 Liter)*

200 ml Stammlösung 1 + 800 ml Stammlösung 2

- pH-Wert mit Stammlösung. 1 oder 2 auf 7,4 einstellen

*Tris-HCl Puffer (1 Liter)*

- 6,01 g Tris-HCl (M=121,14) 50 mM lösen in 600 ml Aqua dest.
- pH-Wert auf 7,6 mit konzentrierter HCl einstellen und auf 1Liter auffüllen

## Tabellen

<i>Eltern-Jungtier-Interaktionen (Dauer)</i>			
	Säugen der Jungtiere	Pflegen der Jungtiere	Kontakt/Aneinanderschmiegen
Eltern (biparental vs. vaterdepriviert)	---	n.s.	P = 0.001
Mutter (biparental)-Mutter (vaterdepriviert)	n.s.	n.s.	n.s.
Mutter (biparental)-Vater (biparental)	---	P = 0.002	P = 0.087
Mutter (vaterdepriviert)-Vater (biparental)	---	P = 0.099	P = 0.052
<i>Jungtier-Eltern-Interaktionen (Dauer)</i>			
	„Pflegeverhalten“	Kämpferisches Spielverhalten ( <i>Play fighting</i> )	
Eltern (biparental vs. vaterdepriviert)	P = 0.025	n.s.	
Mutter (biparental)-Mutter (vaterdepriviert)	n.s.	n.s.	
Mutter (sozial)-Vater (sozial)	P = 0.002	n.s.	
Mutter (vaterdepriviert)-Vater (biparental)	n.s.	n.s.	
<i>Jungtier-Eltern-Interaktionen (Häufigkeit)</i>			
	„Pflegeverhalten“	Kämpferisches Spielverhalten ( <i>Play fighting</i> )	
Eltern (sozial vs. vaterdepriviert)	n.s.	n.s.	
Mutter (sozial)-Mutter (vaterdepriviert)	n.s.	n.s.	
Mutter (biparental)-Vater (biparental)	n.s.	n.s.	
Mutter (vaterdepriviert)-Vater (biparental)	P(exact)= 0.095	n.s.	
<i>Jungtier-Jungtier-Interaktionen (Dauer)</i>			
	„Pflegeverhalten“	Kämpferisches Spielverhalten ( <i>Play fighting</i> )	
biparental vs. vaterdepriviert	n.s.	n.s.	
<i>Jungtier-Jungtier-Interaktionen (Häufigkeit)</i>			
	„Pflegeverhalten“	Kämpferisches Spielverhalten ( <i>Play fighting</i> )	
biparental vs. vaterdepriviert	n.s.	P = 0.047	

Tabelle 22: Testergebnisse (Verhaltensbeobachtung)

Anmerkung: Im Falle einer Normalverteilung wurde der Student's t-Test angewandt. Erfüllten die Daten diese Bedingung nicht, wurde der Mann-Whitney U-Test ausgewählt (P-Werte gekennzeichnet durch P(exact)).

<i>Laufstrecke in der Open-Field-Arena</i>						
3-way ANOVA						
group	sex	minute	group x sex	group x minute	sex x minute	group x sex x minute
P = 0.003	P=0.063	P = <0.001	P=0.028	n.s.	n.s.	n.s.
Multiple Vergleiche (Tukey Test)						
group	sex	minute	group x sex	group x minute	sex x minute	group x sex x minute
		1. vs. 5. 1. vs. 4. 1. vs. 3. 2. vs. 5.	fatherless: male vs. female P=0.018			

		2. vs. 4. alle weiteren n.s.	female: social vs. oV P=0.018			
--	--	------------------------------------	-------------------------------------	--	--	--

Tabelle 23: Testergebnisse (Open-Field - Laufstreifen)

<i>Aufrichten in der Open-Field-Arena</i>						
3way ANOVA						
group	sex	minute	group x sex	group x minute	sex x minute	group x sex x minute
n.s.	P = 0.046	P = <0.001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		1. vs. 4. 1. vs. 3. 2. vs. 4. alle weiteren n.s.				
<i>Springen in der Open-Field-Arena</i>						
3way ANOVA						
group	sex	minute	group x sex	group x minute	sex x minute	group x sex x minute
n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>Putzen des Körpers in der Open-Field-Arena</i>						
3way ANOVA						
group	sex	minute	group x sex	group x minute	sex x minute	group x sex x minute
P = 0.044	P = 0.027	n.s.	P = 0.091	n.s.	n.s.	n.s.
<i>Putzen des Gesichts in der Open-Field-Arena</i>						
3way ANOVA						
group	sex	minute	group x sex	group x minute	sex x minute	group x sex x minute
P = 0.025	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabelle 24: Testergebnisse (Open-Field - Verhaltensweisen)

<i>Aktivität im Zentrum der Arena</i>						
3way ANOVA						
group	sex	minute	group x sex	group x minute	sex x minute	group x sex x minute
P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>Eintritte ins Zentrum der Arena</i>						
3way ANOVA						
group	sex	minute	group x sex	group x minute	sex x minute	group x sex x minute
P <0.001	n.s.	P = 0.048	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>Aufenthaltsdauer im Zentrum der Arena</i>						
3way ANOVA						
group	sex	minute	group x sex	group x minute	sex x minute	group x sex x minute
P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabelle 25: Testergebnisse (Open-Field - Zentrum der Arena)

<i>Kognitives Lernen (Erlernen der Trainingskriterien, Erreichen des Tests)</i>						
3way ANOVA						
group	sex	training unit	group x sex	group x training unit	sex x training unit	group x sex x training unit
P <0.001	P = 0.098	P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabelle 26: Testergebnisse (Skinner-Box - Lernverhalten)



<i>Response efficiency</i>						
3way ANOVA						
group	sex	day	group x sex	group x day	sex x day	group x sex x day
n.s.	P = 0.004	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>Chain efficiency</i>						
3way ANOVA						
group	sex	day	group x sex	group x day	sex x day	group x sex x day
P<0.001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>Klappe/min</i>						
3way ANOVA						
group	sex	day	group x sex	group x day	sex x day	group x sex x day
P<0.001	P = 0.018	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabelle 27: Testergebnisse (Skinner-Box - FCN-Test, Test auf Impulsivität)

<i>Laterale Amygdala (PND 21)</i>		
2-way ANOVA		
Basale Dendritenlänge		
group	hemi	group x hemi
n.s.	n.s.	n.s.
Basale Spinezahl		
group	hemi	group x hemi
P = 0.032	n.s.	n.s.
Basale Spinedichte		
group	hemi	group x hemi
P = 0.033	n.s.	n.s.
Basale Nodes		
group	hemi	group x hemi
n.s.	n.s.	n.s.
Apikale Dendritenlänge		
group	hemi	group x hemi
n.s.	n.s.	n.s.
Apikale Spinezahl		
group	hemi	group x hemi
n.s.	n.s.	n.s.
Apikale Spinedichte		
group	hemi	group x hemi
n.s.	n.s.	n.s.
Apikale Nodes		
group	hemi	group x hemi
n.s.	n.s.	n.s.
<i>Laterale Amygdala (PND 90)</i>		
2way ANOVA		
Basale Dendritenlänge		
group	hemi	group x hemi
n.s.	n.s.	n.s.
Basale Spinezahl		
group	hemi	group x hemi
n.s.	n.s.	n.s.
Basale Spinedichte		
group	hemi	group x hemi
n.s.	n.s.	n.s.
Basale Nodes		
group	hemi	group x hemi
n.s.	n.s.	n.s.
Apikale Dendritenlänge		

group	hemi	group x hemi
n.s.	n.s.	n.s.
Apikale Spinezahl		
group	hemi	group x hemi
n.s.	n.s.	n.s.
Apikale Spinedichte		
group	hemi	group x hemi
n.s.	n.s.	n.s.
Apikale Nodes		
group	hemi	group x hemi
P<0.001	n.s.	n.s.
<i>OFC (PND 90)</i> 2way ANOVA		
Basale Dendritenlänge		
group	hemi	group x hemi
n.s.	n.s.	n.s.
Basale Spinezahl		
group	hemi	group x hemi
n.s.	n.s.	n.s.
Basale Spinedichte		
group	hemi	group x hemi
n.s.	n.s.	n.s.
Basale Nodes		
group	hemi	group x hemi
n.s.	P = 0.039	n.s.
Apikale Dendritenlänge		
group	hemi	group x hemi
P = 0.015	n.s.	n.s.
Apikale Spinezahl		
group	hemi	group x hemi
P = 0.001	n.s.	n.s.
Apikale Spinedichte		
group	hemi	group x hemi
P = 0.008	n.s.	n.s.
Apikale Nodes		
group	hemi	group x hemi
P = 0.07	n.s.	n.s.

Tabelle 28: Testergebnisse (exzitatorische Pyramidenzellen - Golgi-Imprägnierung)

<i>PARV im LO</i>						
3-way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P <0.001	P <0.001	n.s.	P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.
Multiple Vergleiche (Tukey Test)						
			P21 (control vs. fatherless): P <0.001	control (P21 vs. P90): P <0.001		
			P90 (soz vs. ov): P <0.001	fatherless (P21 vs. P90): P <0.001		
<i>PARV im VO</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group	age x hemi	group x

				x hemi		age x hemi
P <0.001	P <0.001	n.s.	P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.
Multiple Vergleiche (Tukey Test)						
			P21 (control vs. fatherless): P <0.001	control (P21 vs. P90): P <0.001		
			P90 (control vs. fatherless): P <0.001	fatherless (P21 vs. P90): P <0.001		
<i>CaBP-D28K im LO</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	P <0.001	n.s.	P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.
<i>CaBP-D28K im VO</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	P <0.001	n.s.	P = 0.016	n.s.	n.s.	n.s.
<i>CRF im LO</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P <0.001	P <0.001	n.s.	P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.
Multiple Vergleiche (Tukey Test)						
			P21 (control vs. fatherless): P = 0.025	control (P21 vs. P90): P = 0.025		
			P90 (control vs. fatherless): P = 0.007	fatherless (P21 vs. P90): P = 0.007		
<i>CRF im VO</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P <0.001	P <0.001	n.s.	P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.
Multiple Vergleiche (Tukey Test)						
			P21 (control vs. fatherless): P <0.001	control (P21 vs. P90): P <0.001		

			P90 (control vs. fatherless): P =0.004	fatherless (P21 vs. P90): P =0.004			
<i>TH im LO</i>							
3way ANOVA							
group	age	hemi	group x age		group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P = 0.042	P = 0.083	n.s.	n.s.		n.s.	n.s.	n.s.
<i>TH im VO</i>							
3way ANOVA							
group	age	hemi	group x age		group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.	n.s.	
<i>PARV in der BLA</i>							
3way ANOVA							
group	age	hemi	group x age		group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P <0.001	P <0.001	n.s.	P <0.001		n.s.	n.s.	n.s.
Multiple Vergleiche (Tukey Test)							
			P21 (control vs. fatherless): P <0.001	control (P21 vs. P90): P <0.001			
			P90 (control vs. fatherless): P <0.001	fatherless (P21 vs. P90): P <0.001			
<i>PARV im CeA</i>							
3way ANOVA							
group	age	hemi	group x age		group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P <0.001	P <0.001	n.s.	P <0.001		n.s.	n.s.	n.s.
Multiple Vergleiche (Tukey Test)							
			P21 (control vs. fatherless): P <0.001	control (P21 vs. P90): P <0.001			
			P90 (control vs. fatherless): P <0.001	fatherless (P21 vs. P90): P <0.001			
<i>CaBP-D28k in der BLA</i>							
3way ANOVA							
group	age	hemi	group x age		group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P <0.001	n.s.	n.s.	P = 0.092		n.s.	n.s.	n.s.
<i>CaBP-D28k im CeA</i>							
3way ANOVA							

group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>CRF in der BLA</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P <0.001	P=0.001	n.s.	P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.
Multiple Vergleiche (Tukey Test)						
			P21 (control vs. fatherless): P <0.001	control (P21 vs. P90): P <0.001		
			P90 (control vs. fatherless): P <0.001	fatherless (P21 vs. P90): P <0.001		
<i>CRF im CeA</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>TH in der BLA</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P = 0.042	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	P = 0.022	P = 0.019
<i>TH im CeA</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P = 0.019	P = 0.006	n.s.	P = 0.048	n.s.	n.s.	n.s.
Multiple Vergleiche (Tukey Test)						
			P21 (control vs. fatherless): P = 0.023	control (P21 vs. P90): P = 0.023		
<i>PARV in der Mol</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P = 0.060	P <0.001	n.s.	P = 0.002	n.s.	n.s.	n.s.
Multiple Vergleiche (Tukey Test)						
			P21 (control vs. fatherless): P = 0.046	control (P21 vs. P90): P = 0.046		
<i>PARV in der GrDG</i>						

3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	P <0.001	n.s.	P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.
<i>PARV in der LMol &amp; Rad</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	P =0.081	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>PARV in derPy</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P = 0.002	P<0.001	n.s.	P = 0.002	n.s.	n.s.	n.s.
Multiple Vergleiche (Tukey Test)						
			P21 (control vs. fatherless): P = 0.021	control (P21 vs. P90): P =0.021		
			P90 (control vs. fatherless): P= 0.03	oV (P21 vs. P90): P = 0.03		
<i>PARV in der Or</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>PARV im DG</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P = 0.059	P = 0.013	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>PARV in der CAI</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P = 0.046	P = 0.003	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>CaBP-D28k in der Mol</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>CaBP-D28k in derGrDG</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P = 0.047	n.s.	P = 0.070	n.s.	P =	n.s.	n.s.

				0.073		
<i>CaBP-D28k in derLMol &amp; Rad</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>CaBP-D28k in derPy</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>CaBP-D28k in der Or</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	P <0.001	n.s.	P = 0.041	n.s.	n.s.	n.s.
<i>CaBP-D28k im DG</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	P = 0.031	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>CaBP-D28k in der CA1</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>CRF in der Mol</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>CRF in der GrDG</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	P <0.001	n.s.	P = 0.035	n.s.	n.s.	n.s.
<i>CRF in derLMol &amp; Rad</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>CRF in der Py</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P = 0.007	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>CRF in der Or</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x

						age x hemi
P = 0.031	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	P = 0.037	n.s.
Multiple Vergleiche (Tukey Test)						
					P21 (r vs. l): P = 0.08	r (P21 vs. P90): P = 0.08
					P90 (r vs. l): P = 0.071	l (P21 vs. P90): P = 0.071
<i>CRF im DG</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P = 0.004	P < 0.001	n.s.	P = 0.002	n.s.	n.s.	n.s.
Multiple Vergleiche (Tukey Test)						
			P21 (control vs. fatherless): P = 0.064	control (P21 vs. P90): P = 0.064		
			P90 (soz vs. ov): P = 0.017	fatherless (P21 vs. P90): P = 0.017		
<i>CRF in der CA1</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	P = 0.015	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	P = 0.065
<i>TH in der Mol</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P = 0.058	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>TH in der subGrDG</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P < 0.001	P = 0.001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>TH in der GrDG</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>TH in der LMol</i>						
3way ANOVA						



group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P <0.001	P = 0.015	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>TH in der Rad</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P <0.001	P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>TH in der subPyr</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P <0.001	P <0.001	n.s.	P = 0.017	n.s.	n.s.	n.s.
Multiple Vergleiche (Tukey Test)						
			P21 (control vs. fatherless): P = 0.014	control (P21 vs. P90): P = 0.014		
			P90 (control vs. fatherless): P = 0.007	fatherless (P21 vs. P90): P =0.007		
<i>TH in der Py</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P = 0.013	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>TH in der Or</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P = 0.006	P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>TH im DG</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P <0.001	P <0.001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>TH in der CAI</i>						
3way ANOVA						
group	age	hemi	group x age	group x hemi	age x hemi	group x age x hemi
P <0.001	P <0.001	n.s.	P = 0.071	n.s.	n.s.	n.s.

Tabelle 29: Testergebnisse (Immunhistochemie)

<i>Hirn- und Körpergewicht</i>			
PND 21 - Golgi			
Biparental aufgewachsene Tiere		Vaterdeprivierte Tiere	
Hirngewicht (g)	Körpergewicht (g)	Hirngewicht (g)	Körpergewicht(g)

1,45	45,3	1,6	59,0
1,6	53,0	1,5	53,0
1,4	36,0	1,6	50,6
1,5	44,0	1,5	19,0
Ergebnisse			
Hirngewicht (g)		Körpergewicht(g)	
Biparental aufgewachsene Tiere	Vaterdeprivierte Tiere	Biparental aufgewachsene Tiere	Vaterdeprivierte Tiere
1,9±0,04	1,6±0.03	n.s.	44,6±3,5
PND 90 - Golgi			
Biparental aufgewachsene Tiere		Vaterdeprivierte Tiere	
Hirngewicht (g)	Körpergewicht (g)	Hirngewicht (g)	Körpergewicht(g)
1,9	173,8	2,4	168,8
2,0	181,6	2,2	187,0
1,9	--	2,1	--
2,1	--	1,8	--
2,1	--	2,1	--
Ergebnisse			
Hirngewicht (g)			
Biparental aufgewachsene Tiere	Vaterdeprivierte Tiere		
2,0±0,05	2,1±0,10	n.s.	
PND 21 - Immunhistochemie			
Biparental aufgewachsene Tiere		Vaterdeprivierte Tiere	
Hirngewicht (g)	Körpergewicht (g)	Hirngewicht (g)	Körpergewicht(g)
1,3	59,4	1,1	50,8
1,2	36,5	1,2	45,1
1,2	38,2	1,3	47,5
1,2	50,4	1,3	43,3
1,1	50,2	1,2	57,9
1,1	32,7	1,2	53,0
1,2	41,2		
Ergebnisse			
Hirngewicht (g)		Körpergewicht(g)	
Biparental aufgewachsene Tiere	Vaterdeprivierte Tiere	Biparental aufgewachsene Tiere	Vaterdeprivierte Tiere
1,2±0,03	1,2±0,03	n.s.	44,1±3,6
PND 90 - Immunhistochemie			
Biparental aufgewachsene Tiere		Vaterdeprivierte Tiere	
Hirngewicht (g)	Körpergewicht (g)	Hirngewicht (g)	Körpergewicht(g)

1,5	173,5	1,8	167,9		
1,4	170,6	1,8	177,2		
1,7	178,5	1,7	176,7		
1,5	165,6	1,5	164,9		
1,4	166,6	1,8	148,1		
1,7	159,6	1,7	144,8		
1,6	185,6				
1,5	176,5				
Ergebnisse					
Hirngewicht (g)			Körpergewicht(g)		
Biparental aufgewachsene Tiere	Vaterdeprivierte Tiere		Biparental aufgewachsene Tiere	Vaterdeprivierte Tiere	
1,5±0,04	1,7±0,05	P = 0.016	172,1±2,9	163,6±5,7	n.s.

Tabelle 30: Testergebnisse (Hirn- und Körpergewichte)

Anmerkung : (--) diese Gewichte wurden nicht bestimmt

## Lebenslauf

### Persönliche Daten

Katja Seidel, geb. Becker

\* 08.06.1975 in Jena

1 Tochter

verheiratet

---

### Bildungsweg

1982 – 1991	Grund- und Realschule, Kahla
1991 – 1992	Gymnasium, Jena-Göschwitz
1992 – 1994	Gymnasium „Ernst Abbe“, Abitur
1994 – 1997	Berufsausbildung zur Hotelfachfrau, Kahla /Jena (IHK-Abschluß)
1997 – 2003	Studium der Psychologie an der Friedrich-Schiller Universität, Jena
2000 – 2001	Studium der Biologie an der Friedrich-Schiller Universität, Jena
2002 – 2003	Diplomarbeit, Otto-von-Guericke Universität, Magdeburg, Institut für Biologie, eingereicht im Fach Psychologie an der Friedrich-Schiller-Universität, Jena
2001 – 2004	Studium der Neurowissenschaften an der Otto-von-Guericke Universität, Magdeburg
2003 – 2004	Diplomarbeit, Otto-von-Guericke Universität, Magdeburg, Institut für Biologie, eingereicht im Fach Neurowissenschaften
seit 07/2004	Promotionsstudentin an der Otto-von-Guericke Universität, Magdeburg

### *Praktika*

02-03/2000	Klinik für Neurologie, Klinisches Zentrum Erfurt GmbH, Erfurt (Themengebiet: Neuropsychologie)
04-05/2001	Max-Planck-Institut für Neuropsychologische Forschung, Leipzig (Themengebiet: MRI)

### *Tätigkeit(en)*

2001 – 2004	Nicht-amerikanische studentische Vertreterin der Internationalen Gesellschaft für Entwicklungspsychobiologie (International Society of Developmental Psychobiology (ISDP) non-US student representative)
-------------	--

### *Stipendien*

2004 – 2006	Promotionsstipendium der Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg
-------------	---

- 2004 BMBF-Reisestipendium nach Eilat/Rehovot, Israel  
2005 BMBF-Reisestipendium nach Haifa/Tel Aviv, Israel
- 2005 Reisestipendium der amerikanischen Gesellschaft für Biologische  
Psychiatry (Society of Biological Psychiatry, SOBP) nach Atlanta, USA
- 2005 ISDP-Reisestipendium nach Washington, D.C., USA
- 2005 BMBF-Reisestipendium nach Eilat, Israel

*Mitgliedschaften*

- seit 2003 Neurowissenschaftliche Gesellschaft (NWG)
- seit 2004 Israelische Neurowissenschaftliche Gesellschaft (Israel Neuroscience  
Society)
- seit 2005 Internationale Gesellschaft für Entwicklungspsychobiologie (International  
Society of Developmental Psychobiology (ISDP))

**Publikationen**

**2007**

- Becker, K., Abraham, A., Kindler, J., Helmeke, C. & Braun, K. (2007). Exposure to Neonatal Separation Stress alters Exploratory Behavior and Corticotropin Releasing Factor (CRF) Expression in Neurons in the Amygdala and Hippocampus. *Developmental Neurobiology*, 67(5): 617-629.