

**Einfluss früher postnataler Stresserfahrung auf die Entwicklung  
des limbischen Systems bei *Octodon degus*:  
Verhaltenspharmakologische und neuroanatomische  
Untersuchungen zur Beteiligung des dopaminergen Systems**

**D i s s e r t a t i o n**

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

genehmigt durch die Fakultät für Naturwissenschaften

der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

von Diplom-Biologin Stefanie Zehle

geb. am 15. November 1972 in Magdeburg

Gutachter: Prof. Dr. Katharina Braun

Prof. Dr. Juckel

eingereicht am: am 25.09.2007

verteidigt am: 20. 12. 2007



## **Danksagung**

Besonderer Dank gilt Frau Prof. Anna Katharina Braun und Herrn Dr. Jörg Bock für die wissenschaftliche Betreuung bei der Entwicklung des Themas und der Umsetzung der vorliegenden Dissertation, ihre vielzähligen Richtung weisenden Ratschläge und Hinweise, unsere Diskussionen und die nötige Prise Geduld und Druck, die mir halfen, diesen manchmal steinigen Weg nun zu einem vorläufigen Ende zu bringen. Es findet damit eine schöne, erfahrungsreiche Zeit in Eurer Arbeitsgruppe ihren Abschluß, die mich fachlich und persönlich reifen ließ.

Ebenso danke ich Frau Dr. Katja Seidel und Herrn Andreas Abraham für das wunderbare Miteinander in unserer Schreibtisch-WG in der 5. Etage, die fachlichen Diskussionen, die offene, heitere, arbeitsame Stimmung, ermunternden Gespräche und die Unterstützung bei der Durchführung der Experimente. Ich werde unser Dreierteam vermissen! Vielen Dank auch Herrn Dr. Michael Gruss für all die interessanten Weitwinkelsichten nicht nur seiner Kamera.

Vielen, vielen Dank auch Frau Dr. Carina Helmeke, Frau Dr. Annett Riedel, Herrn Grzegorz Jezierski, Herrn Dr. Wladimir Ovtcharoff Jr., Frau Ute Kreher Frau Susann Becker und Frau Petra Kremz sowie den vielen anderen Kollegen für ihre stetige Hilfs- und Diskussionsbereitschaft, ihre offenen Ohren und helfenden Hände.

Ganz herzlich danken möchte ich an dieser Stelle aber vor allem meinen Eltern und meinen drei Helden zuhause für eure Liebe, euer Vertrauen, und eure immerwährende Unterstützung. Ohne diese Hilfe und Rückendeckung wäre dieser Schritt nicht möglich gewesen!

# Inhalt

1	Einleitung .....	1
1.1	Effekte des frühkindlichen Trennungsstress: Literaturdaten .....	1
1.2	Effekte des frühkindlichen Trennungsstress: Tiermodell Degu .....	2
1.3	Das Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Syndrom .....	4
1.3.1	Allgemeine Charakterisierung .....	4
1.4	Welche Gehirnregionen sind an der Entstehung des ADHD-Syndroms beteiligt? .....	5
1.4.1	Der Präfrontalcortex (PFC) .....	5
1.4.2	Das nigrostriatale und mesocorticolimbische System .....	9
1.5	Arbeitshypothese 1 zu Effekten des frühkindlichen Stress im Tiermodell Degu .....	11
1.5.1	Verhaltensuntersuchungen zu Effekten des frühkindlichen Stress bei juvenilen Tieren .....	11
1.5.2	Funktionell metabolische Untersuchungen zu Effekten des frühkindlichen Stress bei juvenilen Tieren .....	12
1.6	Arbeitshypothese 2 zu Effekten einer Methylphenidat-Behandlung bei juvenilen ungestressten und gestressten Degus .....	13
1.6.1	Warum wird Methylphenidat zur Behandlung von ADHD eingesetzt? .....	13
1.6.2	Methylphenidat im Tiermodell Degu .....	15
1.6.3	Verhaltensuntersuchungen zu Effekten einer akuten Methylphenidat-Behandlung bei juvenilen, ungestressten und gestressten Tieren .....	16
1.6.4	Funktionell metabolische Untersuchungen zu Effekten einer akuten Methylphenidat- Behandlung bei juvenilen, ungestressten und gestressten Tieren .....	16
1.7	Verhaltensuntersuchungen zu Effekten einer chronischen Methylphenidat-Behandlung bei adoleszenten, ungestressten und gestressten Tieren .....	17
1.8	Arbeitshypothese 3 zu Effekten einer chronischen Methylphenidat- Behandlung bei adoleszenten ungestressten und gestressten Degus .....	18
1.8.1	Histologische Untersuchungen (Golgi-Cox-Methode) zu Effekten einer chronischen Methylphenidat- Behandlung bei adoleszenten, ungestressten und gestressten Tieren .....	20



2	Allgemeiner Methodenteil (Experimentelle Gruppen) .....	21
2.1	Geschlecht der Versuchstiere .....	21
2.2	Aufzuchtgruppen .....	22
	2.2.1 Frühkindlich gestresste Würfe .....	22
	2.2.2 Ungestresste Kontrollwürfe .....	22
2.3	Pharmakologische Gruppen .....	23
3	Verhaltensuntersuchungen im Open Field .....	25
3.1	Methodenteil (Open Field) .....	25
	3.1.1 Versuchsaufbau Open Field-Test .....	25
3.2	Versuchsaufbau, experimentelle Gruppen und Tierzahl der einzelnen Open Field-Tests .....	28
	3.2.1 Open Field-Test #1: Untersuchungen zu Effekten des frühkindlichen Trennungsstress .....	28
	3.2.2 Open Field-Test #2 - #4: Untersuchungen zu Effekten der MP-Behandlung ....	30
3.3	Ergebnisse der Verhaltensuntersuchungen im Open Field .....	32
	3.3.1 Effekte des frühkindlichen Trennungsstress : OF-Test #1 (PND 22) .....	32
	3.3.2 Effekte einer akuten Methylphenidat-Injektion nach frühkindlichem Trennungsstress: Open Field-Test #2 (PND 22) .....	37
	3.3.3 Untersuchungen zu Auswirkungen chronischer MP-Behandlung: OF-Test #3 (PND 45) .....	44
	3.3.4 Untersuchungen zur akuten MP-Wirkung nach chronischer MP-Behandlung: OF-Test #4 (PND 45) .....	50
4	Funktionelles Imaging (Funktionell metabolische Untersuchungen mit der 2- FDG-Methode) .....	58
4.1	Allgemeine Einführung .....	58
	4.1.1 Grundlagen der 2-FDG-Methode .....	59
	4.1.2 Versuchsaufbau und experimentelle Gruppen .....	61
	4.1.3 Aufbereitung der Gehirne .....	62
	4.1.4 Analyse und Auswertung des 2-FDG-Experiments .....	62
	4.1.5 Statistik .....	64
4.2	Ergebnisse des 2-FDG-Experiments .....	64
	4.2.1 Metabolische Grundaktivität der salinebehandelten ungestressten Kontrollgruppe .....	64
	4.2.2 Effekte des frühkindlichen Trennungsstress und/oder Methylphenidat- Behandlung auf die metabolische Gehirnaktivität .....	66

5	Histologische Untersuchungen.....	78
5.1	Allgemeine Einführung (Golgi-Cox-Methode).....	78
5.2	Versuchsaufbau und experimentelle Gruppen .....	78
5.3	Präparation und histologische Aufarbeitung der Gehirne .....	79
5.4	Analyse und Auswertung Golgi – Cox gefärbter Neurone .....	79
5.5	Statistik.....	82
5.6	Ergebnisse der histologischen Untersuchungen:.....	82
	5.6.1 Dendritenlänge .....	82
	5.6.2 Zellkomplexität.....	84
	5.6.3 Spinefrequenz.....	88
6	Diskussion .....	90
6.1	Frühkindliche Stresserfahrung führt im Tiermodell Degu zu Hyperaktivität und reduzierter Aufmerksamkeit.....	90
6.2	Frühkindliche Stresserfahrung führt im Tiermodell Degu zu geringerer metabolischer Aktivität vor allem dopaminerg innervierter Gehirngebiete .....	93
6.3	Akute Methylphenidatbehandlung im Tiermodell Degu .....	100
	6.3.1 Eine akute Behandlung ungestresster Tiere führt zu dosisabhängiger Erhöhung sowohl der motorischen Aktivität als auch der metabolischen Aktivität präfrontaler Gehirngebiete.....	100
	6.3.2 Eine akute Behandlung frühkindlich gestresster Tiere mit 1mg/kg Methylphenidat führt zu einer Verminderung der Hyperaktivität und einer Erhöhung der metabolischen Aktivität präfrontaler Gehirngebiete .....	102
6.4	Chronische Methylphenidatbehandlung im Tiermodell Degu .....	105
	6.4.1 Chronische Methylphenidatbehandlung führt zu einer dosisabhängigen Erhöhung der dendritischen Länge und Komplexität sowie bei gestressten Tieren zu einer Normalisierung der Spinedichte apikaler Dendriten.....	106
	6.4.2 Nach chronischer Saline- und Methylphenidatbehandlung zeigen sich im Open Field keine deutlichen Effekte des frühkindlichen Stresses mehr .....	110
	Zusammenfassung.....	113
	Literatur .....	117
	Abbildungsverzeichnis .....	126
	Tabellenverzeichnis.....	128
	Abkürzungsverzeichnis .....	130

Anhang A	Daten Männchen .....	131
A.1	Tabellenanhang: Standard - Open Field, männliche Tiere (♂).....	131
A.2	Tabellenanhang: Modifiziertes Open Field, männliche Tiere (♂).....	136
A.3	Tabellenanhang: Metabolische Aktivität (2-FDG) ♂ .....	143
A.4	Tabellenanhang: Histologische Untersuchungen (Golgi-Cox-Färbung) ♂.....	148
A.4.1	Gesamtzelle ♂ .....	148
A.4.2	Anzahl der Schnittpunkte mit Einzelhollsphären ♂ .....	148
Anhang B	Daten Weibchen .....	149
B.1	Ergebnisse der Open Field Experimente mit weiblichen Tieren (♀).....	149
B.1.1	Untersuchungen zu Effekten des frühkindlichen Trennungstresses : OF- Test #1 (PND 22) ♀.....	149
B.1.1.1	Standard - Open Field (ohne Ton-Stimulation) ♀.....	149
B.1.1.2	Modifiziertes Open Field (mit Ton-Stimulation) ♀ .....	151
B.1.2	Untersuchungen zur akuten MP-Wirkung: OF-Test #2 (PND 22) ♀.....	153
B.1.2.1	Standard - Open Field (ohne Ton-Stimulation) ♀.....	153
B.1.2.2	Modifiziertes Open Field (mit Ton-Stimulation) ♀ .....	155
B.1.3	Untersuchungen zur chronischen MP-Wirkung: OF-Test #3 (PND 45) ♀ .....	157
B.1.3.1	Standard - Open Field (ohne Ton-Stimulation) ♀.....	157
B.1.3.2	Modifiziertes Open Field (mit Ton-Stimulation) ♀ .....	159
B.1.4	Untersuchungen zur akuten MP-Wirkung nach chronischer MP-Behandlung OF-Test #4 (PND 45) ♀ .....	161
B.1.4.1	Standard - Open Field (ohne Ton-Stimulation) ♀.....	161
B.1.4.2	Modifiziertes Open Field (mit Ton-Stimulation) ♀ .....	163
B.2	Tabellenanhang: Standard Open Field, weibliche Tiere (♀).....	165
B.3	Tabellenanhang: Modifiziertes Open Field, weibliche Tiere (♀).....	170
Anhang C	Protokoll zur Golgi-Imprägnierung .....	176
Curriculum vitae.....		178

# 1 Einleitung

Ein Leitsatz der Neurowissenschaften lautet, dass alle Leistungen des Gehirns – seien sie perzeptiver, kognitiver, affektiv-emotionaler, exekutiver oder motorischer Art – das Ergebnis konzertierter Aktivität von Neuronen-Netzwerken sind (Roth, 2001). Hierbei entscheidend sind zum einen die morphologisch-physiologischen Eigenschaften der Neuronen als Knotenpunkte der Erregungsverarbeitung, zum anderen die neurophysiologischen und neurochemischen Eigenschaften der Synapsen. Psychische Erkrankungen beruhen aus dieser Sicht auf dysfunktionalen Veränderungen von Neuronen-Netzwerken insbesondere im limbischen System, wobei diese Veränderungen auf genetische Defekte, Erkrankungen oder auf (z.B. durch negative Umwelteinflüsse) vorgeburtlich, frühkindlich oder in späterem Lebensalter erlittene Schädigungen zurückgehen können (Roth, 2001).

Für das Entstehen und die Aufrechterhaltung dieser morphologisch-funktionellen synaptischen Netzwerke im sich entwickelnden Gehirn sind frühkindliche, emotional gesteuerte Lernprozesse von Bedeutung. Neugeborene bilden z.B. innerhalb eines frühen, zeitlich eng umschriebenen Lebensabschnittes erste Bindungen (Kind-Eltern-Kontakt) und formen so eine feste sozio-emotionale Beziehung. Die Zeit der Kindheit und Adoleszenz ist dabei geprägt durch Reifungsprozesse wichtiger Hirnfunktionen (z.B. von Lernen, Motivation und Emotion) und des artspezifischen Verhaltens.

## 1.1 Effekte des frühkindlichen Trennungsstressses: Literaturdaten

Was passiert jedoch, wenn diese entscheidende Phase der Entwicklung des Gehirns gestört wird? Bereits zu Beginn der 50er Jahre wurden durch Seymour Levine erstmals tierexperimentelle Untersuchungen durchgeführt. Hierbei wurde die Entstehung der Eltern-Kind-Bindung experimentell gestört, indem Jungtiere mehrmals kurzzeitig von ihrer Familie getrennt wurden (Levine et al., 1956). Bis zum heutigen Zeitpunkt entwickelte sich daraus eine Vielzahl unterschiedlichster experimenteller Ansätze zur Untersuchung der Wirkung frühkindlicher Stresserfahrungen (Lehmann & Feldon, 2000).

Kombinierte verhaltensbiologische und neurowissenschaftliche Studien an typischen Labortieren, wie Ratten und Primaten, haben dabei ergeben, dass es durch den frühkindlichen Trennungsstress zu Verschiebungen der monoaminergen Systeme (Hall et al., 1998; Hall et al., 1999; Matthews et al., 2001) kommt. Bei mutterseparierten Ratten verschiedener Altersstadien

wurden z.B. im Vergleich zu gleichaltrigen juvenilen Kontrolltieren reduzierte striatale Dopamintransporter-Dichten (Meaney et al., 2002; Brake et al., 2004) sowie signifikant erhöhte basale Dopamin-Konzentrationen verschiedener Gehirngebiete gemessen (Kehoe et al., 1996; Hall et al., 1998; Hall et al., 1999). Zusätzlich zeigten sich Veränderungen der metabolischen Gehirnaktivität (Rilling et al., 2001) sowie Verhaltensveränderungen, wie motorische Hyperaktivität (Hall et al., 1998; Hall et al., 1999; Liu et al., 2000; Heim & Nemeroff, 2001; Pryce et al., 2001; Meaney et al., 2002).

## **1.2 Effekte des frühkindlichen Trennungsstress: Tiermodell Degu**

In der Arbeitsgruppe Zoologie / Entwicklungsbiologie des Institutes für Biologie der Universität Magdeburg wurde ein Tiermodell entwickelt, das in besonderer Weise die systematische Erforschung zeitlicher Entwicklung und Manifestierung von stressinduzierten Verhaltensänderungen erlaubt: der frühkindlich gestresste Degu.

Strauchratten-Jungtiere (*Octodon degus*) werden dazu, beginnend mit der Geburt, einem wiederholten, milden, jedoch nicht vermeidbarem Stress ausgesetzt, indem sie in den ersten drei Lebenswochen täglich für eine kurze Zeit (eine Stunde) von ihren Eltern getrennt werden. Die Strauchratte wurde als Spezies für dieses Modell ausgewählt, da sie größere Ähnlichkeiten zur menschlichen Entwicklung aufweist, als dies bei Laborratten oder -mäusen der Fall ist. Anders als bei den meisten anderen Nagern verfügen die Degujungtiere bereits bei Geburt über weit ausgereifte sensorische Systeme (Geruchs-, Tast-, Hör- und Sehsinn, Wilson, 1982). Veränderungen der familiären Umwelt können damit bereits im frühen postnatalen Stadium über die Sinnessysteme wahrgenommen werden. Da die Jungtiere bereits am Tag der Geburt in der Lage sind, sich selbstständig fortzubewegen (vgl. Abb. 1 A, 2 Tage alte Degujungtiere), können schon zu diesem Zeitpunkt detaillierte Verhaltens- und Lernexperimente durchgeführt werden.

Eine weitere interessante Parallele zu den Primaten und Menschen besteht im sehr ausgeprägten vokalen Kommunikationsverhalten, über das sich die Familie und Mitglieder einer Kolonie verständigen. Es konnte gezeigt werden, dass insbesondere emotional assoziierte Vokalisationen ausgetauscht werden, die vermutlich auch der Etablierung und Festigung der Kind-Mutter bzw. Kind-Eltern-Bindung dienen (Poeggel & Braun, 1996; Braun & Poeggel, 2001).

Das in unserer Arbeitsgruppe entwickelte Tiermodell ist im engeren Sinne auf die Untersuchung von Störungen anatomischer und funktioneller Entwicklungsmuster ausgerichtet.

Diese Störungen können zu einer ganzen Reihe von physiologischen und morphologischen Veränderungen in verschiedenen Gehirngebieten führen.

In licht- und elektronenmikroskopischen Studien konnte z.B. nachgewiesen werden, dass wiederholter stundenweiser Trennungsstress zu einer signifikanten Verschiebung der Anteile von Schaft- und Spinesynapsen präfrontaler Cortexareale führt (Ovtscharoff, Jr. & Braun, 2001). Morphologische Untersuchungen im dorsalen anterioren cingulären Cortex (ACd) zeigten Veränderungen der Spinefrequenz von Pyramidenzellen der Schicht II/ III (Helmeke et al., 2001a; Helmeke et al., 2001b; Poeggel et al., 2003a). Untersuchungen der modulatorischen Afferenzen des Präfrontalcortex und des limbischen Systems ergaben zudem, dass bei frühkindlich gestressten Tieren am Postnataltag (PND) 45 eine erhöhte Dichte serotonerger Fasern im infralimbischen Cortex, eine Reduktion der Dichte Tyrosinhydroxylase-(TH)-positiver Fasern, d.h. der dopaminergen bzw. noradrenergen Innervation) des präcentralen medialen, anterior cingulären und prälimbischen Cortex, aber auch ein Anstieg der TH-Faserdichte im ventrolateralen orbitofrontalen Cortex zu verzeichnen war (Braun et al., 2000, Poeggel et al., 2003b). Zusätzlich wurde ein trennungsstressbedingter Anstieg der Dopamin (D1)- und 5-Hydroxytryptamin- (5HT1(A)-Rezeptordichten im präcentral medialen, anterior cingulären, prälimbischen und infralimbischen Cortex weiblicher Degu-Jungtiere festgestellt (Ziabreva et al., 2003).

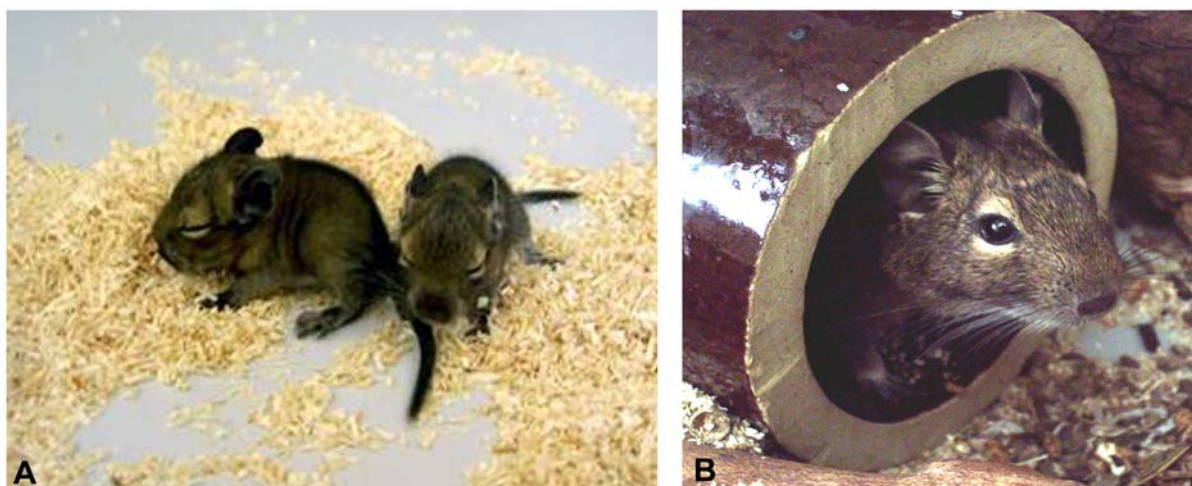


Abb. 1: Tiermodell Degu: (A) 2 Tage alte Jungtiere, (B) Muttertier im Heimkäfig (Voliere)

Verhaltensexperimente an 8-tägigen Degus haben gezeigt, dass Jungtiere, die wiederholt von der Familie getrennt wurden (d.h. wiederholte Trennungs- und Stresserlebnisse hatten) hyperaktives Verhalten entwickelten. Zusätzlich reagierten sie kaum noch auf angebotene positiv besetzte emotionale Stimuli, wie Lockrufe der Mutter (Braun et al., 2003). In Elevated-Plus-Maze-(EPM)-Experimenten zeigten frühkindlich gestresste 21-tägige Degus zudem eine

erhöhte eine vertikale Explorationsrate und damit Zeichen verringerter Ängstlichkeit (Becker et al., 2007).

### **1.3 Das Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Syndrom**

#### **1.3.1 Allgemeine Charakterisierung**

Interessanterweise ähneln die eben beschriebenen, durch frühkindlichen Trennungsstress ausgelösten Veränderungen des Verhaltens der untersuchten Degujungtiere (vor allem die Hyperaktivität und die verminderte Aufmerksamkeit) den Symptomen eines der häufigsten neurologischen Erkrankungen der menschlichen Kindheitsphase, dem Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Syndrom (ADHS, engl. Attention deficit hyperactivity disorder, ADHD).

Das ADHD-Syndrom tritt mit einer geschätzten Häufigkeit von 5–10% der Gesamtbevölkerung auf (Barkley, 1977; Swanson et al., 1998; Remschmidt, 2005). Vom klinischen Bild „ADHD“ wird allgemein gesprochen, wenn die Symptome (Unaufmerksamkeit, und/oder Hyperaktivität und Impulsivität) mindestens in zwei unterschiedlichen Umgebungen auftreten (meist Schule und zu Hause), sich vor dem 7. Lebensjahr manifestiert haben und schon mindestens 6 Monate andauern. Es werden dabei drei Subtypen unterschieden: der hyperaktive, impulsive Typ, der unaufmerksame Typ sowie der kombinierte Typ (American Psychiatric Association, 2000).

Doch können für das Tiermodell Degu und das klinische Krankheitsbild vergleichbare Ursachen angenommen werden?

Wie eingangs erläutert, ist das veränderte Verhalten der Degus durch die frühkindlichen Stresserfahrungen bedingt. Für das Krankheitsbild ADHD kann hingegen diesbezüglich keine eindeutige Aussage getroffen werden. In vielen Publikationen werden genetische Ursachen in den Vordergrund gerückt (Swanson et al., 2000; Epstein et al., 2000). Hierfür wurden entsprechende Tiermodelle entwickelt, wie z.B. die SHR-Ratte (Spontaneously hypertensive rat, Sagvolden, 2000; Adriani et al., 2003), die Dopamintransporter (DAT)-Gen-Knockout-Maus (Gainetdinov & Caron, 2000) oder die NHE-Ratte (Naples-high excitability-rat, Viggiano et al., 2003). Es mehren sich jedoch die Hinweise, dass zusätzlich so genannte „weiche Faktoren“, wie z.B. gestörter familiärer Hintergrund, niedriger sozialer Status oder negative Kindheitserlebnisse häufiger in Familien mit ADHD-Kindern auftreten als in entsprechenden Kontrollfamilien (Epstein et al., 2000; Jester et al., 2005; Counts et al., 2005). Bei Untersuchungen von familienbezogenen Risikofaktoren für ADHD wurde beispielsweise eine positive Korrelation zwischen der Anzahl an vorhandenen Risikofaktoren und dem

Erkrankungsrisiko festgestellt (Biederman et al., 1995). Hierbei spielen vor allem unbeständige Mutter-Kind-Beziehungen eine Rolle (Keown & Woodward, 2002). Hohe ADHD-Häufigkeit wurde auch für Adoptivkinder mit extremen negativen Vorerfahrungen (Kindesmissbrauch, Vernachlässigung) nachgewiesen (Roy et al., 2000).

## **1.4 Welche Gehirnregionen sind an der Entstehung des ADHD-Syndroms beteiligt?**

In der ADHD-Literatur wird primär eine Hypofunktion des Präfrontalcortex (PFC) als ursächlich für die Entstehung des Krankheitsbildes ADHD angesehen (Tamm et al., 2004). In Untersuchungen an Patienten mit ADHD wurden derartige funktionelle Veränderungen des PFC gezeigt (Zametkin et al., 1990; Dinn et al., 2001; Bush et al., 2005; Krauel et al., 2007). Ebenso führen Läsionen des PFC zu typischen ADHD-Symptomen, wie Ablenkbarkeit (reduzierte Aufmerksamkeit), Hyperaktivität und Impulsivität (Solanto, 2002).

Auch entwicklungsbiologisch scheint eine ursächliche Beteiligung des PFC an der Entstehung dieses Krankheitsbildes wahrscheinlich, da die mit komplexen anatomischen und physiologischen Änderungen verbundene dopaminerge Innervation des PFC (Braun et al., 2000; Busche et al., 2004) erst sehr spät ausreift und damit sensitiv gegenüber erfahrungsbedingten oder pharmakologisch induzierten Umwelteinflüssen ist und so zusätzlich zur variablen genetischen Disposition die postnatale funktionelle Reifung des PFC erheblich beeinflusst. Diese Eigenschaften des PFC prädestinieren dieses Gebiet für die gezielte Untersuchung des Einflusses frühkindlicher emotionaler Erfahrungen z.B. auf die Synapsenentwicklung sowie auf die Entwicklung modulatorischer Systeme innerhalb der vorliegenden Dissertation. Das Gehirngebiet soll an dieser Stelle daher einleitend noch genauer charakterisiert werden.

### **1.4.1 Der Präfrontalcortex (PFC)**

Unter dem Begriff PFC werden die neocortikalen Anteile des Frontallappens zusammengefasst, die rostral der prämotorischen Rinde bis zum vorderen Ende des Frontallappens liegen. Er ist der am weitesten entwickelte und aus phylogenetischer Sicht jüngste Teil des Neocortex, der im Menschen ca. 25-30% (Goldman-Rakic, 1987; Uylings & van Eden, 1990) des cerebralen Gesamtvolumens ausmacht.

Lange Zeit galt die Annahme, dass dieser Hirnbereich nur in den höchstentwickelten Säugetieren (Primaten, Mensch) vorzufinden ist (Uylings & van Eden, 1990). Erst durch anatomische Untersuchungen der Projektionsgebiete des mediodorsalen Thalamus durch Rose

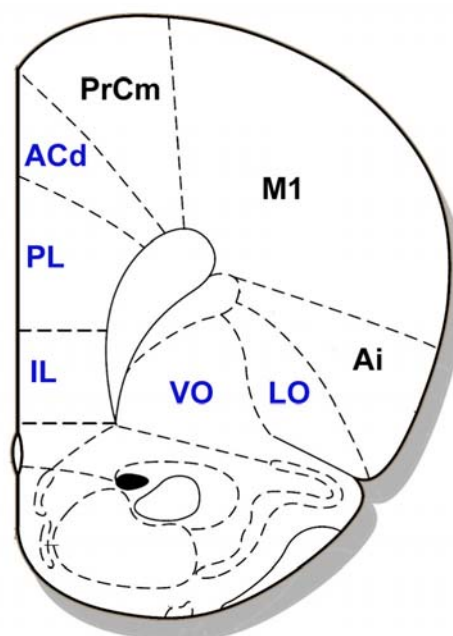


& Woolsey, 1948) wurden vergleichbare präfrontale Gebiete auch für Nichtprimaten, d.h. die in der Forschung verwendeten Nagetiere wie Ratte und Maus, anerkannt. Da die kortikalen Gebiete in Nichtprimaten jedoch evolutionär wesentlich geringer entwickelt und damit auch weniger differenziert und weniger komplex aufgebaut sind als bei Primaten, wird auch heute noch über die Zuordnung der Cortexbereiche von Nichtprimaten im Vergleich zu denen der Primaten diskutiert (Povinelli & Preuss, 1995; Uylings et al., 2003). Immerhin zeigen sich große Übereinstimmungen bei der Betrachtung der neuronalen Verbindungen des PFC mit subkortikalen Strukturen. Afferenzen empfängt der PFC aus nahezu allen, aber insbesondere limbischen Großhirnrindengebieten, sowie vom mediodorsalen Thalamus (MD) und dopaminergen Hirnstammgebieten, wie dem ventralen tegmental Areal (VTA) und der Substantia nigra (SN) (Povinelli & Preuss, 1995). Anhand dieser neuroanatomischen Definition ist der PFC auch in der Ratte und anderen Nagetieren wie dem Degu vorhanden (Lindvall et al., 1978). Weitere Verbindungen des PFC bestehen zur CA-1 Region des Hippocampus und den Basalganglien (Swanson 1981) und auch zum Septum und dem Hypothalamus (Beckstead 1979). Als Besonderheit im Vergleich zu den Primaten fehlt jedoch bei Nagetieren die innere Körnerschicht (Schicht IV). Als agranulärer Cortex kann er damit von allen anderen Neocortexbereichen, die granulär aufgebaut sind (Schicht IV vorhanden), unterschieden werden (Uylings et al., 2003).

Diese strukturelle Verknüpfung der Assoziationsregion „PFC“ mit vielen kortikalen und subkortikalen Gebieten ermöglicht die Verarbeitung komplexer, multimodaler Informationen. Funktionell wird der PFC dabei mit der räumlichen und zeitlichen Koordination von Verhalten, sowie der Auslösung von Emotionen und Verhaltensweisen in einem bestimmten ungestressten Kontext charakterisiert (Kolb, 1984; de Bruin et al., 2000; Fuster, 2000).

Abb. 2: Schematische Darstellung eines Frontalschnittes des PFC mit ausgewählten Subregionen:

ACd = anteriorer cingulärer Cortex, Ai = agranulärer insulärer Cortex, IL = infralimbischer Cortex, M1 = prämotorischer Cortex, PL = prälimbischer Cortex, PrCm = präcentraler medialer Cortex, VO = ventraler orbitofrontaler Cortex, LO = lateraler orbitofrontaler Cortex (modifiziert nach Groenewegen, 1988; Paxinos & Watson, 1998). Die blau markierten Areale wurden in der vorliegenden Arbeit untersucht.



Der PFC der Ratte wird im allgemeinen in drei topologisch unterscheidbare Bereiche gegliedert, den medialen präfrontalen Cortex, den eher ventral gelegenen orbitofrontalen Cortex sowie den lateralen präfrontalen Cortex (auch agranulären Cortex) (Abb. 2, Heidbreder & Groenewegen, 2003).

Der dorsale Teil des mPFC (mit dem anterior cingulären und prälimbischen Cortex) ist dabei vor allem an der zeitlichen Planung und Integration von Verhaltenssequenzen beteiligt, wobei der dorsale anterior cinguläre Cortex (ACd) eine Schlüsselrolle bei der Steuerung von Aufmerksamkeit und exekutiven Funktionen spielt (Devinsky et al., 1995; Casey et al., 1997; Carter et al., 1999) und als Schwerpunktareal der vorliegenden Arbeit genauer analysiert wird.

Der ventrale PFC (mit infralimbischen und orbitofrontalen Cortex) ist hingegen eher für die Integration neuer Verhaltensstrategien als Reaktion auf räumliche Stimuli zuständig (Uylings et al., 2003). Insbesondere der orbitofrontale Cortex, der an der Erkennung der sozialen und emotionalen Relevanz von Situationen, der Fehlerabschätzung und Fehlerkorrektur sowie der Abschätzung von Konsequenzen und des Risikos sozialen Verhaltens beteiligt ist (Rolls, 2004).

Da die medialen und orbitalen Bereiche des PFC direkte Verbindungen zu limbischen Strukturen wie z.B. dem Hippocampus oder der Amygdala aufweisen, werden beide auch als „limbische“ Cortices bezeichnet (van Eden & Uylings, 1985). Trotz dieser Definition besitzen beide kortikalen Regionen grundsätzliche Unterschiede, die vor allem in ihrer unterschiedlichen Funktionalität verankert sind (van Eden & Uylings, 1985). Der OFC besitzt einen hohen 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), wie z.B. dem Spielverhalten, aber auch an der Generierung impulsiven Verhaltens beteiligt ist (Pellis et al., 2006; Davidson et al., 2000).

Im menschlichen Gehirn ist die vollständige Ausreifung des PFC nicht vor dem 23.-25. Lebensjahr vollendet (van Eden & Uylings, 1985). Auch bei Nagern endet die präfrontale Entwicklung der mesopräfrontalen dopaminergen Bahn erst im jungen Erwachsenenalter (Uylings & van Eden, 1990; Busche et al., 2004; Kalsbeek et al., 1988; Dawirs et al., 1993; Rosenberg & Lewis, 1994). Dies wurde auch beim Degu dokumentiert (Braun et al., 2000). Entwicklungsbiologisch scheint eine ursächliche Beteiligung des PFC an der Entstehung des Krankheitsbildes ADHD somit wahrscheinlich, da die mit komplexen anatomischen und physiologischen Änderungen verbundene dopaminerge Innervation des PFC im Vergleich zu

subcortikalen Hirngebieten erst sehr spät ausreift und damit sensitiv gegenüber erfahrungsbedingten oder pharmakologisch induzierten Umwelteinflüssen ist (Braun et al., 2000; Busche et al., 2004).

Beim Degu wurde die dopaminerge Innervations- und Zelldichtebestimmung verschiedener Hirnareale durch die immunhistochemische Markierung von Tyrosinhydroxylase (TH)-haltigen Fasern zu verschiedenen Alterstadien untersucht (Abb. 3).

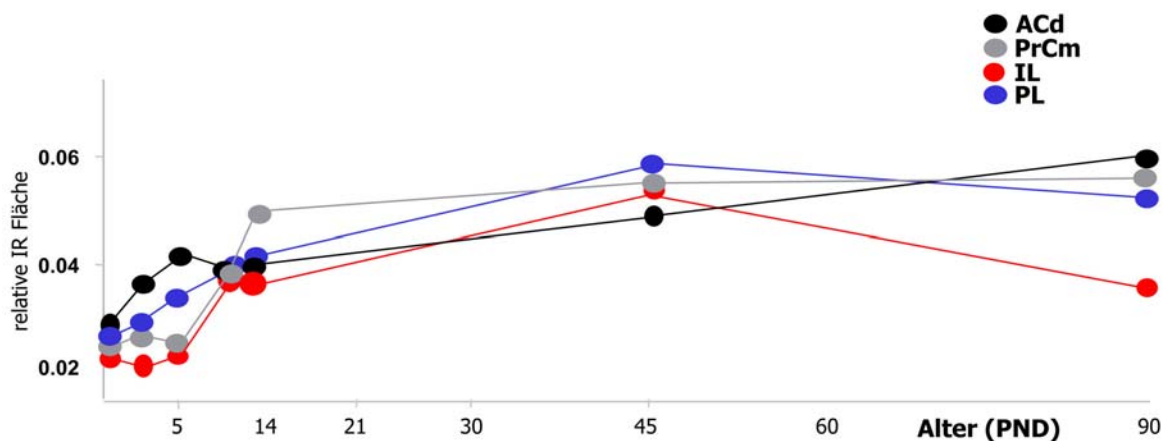


Abb. 3: Zeitlicher Verlauf der Reifung mesopräfrontaler dopaminergere Bahnen des Degus (Schicht II/III): ACd = dorsaler anteriorer cingulärer Cortex, PrCm = präcentraler medialer Cortex, IL = infralimbischer Cortex, PL = prälimbischer Cortex, relative IR-Fläche: Fläche immunmarkierter Fasern relativ zur analysierten Schnittfläche (nach Braun et al., 2000, verändert)

Mithilfe dieser Färbung konnten die einwachsenden dopaminergen (aber auch noradrenergen) Afferenzen immunhistochemisch nachgewiesen werden, da TH das erste und synthesebestimmende Enzym bei der Bildung von Catecholaminen darstellt und somit in diesen Neuronen und Fasern vorhanden ist (Rosenberg & Lewis, 1994; Gos et al., 2006). In dieser Studie wurde nachgewiesen, dass sich im Degu die TH-Faserdichten in der Schicht II/III der einzelnen Areale des mPFC vom Postnataltag (PND) 0 bis PND 14 in kurzer Zeit recht schnell erhöhten (+40%). Bis zum PND 45 stieg die Innervation in allen Gebieten weiter an (+70% bis +100%), sodass im ACd, PrCm und PL bereits zu diesem Zeitpunkt ungefähr adulte Level erreicht wurden (Braun et al., 2000, Abb. 3). Die Entwicklung des PFC verläuft im Degu also vor allem im frühen postnatalen Zeitraum. Die verspätete Ausreifeung des PFC wird als notwendige Voraussetzung zur (erst im postnatalen Entwicklungsstadium möglichen und sinnvollen) Erlernung von Strategien zur Problemlösung und Adaptation an veränderliche Umwelteinflüsse angesehen (Kalsbeek et al., 1990). Das Einwachsen dopaminergere Fasern in die Basalganglien findet hingegen früher als im PFC statt (Busche et al., 2004; Tarazi et al., 1998; Moll et al., 2000).

## 1.4.2 Das nigrostriatale und mesocorticolimbische System

Im Kapitel 1.4.1 wurde bereits auf die Rolle des PFC bei der Entstehung des ADHD-Syndroms eingegangen. Eine Hypofunktion des PFC kann jedoch nicht als alleinige Ursache von Krankheitsbildern, wie dem ADHD-Syndrom diskutiert werden, zeichnet er sich doch durch enge Verbindungen mit vielen subcortikalen Gebieten, wie dem Nucleus accumbens (Nacc), Striatum (Caudatum + Putamen, CPu), Thalamus, Substantia nigra (SN) und dem ventralen tegmental Areal (VTA) aus. Vor allem bei der Entstehung der charakteristischen motorischen Hyperaktivität des ADHD-Syndroms werden daher neben einer veränderten Regulation des Striatums durch den PFC auch direkte ursächliche Fehlfunktionen des Striatums in Betracht gezogen, wie u.a. Analysen mit bildgebenden Verfahren belegen (Durston et al., 2003).

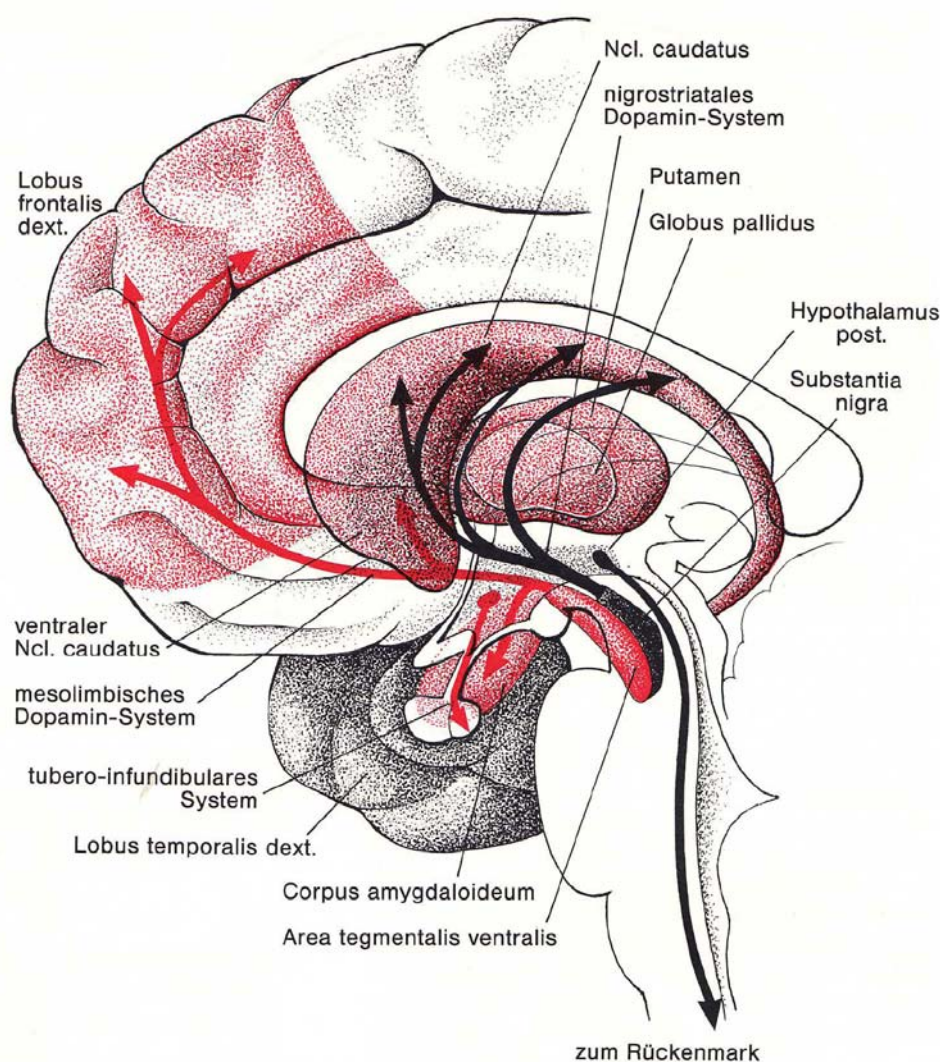


Abb. 4: Das dopaminerge System mesocorticolimbische (rot) und nigrostriatale (schwarz) Bahn, aus Birbaumer & Schmidt, 2003

Vor allem im Hinblick auf die motorischen Veränderungen beim Krankheitsbild ADHD ist eine gezieltere Betrachtung des Striatums von Interesse, da es direkt an der Selektion, Initiation und Ausführung bewusster motorischer Bewegungen beteiligt ist. Bei Störungen der Funktionalität des Striatums kommt es je nach Art der Dysfunktion entweder zu motorischer Überaktivität (z.B. bei der Chorea Huntington) oder zu Akinese (Bewegungsarmut beim Morbus Parkinson) (Trepel, 1999; Solanto, 2002). Auch die motorische Überaktivität beim Krankheitsbild ADHD könnte als eine Art "Entgegengesetzter Morbus Parkinson" erklärt werden, bei der eine erhöhte striatale Aktivität zu einer verringerten Aktivität des internen Pallidums führt (und damit motorischen Überaktivität auslöst (Castellanos, 2001; Solanto, 2002, vgl. Abb. 54 im Diskussionsteil für eine graphische Darstellung).

Zusammenfassend kann damit also gesagt werden, dass vor allem Veränderungen der Präfrontalcortexbereiche sowie der Basalganglien ursächlich an der Entstehung des ADHD-Syndroms beteiligt sind. Die funktionelle Ausreifung dieser Gehirngebiete ist einerseits genetisch veranlagt. Sie wird andererseits aber vor allem in Präfrontalcortexbereichen durch die Umwelt des sich entwickelnden Organismus beeinflusst.

Anders als bei den schon vorhandenen Tiermodellen zur Untersuchung von genetischen Veränderungen dieser Gehirnbereiche (s.o.), sollte mithilfe des Tiermodells Degu daher nun die Wirkung einer negativen (kindlichen) Umwelt auf den Modellorganismus Degu untersucht werden. Die Besonderheit an diesem Tiermodell ist dabei vor allem, dass bei einem zuvor verhaltensnormalen Tier erst mittels des frühkindlichen Trennungsstressses ADHD-ähnliche Symptome erzeugt werden.

## 1.5 Arbeitshypothese 1 zu Effekten des frühkindlichen Stresses im Tiermodell Degu

### Arbeitshypothese 1:

- *Für das Krankheitsbild ADHD wird eine positive Korrelation zwischen der Anzahl der in einer Familie auftretenden Störfaktoren (Entstehung einer stressvollen Umwelt) und der ADHD-Häufigkeit festgestellt. Kinder aus entsprechenden Familien zeigen gehäuft Verhaltensveränderungen, wie Hyperaktivität, Ablenkbarkeit und Impulsivität.*
- *Im Tiermodell Degu induziert der frühkindliche Trennungsstress modellhaft eine vergleichbare gestörte familiäre Situation. Jungtiere, die in dieser veränderten sozio-emotionalen Umwelt aufwachsen, zeigen daher ähnliche Veränderungen des Verhaltens, die als Adaptation an diese Umwelteinflüsse angesehen werden können.*
- *Den Veränderungen des Verhaltens und der funktionellen Aktivität können Veränderungen des dopaminergen Systems z.B. präfrontaler, mesolimbischer und nigrostriataler Bereiche zugrundeliegen. Bei ADHD-Patienten wurde mithilfe bildgebender Verfahren eine verringerte funktionelle Aktivität des Präfrontalcortex sowie eine veränderte striatale Funktionalität festgestellt. Auch in Tiermodellen wurde eine Veränderung der präfrontalen Aktivität infolge der Einwirkung von Separationsstress gezeigt.*
- *Der frühkindliche Stress sollte auch im Tiermodell Degu zu Veränderungen des Verhaltens und der metabolischen Aktivität verschiedener Gehirngebiete führen. Dies kann im Tiermodell Degu experimentell überprüft und mit der ADHD-Literatur abgeglichen werden.*

### 1.5.1 Verhaltensuntersuchungen zu Effekten des frühkindlichen Stresses bei juvenilen Tieren

Aus der oben skizzierten Arbeitshypothese ergab sich zunächst die Frage, ob die durch wiederholten Trennungsstress ausgelöste Hyperaktivität, die bereits bei sehr jungen, achttägigen Degujungtieren (Braun et al., 2003) sowie in anderen Tiermodellen zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten nachgewiesen wurde (Hall et al., 1998; Hall et al., 1999; Liu et al., 2000; Heim & Nemeroff, 2001; Pryce et al., 2001; Meaney et al., 2002), beim Degu auch noch am PND 22, also in der späten juvenilen Phase feststellbar ist. Als Testparadigma wurden dazu Verhaltenstests in einem Standard - Open Field (OF) (Test ohne zusätzliche akustische Stimulation, siehe unten) im direkten Anschluss an die Stressphase (PND1-21) durchgeführt (Open Field-Test #1, Kapitel 3.2.1). Mithilfe dieser Tests konnten

zudem Untersuchungen zu den Effekten des frühkindlichen Stresses auf die Ängstlichkeit der Tiere erfolgen (Walsh & Cummins, 1976; Lipkind et al., 2004).

➤ *Welche Verhaltensänderungen (z.B. hyperaktives Verhalten oder Ängstlichkeit) zeigen Degus nach 21-tägigem frühkindlichen Stress in einem Open Field-Test?*

Die Nutzung des Tiermodells Degu bot dabei den Vorteil, dass neben Aussagen zu den klassischen, im Open Field-Tests ermittelten Parametern (horizontale, vertikale Aktivität, Zentrumsexploration etc.) zusätzlich Aussagen zur emotionalen Aufmerksamkeit getroffen werden konnten. Hierzu wurden in Anlehnung an Braun et al., 2003 Verhaltenstests in einem modifizierten OF durchgeführt, bei denen eine zusätzliche Messung der Reaktivität (Aufmerksamkeit) des Tieres gegenüber positiv emotional assoziierten, artspezifischen Vokalisationen (Spiellaute der Geschwister) stattfand. Auch diese Tests wurden im direkten Anschluss an die Stressphase durchgeführt (vgl. Kapitel 3.3.1.2.).

➤ *Zeigen Degus nach 21tägigem, frühkindlichen Stress Veränderungen der Aufmerksamkeit?*

### **1.5.2 Funktionell metabolische Untersuchungen zu Effekten des frühkindlichen Stresses bei juvenilen Tieren**

Wie bereits angeführt, wurden bei ADHD-Patienten mithilfe bildgebender Verfahren u.a. Veränderungen der funktionellen Aktivität verschiedener Gehirngebiete, wie z.B. des Präfrontalcortex festgestellt (vgl. Durston, 2003; Bush et al., 2005 für ausführliche Reviews). Obwohl nur wenige Studien zur Wirkung von Separationsstress auf die metabolische Funktion von Gehirngebieten in Tiermodellen vorliegen, wurden auch dort Veränderungen vor allem des Präfrontalcortexbereiches gezeigt (Rilling et al., 2001).

Mithilfe von funktionell metabolischen Untersuchungen sollte in einem zweiten experimentellen Teil daher überprüft werden, welche hirnbioologischen Änderungen zu den Veränderungen des Verhaltens im Tiermodell Degu nach frühkindlichem Stress führen. Es wurde dazu die 2-Fluoro-Deoxyglukose (2-FDG)-Methode nach Sokoloff et al., 1977, modifiziert nach Gonzalez-Lima, 1992 verwendet, da diese durch die direkte Messung am Hirnschnitt eine sehr hohe Auflösung bietet und Untersuchungen eines sich frei bewegenden, unnarkotisierten Tieres auch während eines Verhaltenstests ermöglicht. Die 2-FDG-Methode

ist seit längerem in der Arbeitsgruppe etabliert und wurde bereits erfolgreich zur Überprüfung der physiologischen Wirkung von systemisch oder lokal applizierten, neuropharmakologisch wirksamen Substanzen eingesetzt (vgl. Bock et al., 1996; Bock et al., 1997).

Folgende Fragen wurden definiert:

- *In der ADHD-Literatur wird primär eine Hypofunktion des Präfrontalcortex (PFC), aber auch striatale Aktivitätsänderungen als ursächlich für die Entstehung des Erkrankungsbildes ADHD angesehen. Können bei frühkindlich gestressten Degujungtieren ähnlich veränderte Aktivitätsmuster nachgewiesen werden?*
- *Zu welchen regionenspezifischen Veränderungen der metabolischen Aktivität führt frühkindlicher Stress?*

## **1.6 Arbeitshypothese 2 zu Effekten einer Methylphenidat-Behandlung bei juvenilen ungestressten und gestressten Degus**

Dem ersten Teil der vorliegenden Dissertation lagen damit Fragestellungen zu direkten Effekten des frühkindlichen Stresses auf den tierischen Organismus und deren Abgleich mit dem klinischen Bild des ADHD-Syndroms zugrunde. In einem zweiten Schritt sollten nun pharmakologische Experimente durchgeführt werden, um detaillierte Aussagen zu Folgen des frühkindlichen Stresses im Tiermodell Degu zu ermöglichen. Da den Verhaltensänderungen sowohl im Tiermodell als auch im Krankheitsbild ADHD Veränderungen des dopaminergen Systems zugrunde liegen, wurde als pharmakologische Substanz Methylphenidat (MP) ausgewählt.

### **1.6.1 Warum wird Methylphenidat zur Behandlung von ADHD eingesetzt?**

MP ist Hauptwirkstoff des weltweit am häufigsten eingesetzten Medikamentes zur Behandlung des ADHD-Syndroms (Ritalin®), dessen Wirksamkeit im klinischen Alltag in diversen Studien (Krause et al., 2000; Kim et al., 2001; Brodeur & Pond, 2001; Aron et al., 2003; de Haes et al., 2007; Montgomery et al., 2007) und an normalen Labortieren sowie genannten Tiermodellen des ADHD-Syndroms getestet wurde (Grund et al., 2006; Gray et al., 2007; Zeise et al., 2007; Thanos et al., 2007).



Methylphenidat (Abb. 5) wurde erstmals 1944 synthetisiert und 1954 als Antidepressionsmittel patentiert. Erst zu Beginn der 60er Jahre wurde seine Bedeutung für die Behandlung von Hyperaktivität erkannt (Schulte-Markwort & Warnke, 2004).

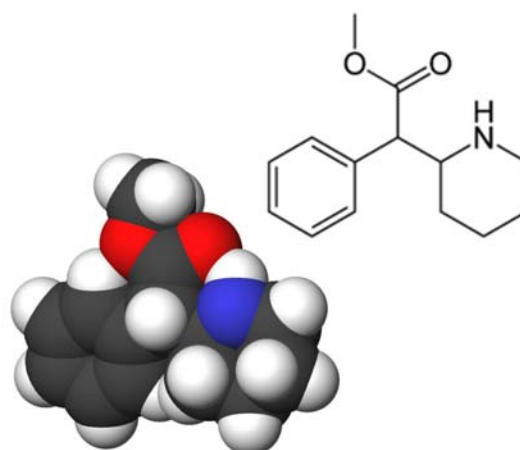


Abb. 5: Methylphenidat, chemische Formel und räumliche Struktur (Quelle: [www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org), verändert)

Es ist mittlerweile allgemeiner Konsens, dass die Wirksamkeit von MP zur Behandlung von ADHD auf seiner Fähigkeit beruht, den Dopamintransporter (DAT) zu blockieren (Kuczenski & Segal, 1997), jedoch scheinen auch Bindungsaffinitäten zum Noradrenalintransporter von Bedeutung zu sein (Arnsten & Li, 2005). Die hohe Bindungsfähigkeit des DAT durch MP zeigen z.B. PET-Studien in Primaten, bei denen bei Dosierung des MP in klinisch relevanten Dosen eine Okkupanz von über 50% der striatalen DAT-Bindstellen erreicht wurde (Volkow et al., 2002). Die Blockade der DAT-Bindungsstellen führt dabei zu einer Erhöhung der extrazellulären Dopamin (DA)-Konzentrationen (Gerasimov et al., 2000; Volkow et al., 2001). Dies könnte z.B. eine Normalisierung der Funktionalität der hypofunktionellen Präfrontalcortexbereiche von ADHD-Patienten bewirken. Bei anderen wirksamen Stimulantien, wie z.B. bei Amphetamin wird dieser Effekt durch eine zusätzliche Freisetzung von DA erreicht.

Für das Striatum scheint dieses Prinzip jedoch auf den ersten Blick nicht anwendbar, da die dopaminergen Stimulantien die Fehlfunktion eines potentiell hyperfunktionellen Striatums weiter verstärken müssten. (Aufgrund der verringerten DAT-Dichten bei ADHD-Kindern wäre eine höhere DA-Basalkonzentration zu erwarten und müsste sich die extrazelluläre DA-Konzentration durch die Gabe von MP weiter erhöhen). Zu diesem Punkt werden dosisabhängige Effekte der applizierten Substanzen diskutiert (Arnsten 2005). Studien mit MP und Amphetamin haben z.B. gezeigt, dass niedrige Dosen vor allem präsynaptische inhibitorische Autorezeptoren der nigrostriatalen und ventral tegmental Gebiete stimulieren und damit die Feuerrate der dopaminergen Zellen vermindern (Bunney et al., 1973; Browder et al., 1981). Bei gesunden Probanden wurde z.B. in PET-Studien gezeigt, dass MP in therapeutisch wirksamen Dosen so zu einer Reduktion der metabolischen Aktivität im Striatum führt (Volkow et al., 1997). Ausführlich wird diese Hypothese für MP in Seeman & Madras,

2002 beschrieben. Eine Überdosierung würde hingegen zu einem so starken Anstieg der Feuerrate der dopaminergen Zellen führen, dass der Mechanismus der Autorezeptorhemmung an den Synapsen nicht mehr zu einer funktionellen Gegenregulation ausreicht.

### 1.6.2 Methylphenidat im Tiermodell Degu

Wie oben ausführlicher dargelegt, hat der frühkindliche Trennungsstress im Tiermodell Auswirkungen auf verschiedenste Parameter des dopaminergen Systems. Da auch für ADHD-Patienten Verschiebungen des dopaminergen Systems kennzeichnend sind und in klinischen Studien eine Aktivierung präfrontaler Gehirngebiete nach MP-Applikation nachgewiesen wurde (Biederman & Faraone, 2005; de Haes et al., 2007), sollte nun mit Hilfe der funktionell metabolischen Untersuchungen (2-FDG) geklärt werden, ob das beim Menschen erfolgreich zur Behandlung von ADHD eingesetzte Pharmakon MP auch beim frühkindlich gestressten Degu-Jungtier wirksam ist. Dies würde die Funktionsfähigkeit des Tiermodells Degu unterstreichen.

Es ließ sich damit folgende zweite Arbeitshypothese ableiten:

#### **Arbeitshypothese 2:**

- *Bei ADHD-Patienten wurden Verschiebungen des dopaminergen Systems als ursächlich für die Entstehung des Krankheitsbildes charakterisiert. Eine damit verbundene verringerte funktionelle Aktivität des Präfrontalcortex sowie eine veränderte striatale Funktionalität führen u.a. zu Aufmerksamkeitsstörungen, Hyperaktivität und Impulsivität, den Hauptsymptomen des ADHD-Syndroms.*
- *Frühkindlicher Trennungsstress im Tiermodell Degu hat Auswirkungen auf verschiedenste Parameter des dopaminergen Systems.*
- *Es kann daher vermutet werden, dass das beim Menschen erfolgreich zur Behandlung von ADHD eingesetzte, auf dopaminerge Mechanismen wirkende Pharmakon Methylphenidat (MP) auch beim frühkindlich gestressten Degujungtier wirksam ist.*
- *Eine Behandlung frühkindlich gestresster Degujungtiere mit MP könnte damit zu einer Beeinflussung des Verhaltens sowie des hirnmorphologischen und funktionellen Zustandes der Jungtiere führen.*

### **1.6.3 Verhaltensuntersuchungen zu Effekten einer akuten Methylphenidat-Behandlung bei juvenilen, ungestressten und gestressten Tieren**

Durch Verhaltenstests nach einer akuten MP-Applikation (vgl. Kapitel 3.2.2.1) sollten hierzu im Standard-OF (zur Überprüfung der motorischen Aktivität) sowie im modifizierten OF (zur Überprüfung der Aufmerksamkeit) geklärt werden, ob das beim Menschen zur Behandlung von ADHD eingesetzte, auf dopaminerge Mechanismen wirkende Pharmakon Methylphenidat auch bei frühkindlich gestressten Degu-Jungtieren seine Wirkung entfaltet, d.h. zu einer Normalisierung des durch den frühkindlichen Stress veränderten Verhaltens der Jungtiere führt.

- *Führt eine akute Behandlung mit Methylphenidat bei frühkindlich gestressten und ungestressten Degus zu differenzierten Effekten bei der Analyse der motorischen Aktivität und der emotionalen Aufmerksamkeit im Open Field?*

### **1.6.4 Funktionell metabolische Untersuchungen zu Effekten einer akuten Methylphenidat-Behandlung bei juvenilen, ungestressten und gestressten Tieren**

In klinischen Studien wurde eine Aktivierung präfrontaler Gehirngebiete durch MP-Applikation nachgewiesen (Biederman & Faraone, 2005; de Haes et al., 2007). Mithilfe der funktionellen Imaging-Untersuchungen (2-FDG Methode) soll nun überprüft werden, ob Änderungen der metabolischen Gehirnaktivität zu den oben beschriebenen Veränderungen des Verhaltens nach frühkindlichem Stress und nachfolgender akuter MP-Behandlung führen.

- *Wie wirkt sich eine akute Gabe von Methylphenidat auf die metabolischen Aktivität der ungestresst bzw. frühkindlich gestresst aufgewachsenen Degujungtiere aus? Wirkt eine akute Gabe von Methylphenidat den Effekten des frühkindlichen Stresses entgegen?*

## **1.7 Verhaltensuntersuchungen zu Effekten einer chronischen Methylphenidat- Behandlung bei adoleszenten, ungestressten und gestressten Tieren**

Neben der eben beschriebenen Analyse der Akutwirkung des dopaminergen Pharmakons Methylphenidat sollte zusätzlich geklärt werden, welche Effekte eine chronische MP-Behandlung (PND 22-45) auf das Verhalten frühkindlich gestresster und ungestresster Degus im adoleszenten Alter (am PND 45) hat und ob es Unterschiede zur Akutwirkung im juvenilen Altersstadium (am PND 22) gibt.

Die genannten Untersuchungszeitpunkte wurden aus folgenden Gründen gewählt: Bei der Vorstellung des PFC (Kapitel 1.4) wurde die späte, da erst postnatale Ausreifung dieses Hirngebietes und die daraus resultierende Vulnerabilität für negative frühkindliche Umwelteinflüsse diskutiert. Aufbauend auf frühere Arbeiten im Tiermodell Degu (Braun et al., 2000; Ovtsharoff, Jr. & Braun, 2001; Helmeke et al., 2001a; Poeggel et al., 2003b; Gruss et al., 2006; Gos et al., 2006; Becker et al., 2007) wird im Tiermodell Degu daher eine Stresseinwirkung während der frühen postnatalen, juvenilen Entwicklung der Jungtiere induziert (frühkindlicher Stress vom PND 1-21). Dieser Zeitraum der Stressinduktion wurde daher in der vorliegenden Dissertation angewendet. Da bei ADHD-Patienten das Auftreten des Krankheitsbildes ADHD in der späten Kindheit und der daran anschließenden Adoleszenz am häufigsten ist und daher in diesem Zeitraum medikamentös (z.B. mit MP) behandelt wird, wurden die frühkindlich gestressten Degus im Anschluss an die Stressphase, d.h. während der Phase der Präadoleszenz von PND 22 bis 45 mit MP behandelt und sowohl nach einer einmaligen akuten MP-Behandlung im noch juvenilen Alter (am PND 22) als auch nach chronischer MP-Behandlung im adoleszenten Alter (am PND 45) auf die Wirkung der MP-Injektion(en) getestet.

Zur Überprüfung der Langzeiteffekte der MP-Behandlung wurde jeweils ein OF-Tests vor der Injektion am PND 45, d.h. ohne direkten Einfluss einer Saline- bzw. MP-Behandlung (Open Field-Test #3, Kapitel 3.3.3) durchgeführt. Danach wurden die Tiere nach einer erneuten Injektion ein weiteres Mal getestet, um die Effekte einer erneuten Injektion nach fast dreiwöchiger pharmakologischer Behandlung zu überprüfen (Open Field-Test #4, Kapitel 3.3.4)

➤ *Wie wirkt sich eine chronische Gabe von Methylphenidat von PND 22-45 auf das OF-Verhalten (motorische Aktivität und emotionale Aufmerksamkeit) der frühkindlich gestressten und Kontrolltiere am PND 45 aus?*

Zur Beantwortung dieser Frage wurden am PND 45 Verhaltenstests in einem Standard- und modifizierten Open Field 24h vor (Test #3) und nach (Test #4) der Saline- bzw. MP-Applikation durchgeführt.

### **1.8 Arbeitshypothese 3 zu Effekten einer chronischen Methylphenidat-Behandlung bei adoleszenten ungestressten und gestressten Degus**

Nach Abschluss Open Field-Tests am PND 45 wurden an den im Standard-OF untersuchten Tieren zusätzlich histologische Untersuchungen durchgeführt, die zur Abschätzung der (potentiell mit den Verhaltensänderungen einhergehenden) Veränderungen der synaptischen Vernetzung von Hirngebieten dienen.

Zu diesem Zweck wurde die seit längerer Zeit in der Arbeitsgruppe etablierte Golgi-Cox Methode angewandt (vgl. z.B. Bock & Braun, 1999a; Bock & Braun, 1999b; Helmeke et al., 2001a). Die mit dieser Methode angefärbten Neuronen konnten daraufhin mittels eines speziellen computergestützten Systems (Neurolucida, MicroBrightField Inc.) mit sehr großer Genauigkeit vollständig dreidimensional rekonstruiert werden.

In der vorliegenden Studie wurde als Untersuchungsgebiet der ACd ausgewählt, da dieser als zur der Steuerung von Aufmerksamkeit und exekutiven Funktionen (Devinsky et al., 1995; Casey et al., 1997; Carter et al., 1999) dient und bei ADHD-Patienten Dysfunktionen zeigt (de Haes et al., 2007).

Beim Degu wurden mittels der Golgi-Cox-Methode bereits die postnatale zelluläre Ausdifferenzierung der Pyramidenzellen des ACd gezeigt, da im heranwachsenden Degu im Vergleich zu Spinedichten und Dendritenlängen am PND 0 (Tag der Geburt) am PND 21 signifikante höhere Spinedichten sowie am PND 45 signifikant höhere Dendritenlängen nachgewiesen wurden (Helmeke, 2003). Diese Ausreifung von Neuronen geschieht in Abhängigkeit der Aktivität ihrer afferenten Verbindungen. Die Ausreifung der Pyramidenzellen des PFC ist daher u.a. stark von der Entwicklung mesopräfrontaler dopaminerger Projektionsfasern aus dem ventralen tegmentalen Areal sowie glutamaterger

Fasern aus dem Thalamus abhängig (s.o., Kalsbeek et al., 1990) und wird so durch funktionelle Änderungen dieser Hirnregionen (wie z.B. durch frühkindlichen Stress, s.o.) beeinflusst.

Diese Wirkung des frühkindlichen Stresses auf die zelluläre Ausdifferenzierung der Pyramidenzellen wurde bereits in mehreren Studien bei einem leicht veränderten Stressdesign gezeigt (Helmeke et al., 2001a; Helmeke et al., 2001b; Poeggel et al., 2003b). In licht- und elektronenmikroskopischen Studien konnte z.B. nachgewiesen werden, dass wiederholter stundenweiser Trennungsstress zu einer signifikanten Verschiebung der Anteile von Schaft- und Spinesynapsen präfrontaler Cortexareale führt (Ovtscharoff, Jr. & Braun, 2001). Golgi-Cox- Untersuchungen im anterioren cingulären Cortex (ACd) zeigten Veränderungen der Spinefrequenz von Pyramidenzellen der Schicht II/ III (Helmeke et al., 2001a; Helmeke et al., 2001b; Poeggel et al., 2003a) an 21- und 45tägigen Tieren.

### **Arbeitshypothese 3:**

- *Eine chronische Behandlung mit MP führt bei ADHD-Patienten zu einer grundlegenden Beeinflussung des dopaminergen Systems (z.B. Erhöhung der DAT-Dichten oder veränderte Rezeptordichten als Gegenregulation zur täglichen DAT-Blockade durch MP).*
- *Aufgrund der Abhängigkeit der synaptischen Vernetzung von neuronaler Aktivität, sollte die chronische Behandlung mit MP damit auch zu Veränderungen der zellulären Ausdifferenzierung von Pyramidenzellen dopaminerg beeinflusster Hirnareale führen.*
- *Eine Behandlung frühkindlich gestresster Degujungtiere mit MP könnte daher die Veränderungen der neuronalen Ausdifferenzierung des PFC durch frühkindlichen Stress beeinflussen.*

### **1.8.1 Histologische Untersuchungen (Golgi-Cox-Methode) zu Effekten einer chronischen Methylphenidat- Behandlung bei adoleszenten, ungestressten und gestressten Tieren**

Mithilfe der Golgi-Cox-Färbungen der MP-behandelten Tiere der vorliegenden Dissertation sollte geklärt werden, ob die durch frühkindlichen Stress ausgelösten strukturellen neuronalen und synaptischen Veränderungen des Präfrontalcortex durch die chronische MP-Behandlung zu beeinflussen sind.

➤ *Wie wirkt sich eine chronische Gabe von Methylphenidat von PND 22 bis PND 45 auf die dendritische Morphologie (Spinefrequenz, Dendritenlänge und-komplexität) von Pyramidenzellen der Schicht II/III des ACd der frühkindlich gestressten und Kontrolltiere am PND 45 aus?*

Zur Beantwortung dieser Fragen werden am PND46, d.h. einen Tag nach den Verhaltenstests #3 und #4 die Gehirne der Tiere der einzelnen untersuchten Gruppen in Golgi-Cox-Lösung eingelegt und später histologisch gefärbt und ausgewertet (vgl. Kapitel 5.6).

## 2 Allgemeiner Methodenteil (Experimentelle Gruppen)

Als Versuchstiere dienten ausschließlich Degujungtiere (*Octodon degus*, Trumped tailed rat), die der Zuchtkolonie des Leibniz Instituts für Neurobiologie, Magdeburg entstammen. Alle Jungtiere wurden in Volieren einer Größe von 51 x 42 x 68cm, in der jeweils eine Zuchtfamilie und dessen Nachwuchs untergebracht waren, geboren und lebten dort im Familienverband mit ihren Eltern bis zum Abschluss des jeweils mit ihnen durchgeführten Versuches. Die Volieren befanden sich in klimatisierten (Durchschnittstemperatur:  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , Luftfeuchtigkeit:  $55 \pm 3\%$ ) und lärmgeschützten Räumen, die nur zur wöchentlichen Reinigung der Volieren oder Durchführung von Versuchen betreten wurden.



Abb. 6: Degufamilie mit Jungtieren in ihrer Voliere, jeweils ausgestattet mit Tonröhren als Unterschlupf, Zellstoff als Nist- und Holzklötzen als Nagematerial

Der tageslichtfreie Raum unterlag einem künstlichen Tag/Nacht-Rhythmus (12h/12h, Lichtphase ab 6 Uhr morgens). Frisches Trinkwasser sowie Ratten-Diätahrung (SSNIFF Spezialdiäten GmbH, Soest, Deutschland) wurden *ad libitum* angeboten.

### 2.1 Geschlecht der Versuchstiere

Für die vorliegende Dissertation wurden nur Würfe verwendet, die unabhängig vom Geschlecht der Jungtiere aus mindestens 2 und maximal 8 Nachkommen bestanden. Aus den für Verhaltensuntersuchungen bestimmten Würfen wurden alle Jungtiere, also Weibchen und Männchen, im OF getestet. Bei den funktionell metabolischen und histologischen Untersuchungen musste aus zeitlichen Gründen und der Fülle der erhobenen Daten auf eine Auswertung der weiblichen Tiere im Rahmen der vorliegenden Dissertation verzichtet werden. Zur Vereinheitlichung der in den einzelnen experimentellen Ansätzen verwendeten experimentellen Gruppen wurde in Absprache mit der Betreuerin dieser Dissertation auf eine



detaillierte Diskussion der erfassten Ergebnisse der OF-Tests der weiblichen Tiere verzichtet. Die entsprechenden Daten sind jedoch im Anhang B einsehbar. Gegenstand der vorliegenden Dissertation sind damit nur die in den Verhaltenstests sowie in den funktionell metabolischen und histologischen Experimenten untersuchten Männchen der einzelnen Würfe.

## 2.2 Aufzuchtgruppen

### 2.2.1 Frühkindlich gestresste Würfe

Wie im Einleitungsteil beschrieben, wurden Jungtiere der vorliegenden Studie einem frühkindlichen Stress, dem wiederholten Trennungstress (ES), ausgesetzt. Jungtiere der frühkindlich gestressten Würfe wurden dazu ab dem Tag 1 nach der Geburt (PND1) bis zum PND 21 täglich für eine Stunde von den Eltern getrennt. Zur Isolation wurden alle Jungtiere eines Wurfes gemeinsam in einem nur für diesen Wurf benutzten Gefäß in einen abgetrennten Raum gebracht, in dem sie einzeln in nebeneinander stehenden undurchsichtigen Isolationskäfigen einer Größe von 39 x 10 x 10 cm separiert wurden. Die Jungtiere hatten während der Stressphase nur akustischen und olfaktorischen Kontakt zu ihren Geschwistern. Nach einer Stunde wurde der gesamte Wurf wieder zu den Eltern zurückgesetzt.

### 2.2.2 Ungestresste Kontrollwürfe

Kontrolltiere (C) verblieben bis zum PND 21 ungestört im Heimkäfig (ungestresste Würfe, „Animal Facility Rearing“, Pryce & Feldon, 2003).

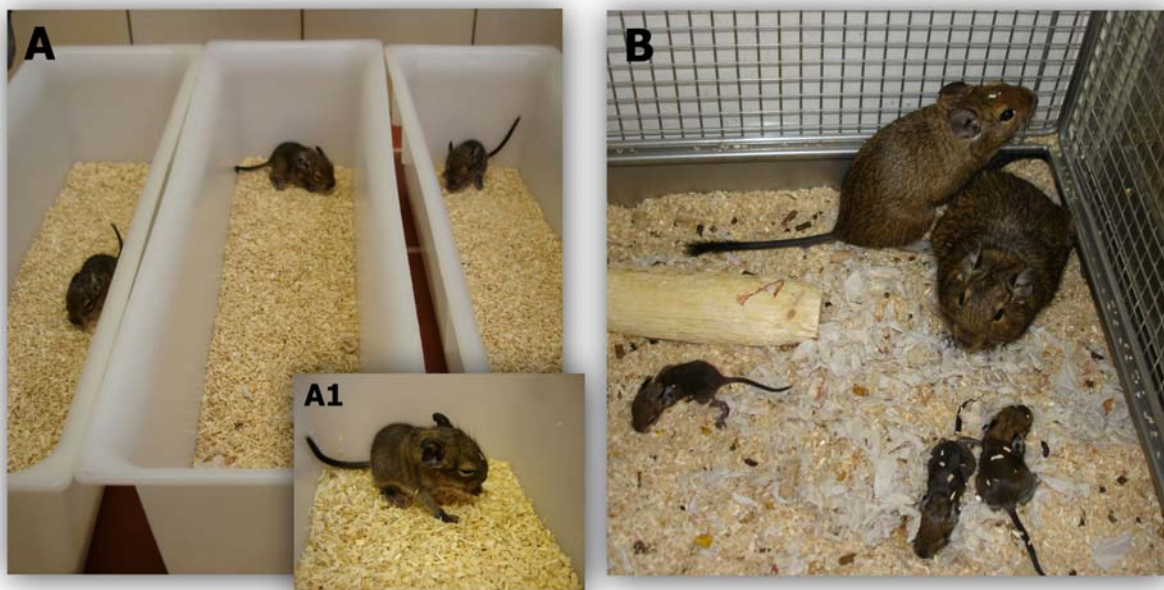


Abb. 7: Aufzuchtgruppen  
(A) Jungtiere eines frühkindlich gestressten Wurfes während der einstündigen Isolation  
(A1) Eintägiges Jungtier während der Isolation, (B) Kontrollwurf

Als Abkürzungen der Aufzuchtgruppen („C“ und „ES“) wurden in der vorliegenden Dissertation (zum Zweck der Vereinheitlichung mit den englischsprachigen Veröffentlichungen der hier beschriebenen Ergebnisse) die englischsprachigen Gruppenbezeichnungen verwendet (frühkindlicher Stress: engl. early stress (ES); Kontrolltiere: engl. control (C)).

### **2.3 Pharmakologische Gruppen**

Zwei MP-Konzentrationen wurden in der vorliegenden Studie auf ihre Wirkung getestet (1 und 5 mg/kg MP). Zusätzlich wurde zur Kontrolle der pharmakologischen Behandlung eine salinebehandelte Gruppe eingeführt.

In der Literatur wird auf starke Dosiseffekte unter dem Einfluss des Applikationsweges bei der Verabreichung von Methylphenidat hingewiesen (Porrino, 1993; Gerasimov et al., 2000). Zur Erreichung klinisch relevanter Plasmakonzentrationen von MP im Tiergehirn wird dabei die orale Applikation bevorzugt (Gerasimov et al., 2000; Arnsten & Dudley, 2005; Wheeler et al., 2006). Diese Studien wurden jedoch an Ratten durchgeführt. Artsspezifische Besonderheiten des Degus, wie die sehr geringe Flüssigkeitsaufnahme, verhindern jedoch die Gabe der Substanz über das Trinkwasser. Da die zu behandelnden Jungtiere während der gesamten Injektionsperiode gemeinsam im Heimkäfig verblieben, wäre bei der Beimischung der pharmakologischen Substanz ins Trinkwasser zudem keine Abschätzung der genauen aufgenommenen Dosis für das Einzeltier möglich.

Es wurden daher eine intraperitoneale (i.p.) Applikation gewählt, die den Dosierungen vergleichbarer Studien in der Literatur entsprechen, in denen ebenfalls die i.p.-Injektionsmethode gewählt wurde. Die Dosisspanne von 1 bis 5mg/kg MP wurde eingesetzt, um die Analyse dosisabhängiger Effekte zu ermöglichen (vgl. Gaytan et al., 1996; Sproson et al., 2001; Bolanos et al., 2003; Heyser et al., 2004).

Zur Vermeidung von sogenannten „Littereffekten“ (Litter, engl. = Wurf) wurden alle Jungtiere eines Wurfs im Anschluss an die Isolationsphase so verteilt, dass möglichst nicht mehr als ein Tier desselben Geschlechts eines Wurfs zu einer der pharmakologischen Behandlungsgruppen zugeordnet wurde. Littereffekte können bei der Verwendung mehrerer Geschwister eines Wurfs in derselben experimentellen Gruppe auftreten. Im Falle einer höheren Familienähnlichkeit als der Ähnlichkeit zu anderen Tieren der gleichen experimentellen Gruppe treten durch die fehlende Unabhängigkeit der Einzeldaten dieser Tiere Verzerrungen im statistischen Vergleich der experimentellen Gruppen auf. Durch die Aufteilung von

Geschwistern auf unterschiedliche experimentelle Gruppen (Split-litter-Design) wurden diese potentiellen Effekte durch die starke Ähnlichkeit von Geschwistertieren oder durch den Einfluss der Eltern minimiert.

Zur Erstellung der körperlsgewichtsbezogenen MP-Lösungen (0.2 ml des in 0.9 % steriler Saline gelösten Methylphenidats (1 oder 5 mg/kg MP, MP: Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) sowie zur Kontrolle des Gesundheitszustandes wurden alle Tiere vom PND 22 bis zum PND 45 alle 4-5 Tage gewogen. Nach dem daraufhin erfolgten Ansetzen der gewichtsbezogenen MP-Lösungen wurde der gesamte Wurf täglich 1x dem Heimkäfig entnommen, in ein nur für diesen Wurf benutztes Gefäß gesetzt und einzeln mit 0.2 ml der entsprechenden Lösungen intraperitoneal injiziert.

## **3 Verhaltensuntersuchungen im Open Field**

### **3.1 Methodenteil (Open Field)**

Zur Untersuchung des Explorationsverhaltens ungestresster und frühkindlich gestresster Degus wurden Open Field-Tests (OF-Tests) unternommen. Diese sind in der Literatur etabliert (Walsh & Cummins, 1976; Hall et al., 2000; Lipkind et al., 2004; Kafkafi & Elmer, 2005; Colorado et al., 2006) und werden standardmäßig in der Arbeitsgruppe auch bei sehr jungen Strauchratten angewendet (vgl. z.B. Ziabreva et al., 2000; Braun et al., 2003).

#### **3.1.1 Versuchsaufbau Open Field-Test**

Alle OF-Tests wurden in einem in unmittelbarer Nähe der Kolonie befindlichen Testlabor durchgeführt. Die Tiere lebten bis zum Abschluss aller Experimente gemeinsam mit den Eltern- und Geschwistertieren im Heimkäfig. Eine Messung der Heimkäfigaktivität war leider nicht möglich, da die spezifischen Eigenschaften des Degus (eine aufgrund des sehr dichten, dunklen Fells schlechte Markierbarkeit der Einzeltiere) unter den vorhandenen Laborbedingungen (optische Erkennung der Einzeltiere durch das verwendete Aufnahmesystem, s.u.) eine sichere Aktivitätsbestimmung der einzelnen unterschiedlich pharmalogisch behandelten Tiere eines Degu-Wurfes verhindern. Die aufgenommenen Daten entsprechen damit im Gegensatz zu Aktivitätsmessungen im Heimkäfig der Reaktion der Tiere auf eine neue und ihnen damit unbekanntere Umgebung, der Testarena (Open Field).

Zur Durchführung des Tests wurden die Tiere einzeln dem Heimkäfig entnommen und in einem Plastikgefäß zur Testarena (Open Field-Größe: 80x80x40cm, undurchsichtiges dunkelgraues Plastik, indirekte Beleuchtung) gebracht (Abb. 8A) und in die Mitte der OF-Arena gesetzt. Im gleichen Moment wurde die fünfminütige Aufnahme gestartet. Alle OF-Tests wurden mit einem Videoanalyse-System aufgenommen, das eine automatische Erfassung verschiedener Verhaltensweisen von Versuchstieren ermöglicht (EthoVision®, NOLDUS, Wageningen, Niederlande, Abb. 8B).

##### **3.1.1.1 Open Field-Tests im Standard-Open Field (Test ohne Tonstimulation)**

Bei der ersten Hälfte der zu testenden Tiere der einzelnen experimentellen Gruppen wurden Open Field-Tests ohne Tonstimulation durchgeführt (Standard-OF). Sie zeigen die Basisreaktivität des Tieres in der OF-Arena ohne zusätzliche Stimulation und dienen damit als Kontrollversuche für die Tonstimulationsexperimente im modifizierten OF (s.u.).

Die NOLDUS EthoVision®-Plots lieferten Daten für die folgenden Parameter:

- Horizontale Exploration: Laufstrecke (in m), die das Tier während des 5 min OF-Tests zurücklegte. Sie ist in Abb. 8B als schwarze Linie im NOLDUS- EthoVision®-Plot dargestellt.
- Zentrumsaktivität: Die Laufaktivität im OF-Zentrum kann als Maß für Ängstlichkeit/Impulsivität herangezogen werden. Hierzu wurde der Zentrumsbereich der OF-Arena mithilfe der NOLDUS EthoVision® - Software virtuell abgeteilt. Für den Zentrumsbereich, der die halbe Fläche des Gesamt-OF bedeckt (OF-Zentrum, vgl. Abb. 8B), wurden Daten zur Laufaktivität ermittelt. Zur Vermeidung von Datenverzerrungen durch unterschiedliche Grundaktivitäten der Tiere wurde das Verhältnis der Laufstrecke im OF-Zentrum zur horizontalen Exploration gebildet (relative Aktivität im OF-Zentrum).

Die folgenden Parameter wurden während des Tests durch den Experimentator aufgenommen. Zusätzlich wurden digitalisierte Videomitschnitte (Broadway Pro®.Data Translation, Inc., Malboro, Ma, USA) der OF-Tests angefertigt.

- Aufrichten: Der Parameter Aufrichten beschreibt die Anzahl vertikaler Explorationsbewegungen (bei denen das Tier die Vorderfüße vom Boden abhebt) im freien OF und entlang der OF-Wände innerhalb des 5 min Tests.
- Putzen: Das Putzverhalten umfasst die Häufigkeit gezeigten Putzverhaltens (Kratzen am Körper mit den Hinterläufen, Putzen des Gesichts mit den Vorderläufen) innerhalb des 5 min Tests.
- Vokalisationen: Degus vokalisieren im Unterschied zu Ratten hauptsächlich im für den Menschen hörbaren Bereich. Daher konnte die Anzahl ausgestoßener Rufe direkt während des Tests durch den Experimentator aufgenommen werden.
- Defäkationen: Am Ende jedes Tests wurde die Anzahl der Defäkationen (Kot) notiert.

Jedes Tier wurde direkt nach dem Test zurück in den Heimkäfig gebracht. Dann wurde die OF-Arena mit 2%iger Essigsäure gereinigt, um eine olfaktorische Beeinflussung der weiteren Testtiere zu vermeiden. Die Tests wurden zwischen 9 und 13 Uhr vormittags, d.h. in der Aktivitätsphase der tagaktiven Degus, durchgeführt.

### 3.1.1.2 Open Field-Tests im modifizierten Open Field (Test mit Tonstimulation)

Zum Test der Reaktivität der gestressten und ungestressten Tiere gegenüber einem emotional positiven Stimulus wurden bei der zweiten Hälfte der zu testenden Tiere (über eine für das Tier nicht sichtbare Lautsprecheranlage hinter einer Ecke der Arenawand) Geschwistertöne (Spiellaute) angeboten.

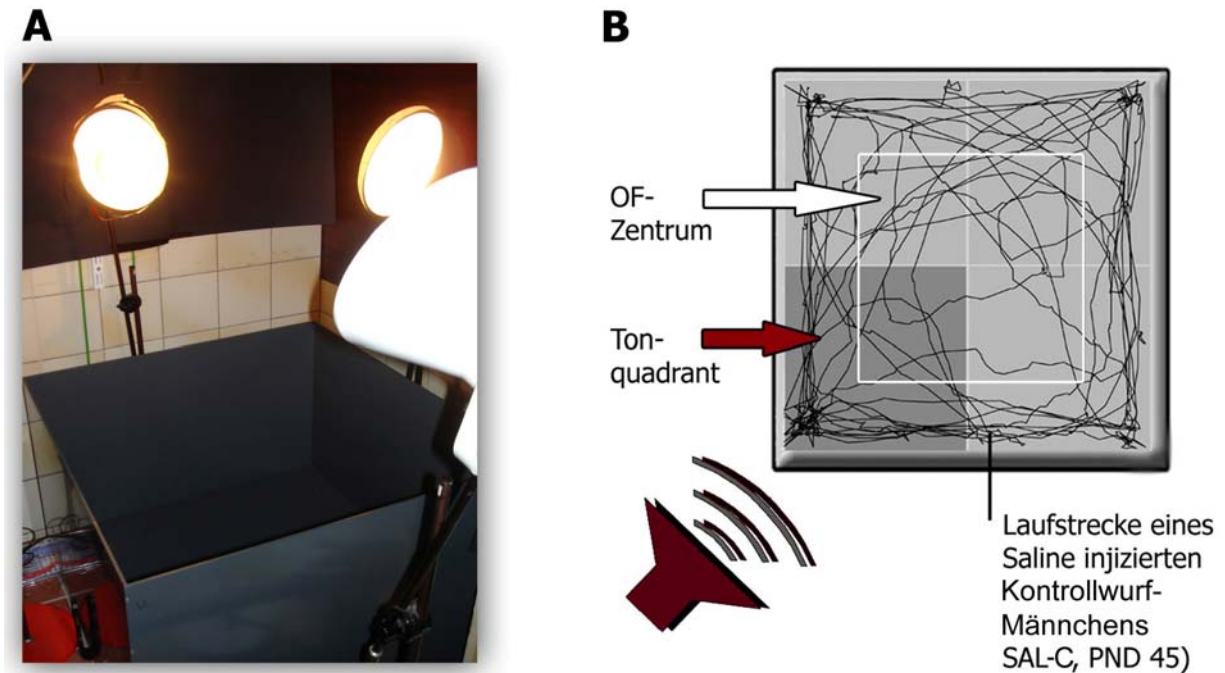


Abb. 8: Open Field-Test  
(A) Open Field Arena im Testlabor, (B) Ethovision-Plot eines OpenField-Tests mit Ton-Stimulation

Die benutzten Tonsequenzen waren vorher in der Kolonie bei spielenden Jungtieren aus Würfen eines vergleichbaren Altersstadiums aufgenommen worden. In allen Tests wurde dieselbe Tonsequenz angeboten, die aus einem 10 Sekunden dauernden Spiellaute, gefolgt von 20 Sekunden Stille bestand und während des 5 min dauernden Tests ständig wiederholt wurde.

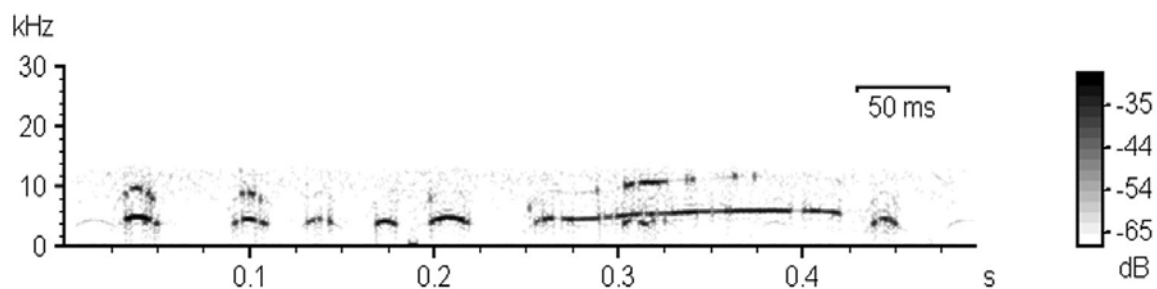


Abb. 9: Sonagramm des im Open Field eingesetzten artspezifischen Geschwistertons

Abb. 9 zeigt das Sonagramm eines Deguspiellauts, der typischerweise bei der Kontaktaufnahme zwischen Jungtieren (z.B. beim gegenseitigen Putzen) ausgestoßen wird und abgesehen von der Tonlage und der Gesamtdauer (2-4kHz, 0.2-0.4s) sehr den Muttertönen bei der Pflege der Jungtiere ähnelt (Braun, 1992). Die Tonfolge besteht typischerweise aus einem frequenzmodulierten wiederholten „Rattern“, das von einem abschließenden Pfiff begleitet und oft mehrmals leicht moduliert wiederholt wird.

Die NOLDUS EthoVision®-Plots lieferten bei den Tests im modifizierten OF (neben den auch im Standard-OF erfassten Parametern, siehe 3.1.1.1) zusätzlich Daten für die Aktivität des getesteten Tieres im Tonquadranten:

- Aufmerksamkeit: Die Reaktivität gegenüber einem emotional positiven Tonstimulus wurde als Maß für Aufmerksamkeit definiert. Hierzu wurde die OF-Arena mithilfe der NOLDUS EthoVision® - Software virtuell in vier Quadranten geteilt. Für den an die Lautsprecherecke angrenzenden Quadranten (Tonquadrant, vgl. Abb. 8B) wurden Daten zur Laufaktivität, Verweildauer und Häufigkeit des Eintritts ermittelt. Zur Vermeidung von Datenverzerrungen durch unterschiedliche Grundaktivitäten der Tiere wurde das Verhältnis der Laufstrecke im Tonquadrant zur horizontalen Exploration gebildet (relative Aktivität im Tonquadrant).

## **3.2 Versuchsaufbau, experimentelle Gruppen und Tierzahl der einzelnen Open Field-Tests**

### **3.2.1 Open Field-Test #1: Untersuchungen zu Effekten des frühkindlichen Trennungsstress**

Der erste OF-Test wurde jeweils am PND 22 durchgeführt, um Verhaltensunterschiede beider Aufzuchtgruppen (frühkindlich gestresst, ungestresst) quantitativ zu erfassen. Es wurden frühkindlich gestresste (ES) und ungestresste (C) Tiere getestet:

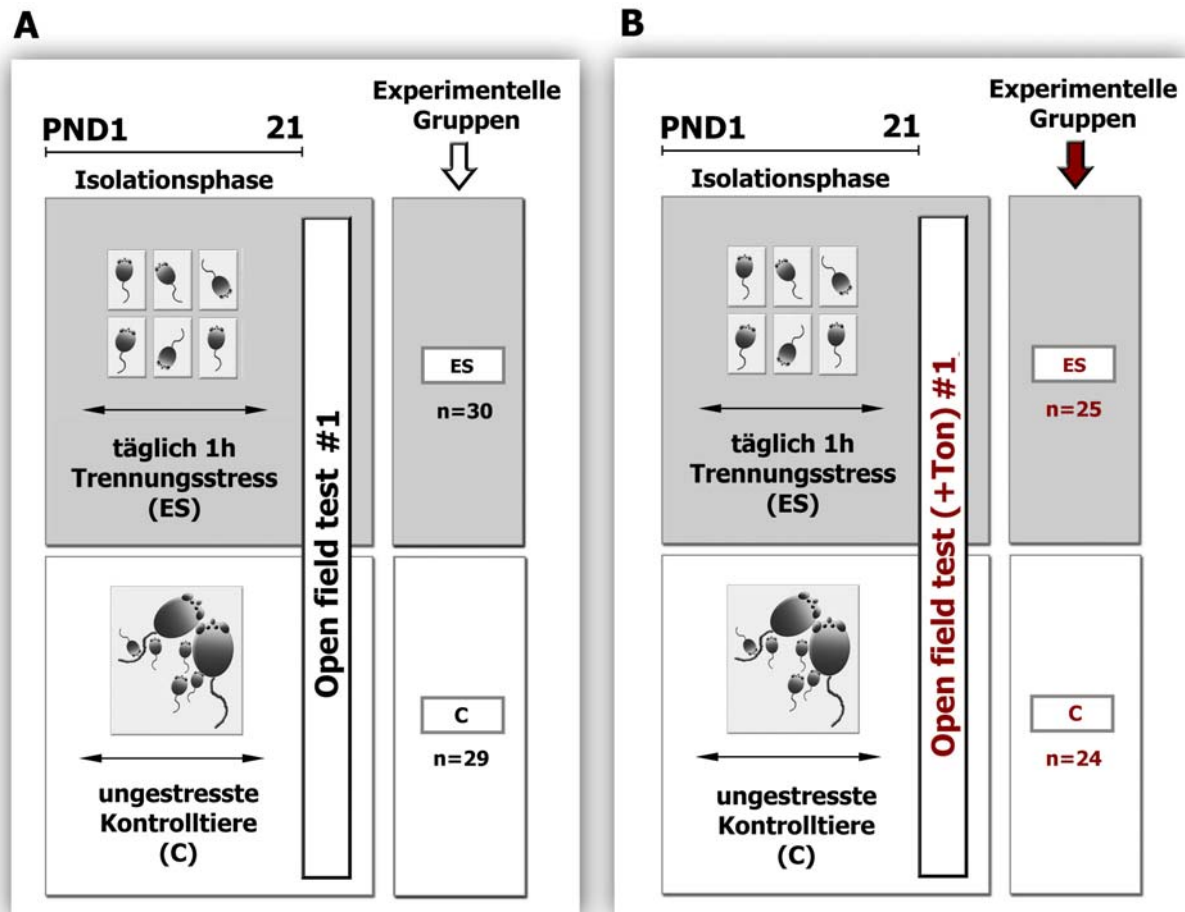


Abb. 10: Open Field-Test #1: Untersuchungen zu Effekten des frühkindlichen Trennungsstresses im (A) Standard-OF (ohne Ton-Stimulation) und (B) modifizierten OF (mit Ton-Stimulation): Versuchsaufbau, experimentelle Gruppen und Tierzahl (n), männliche Tiere (♂)

### 3.2.1.1 Statistik

Die Analyse der Parameter Horizontale Exploration und Zentrumsaktivität wurde mit einem Zwei-Wege-ANOVA (engl. analysis of variance, Varianzanalyse) mit den Faktoren Aufzuchtbedingung (AUFZUCHT) und zeitlicher Verlauf des Tests (ZEIT) durchgeführt (fünf Messungen von jeweils einer Minute Dauer). Für die Parameter Vertikale Exploration, Putzverhalten, Defäkationen und Vokalisationen war eine Aufschlüsselung der Ergebnisse im Hinblick auf den zeitlichen Verlauf nicht möglich, da hier nur Daten für die Gesamtdauer des Testes ermittelt wurden (manuelle Protokollierung). Es wurde daher ein t-Test angewendet. Für die Analyse möglicher Innergruppen-Effekte bei Analysen mittels Zwei-Wege-ANOVA wurde ein Post hoc-Tukey-Test durchgeführt. Für alle Analysen wurde  $p < 0.05$  als Signifikanzschwelle definiert (SigmaStat 3.5, Jandel, Deutschland).



### 3.2.2 Open Field-Test #2 - #4: Untersuchungen zu Effekten der MP-Behandlung

#### 3.2.2.1 Open Field-Test #2: Untersuchungen zur akuten MP-Wirkung auf ungestresste und gestresste Tiere im modifizierten und Standard-OF

Mit dem vorliegenden Test soll geklärt werden, wie sich eine akute Gabe von Methylphenidat auf das Verhalten der frühkindlich gestressten Degujungtiere im Vergleich zu ungestresst aufgewachsenen Kontrolltieren auswirkt. Die im Test verwendeten Tiere wurden hierzu 45 min vor Test #2 (direkt im Anschluss an Test #1) mit der für sie vorgesehenen Dosis von 1 oder 5mg/kg MP bzw. Saline injiziert.

#### 3.2.2.2 Open Field-Test #3 + #4: Untersuchungen zur chronischen MP-Wirkung auf ungestresste und gestresste Tiere im modifizierten und Standard-OF

Wie in 2.3 ausführlicher beschrieben, wurden die Tiere der einzelnen Aufzucht- und Pharmakologiegruppen vom PND 22 bis 44 täglich mit der entsprechenden SAL- bzw. MP-Dosis i.p.- injiziert und am PND 45 vor, d.h. ohne akute Wirkung der pharmakologischen Substanz (Test #3), und nach der letzten Injektion, d.h. unter der akuten Wirkung der pharmakologischen Substanz (Test #4) im OF getestet.

Tabelle 1: Open Field-Test #2-4 (Standard-OF) – Experimentelle Gruppen, Tierzahl ♂

Aufzucht- bedingung	Pharmakologische Behandlung	Gruppen- bezeichnung	Anzahl Tiere (n)	Anzahl Würfe
frühkindlicher Trennungsstress (ES)	Saline	SAL-ES	11	10
	1 mg/kg MP	MP1-ES	9	9
	5 mg/kg MP	MP5-ES	10	8
ungestresste Kontrollen (C)	Saline	SAL-C	13	10
	1 mg/kg MP	MP1-C	8	8
	5 mg/kg MP	MP5-C	8	8

Tabelle 2: Open Field-Test #2-4 (modifiziertes OF)– Experimentelle Gruppen, Tierzahl ♂

Aufzucht- bedingung	Pharmakologische Behandlung	Gruppen- bezeichnung	Anzahl Tiere (n)	Anzahl Würfe
frühkindlicher Trennungsstress (ES)	Saline	SAL-ES	8	8
	1 mg/kg MP	MP1-ES	9	9
	5 mg/kg MP	MP5-ES	8	8
ungestresste Kontrollen (C)	Saline	SAL-C	8	8
	1 mg/kg MP	MP1-C	8	7
	5 mg/kg MP	MP5-C	8	7

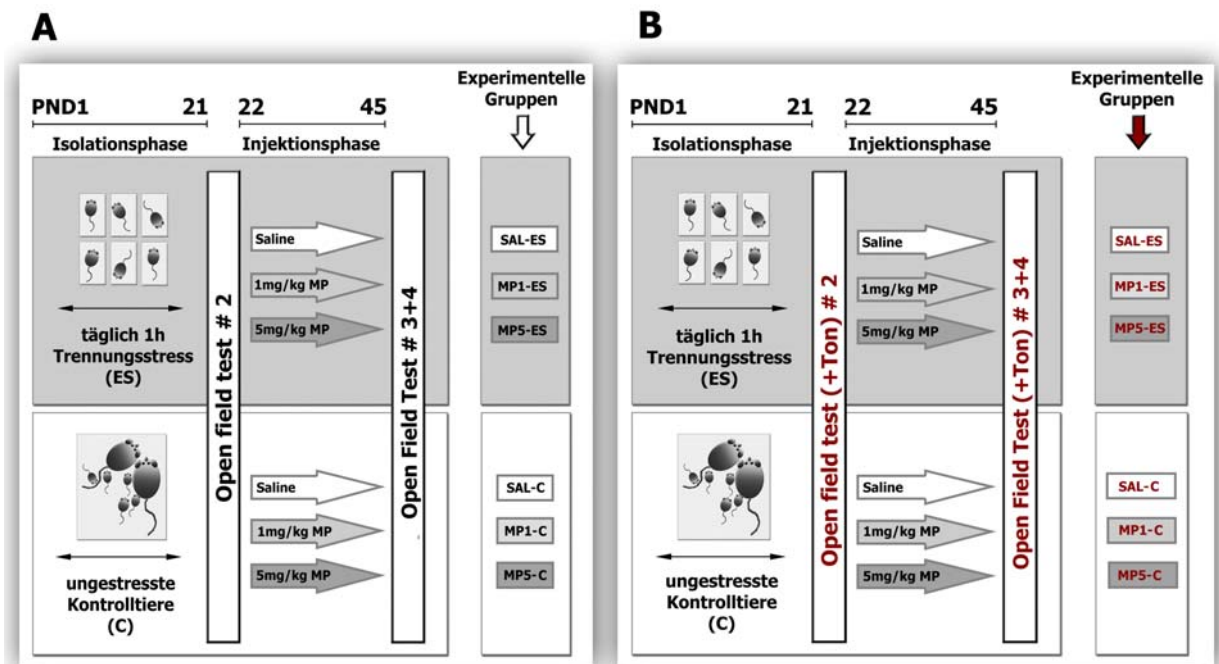


Abb. 11: Verhaltensexperiment #2-4 zu Effekten akuter und chronischer MP-Behandlung im (A) Standard - Open Field (ohne Ton-Stimulation) und (B) modifizierten Open Field (mit Ton-Stimulation): Versuchsaufbau und experimentelle Gruppen ♂

### 3.2.2.3 Statistik

Die 6 pharmakologischen Gruppen (3 ungestresst und 3 frühkindlich gestresst) bestanden jeweils aus 7-10 männlichen Tieren.

Die Analyse der Ergebnisse des Verhaltens der experimentellen Gruppen für die Parameter Horizontale Exploration und Zentrumsaktivität wurde mit einem 3Wege-ANOVA über die Faktoren Aufzuchtbedingung (AUFZUCHT), pharmakologische Behandlung (PHARM) und zeitlicher Verlauf des Testes (ZEIT) durchgeführt. Für die Parameter Vertikale Exploration, Putzverhalten, Defäkationen und Vokalisationen wurde, wie schon bei Test #1, auch in Test #2- #4 eine Aufschlüsselung der Ergebnisse im Hinblick auf den zeitlichen Verlauf aufgrund der manuellen Datenaufnahme nicht möglich (siehe 3.2.1.1). Es wurde daher ein Zwei-Wege-ANOVA mit den Faktoren (AUFZUCHT) x (PHARM) angewendet. Für die Analyse möglicher Innergruppen-Effekte wurde bei allen Tests ein Post hoc-Tukey - Test durchgeführt. Für alle Analysen wurde  $p < 0.05$  als Signifikanzschwelle definiert (SigmaStat 3.5, Jandel, Deutschland).

### 3.3 Ergebnisse der Verhaltensuntersuchungen im Open Field

#### 3.3.1 Effekte des frühkindlichen Trennungstresses : OF-Test #1 (PND 22)

##### 3.3.1.1 Standard - Open Field (ohne Ton-Stimulation):

Die Analyse der OF-Daten für den Parameter Laufstrecke mittels eines Zwei-Wege-ANOVA (AUFZUCHT x ZEIT) ergab signifikante Haupteffekte der Faktoren AUFZUCHT und ZEIT. Die frühkindlich gestressten Jungtiere zeigten gegenüber den ungestresst aufgezogenen Kontrolltieren eine erhöhte horizontale Exploration (+18.2%,  $F= 7.954$ ,  $p=0.005$ ). In beiden Gruppen ergab sich eine signifikante Abnahme der motorischen Aktivität im Verlauf des fünfminütigen Tests. ( $F= 10.105$ ,  $p<0.001$ ). Signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x ZEIT ergaben sich nicht. (Abb. 12 A,C).

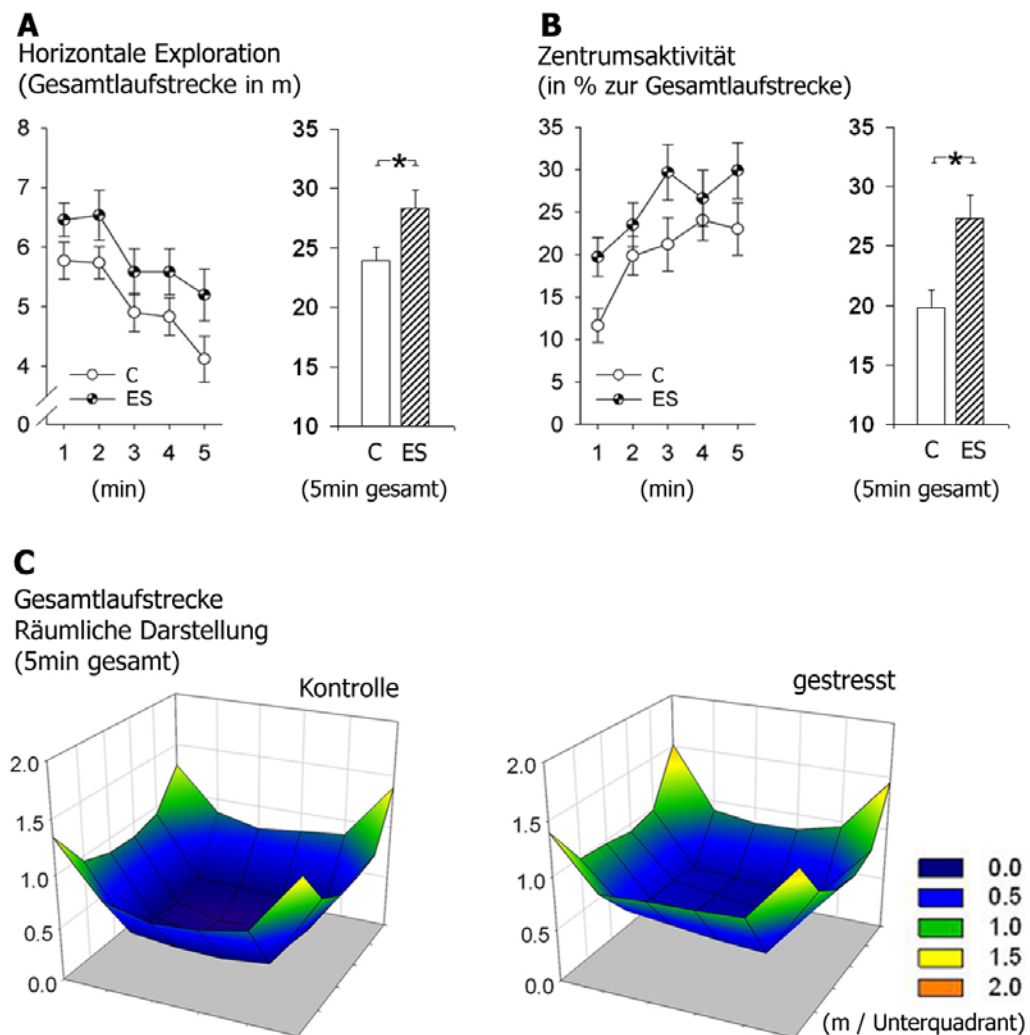


Abb. 12: Open Field-Test #1(PND 22) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I) ♂  
 Effekte des frühkindlichen Stresses auf: (A) Laufstrecke (B) Zentrums-Aktivität (Mittelwerte  $\pm$  Std.F, \*  $p < 0.05$ , t-Test).  
 (C) Räumliche Verteilung der Laufaktivität in der OF-Arena: Die mittlere Laufaktivität je Unterquadrant (z-Achse) wurde über dem entsprechenden Gitterpunkt des zweidimensionalen Messpunkt-Gitters aufgetragen (x/y Achsen). Das OF wurde dazu in 6x6 Unterquadranten unterteilt, die jeweils einen Gitterpunkt ergeben.

Bei der Analyse der Daten der Zentrumsaktivität mittels eines Zwei-Wege-ANOVA (AUFZUCHT x ZEIT) waren ebenfalls signifikante Haupteffekte der Faktoren AUFZUCHT und ZEIT zu verzeichnen. Die frühkindlich gestressten Jungtiere zeigten eine gegenüber den ungestresst aufgezogenen Kontrolltieren erhöhte Laufaktivität im OF-Zentrum (+37.8%,  $F=11.634$ ,  $p<0.001$ ). Beide Gruppen wiesen einen signifikanten Anstieg der Zentrumsexploration im Verlauf der fünfminütigen Tests auf ( $F=5.506$ ,  $p=0.001$ ), signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x ZEIT fehlten hingegen (Abb. 12 B,C).

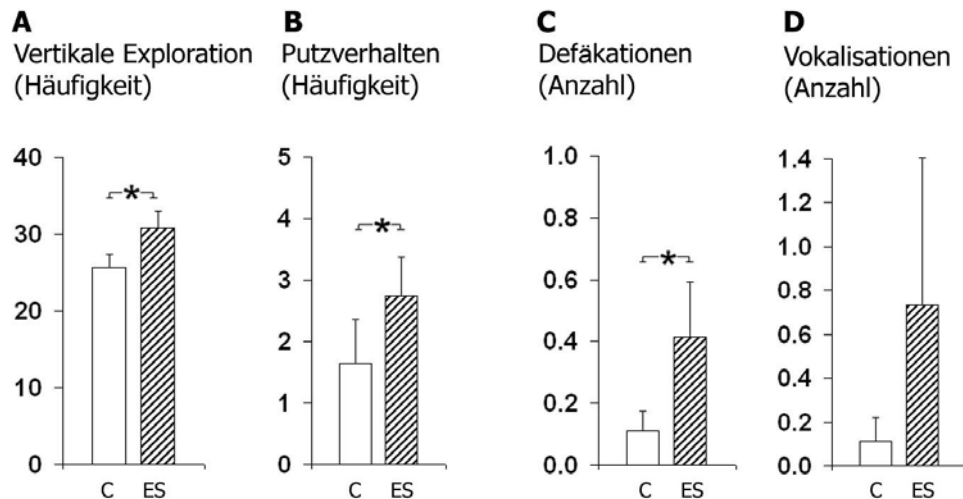


Abb. 13: Open Field-Test #1 (PND 22) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II) ♂  
Effekte des frühkindlichen Stresses auf (A) Vertikale Exploration, (B) Putzverhalten, (C) Defäkationen (D) Vokalisationen

Bei den frühkindlich gestressten Tieren waren zudem signifikant vermehrte vertikale Explorationen (+11.7%,  $P=0.011$ ), ein häufigeres Putzverhalten (+23.6%,  $P=0.014$ ) sowie vermehrte Defäkationen (+190.0%,  $p=0.033$ ) zu verzeichnen. Die Anzahl an Vokalisationen unterschied sich jedoch nicht signifikant zwischen beiden Gruppen.

- 
- *Frühkindlicher Stress führt im Standard-OF-Test #1 am PND 22 zu Hyperaktivität, erhöhter Zentrumsaktivität, vermehrter vertikaler Exploration, häufigerem Putzverhalten sowie vermehrter Defäkation. Die Anzahl an Vokalisationen unterschied sich nicht signifikant zwischen beiden Gruppen.*
-

### 3.3.1.2 Modifiziertes Open Field (mit Ton-Stimulation):

Die Analyse der OF-Daten für den Parameter Laufstrecke mittels eines Zwei-Wege-ANOVA (AUFZUCHT x ZEIT) ergab signifikante Haupteffekte der Faktoren AUFZUCHT und ZEIT. Die frühkindlich gestressten Jungtiere zeigten eine gegenüber den ungestresst aufgezogenen Kontrolltieren erhöhte horizontale Exploration (+18.2%,  $F= 43.635$ ,  $p<0.001$ ). Beide Gruppen wiesen eine signifikante Abnahme der motorischen Aktivität im Verlauf der 5-minütigen Tests auf ( $F= 10.328$ ,  $p<0.001$ ). Signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x ZEIT ergaben sich hingegen nicht. (Abb. 14 A,C).

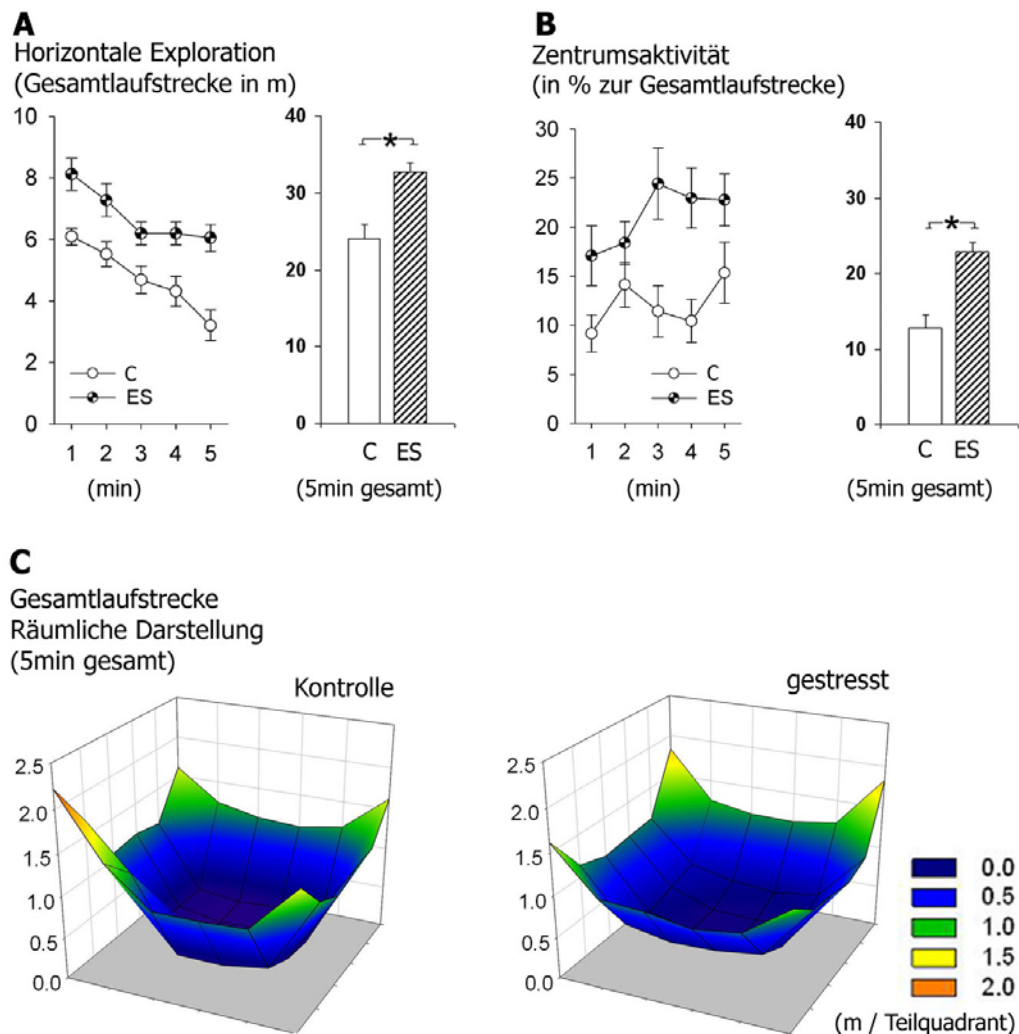


Abb. 14: Open Field-Test #1 (PND 22) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I) ♂  
 Effekte des frühkindlichen Stresses auf (A) Laufstrecke, (B) Zentrums-Aktivität, (Mittelwerte  $\pm$  Std.F, Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p<0.05$ : \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test)  
 (C) Räumliche Verteilung der Laufaktivität in der OF-Arena



Die Analyse der Daten der Zentrumsaktivität mittels eines Zwei-Wege-ANOVA (AUFZUCHT x ZEIT) ergab ebenfalls einen signifikanten Haupteffekt des Faktors AUFZUCHT. Die frühkindlich gestressten Jungtiere zeigten eine gegenüber den ungestresst aufgezogenen Kontrolltieren erhöhte Laufaktivität im OF-Zentrum (+37.8%,  $F= 24.246$ ,  $p<0.001$ ). Signifikante Effekte des Faktors ZEIT bzw. Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x ZEIT wurden nicht festgestellt (Abb. 14 B,C).

Frühkindlich gestresste Tiere zeigten vermehrte vertikale Explorationsbewegungen (+32.1%,  $p=0.042$ , Abb. 15A), häufigeres Putzverhalten (+681%,  $p<0.001$ , Abb. 15B) sowie höhere Defäkationsraten (+79.2%,  $p<0.001$ , Abb. 15C). Die Anzahl an Vokalisationen unterschied sich hingegen nicht signifikant zwischen beiden Gruppen (Daten nicht dargestellt).

Die prozentuale Laufstrecke der frühkindlich gestressten Tiere im Tonquadrant (Laufstrecke im Tonquadrant/Horizontale Exploration) war signifikant reduziert (-21.2%,  $p=0.03$ , Abb. 15D), dazu kam eine im Vergleich zu den Kontrolltieren verringerte Verweildauer im Tonquadrant (-20.4%,  $p=0.016$ , Abb. 15E). Da die frühkindlich gestressten Tiere den Tonquadranten nicht signifikant öfter betraten (Anzahl Eintritte, +10.9%,  $p=0.891$ , Abb. 15F), kann geschlossen werden, dass die ungestressten Kontrolltiere wesentlich länger im Tonquadrant verweilten als die frühkindlich gestressten Tiere.

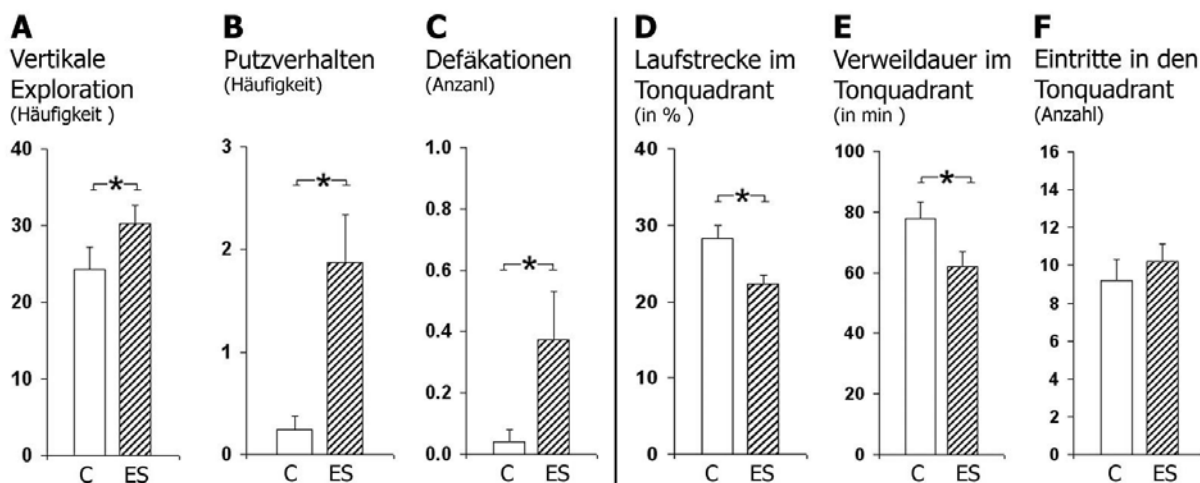


Abb. 15: Open Field-Test #1 (PND 22) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II + Tonquadrant-Aktivität) ♂  
 Effekte des frühkindlichen Stresses auf (A) Vertikale Exploration, (B) Putzverhalten, (C) Defäkationen (D) Laufstrecke (E) Verweildauer im und (F) Eintritte in den Tonquadrant (Mittelwerte  $\pm$  Std.F, \*  $p < 0.05$ , t-Test).



Die vorliegenden Daten bestätigen damit im Prinzip die in Braun et. al, 2003 publizierten Daten für 8 Tage alte Degus nun für 22tägige Jungtiere, auch wenn einige methodische Unterschiede zwischen beiden Studien (verändertes Open Field, veränderte Tonstimulation) bestehen.

- *Frühkindlich gestresste Tiere zeigten im Vergleich zu den Kontrolltieren eine verminderte Reaktivität auf artspezifische Vokalisationen (Spiellaute gleichaltriger Tiere).*
  - *Auch im modifizierten OF am PND 22 wurden als Folge des frühkindlichen Stresses Hyperaktivität, erhöhte Zentrumsaktivität, vermehrte vertikale Exploration und häufigeres Putzverhalten sowie höhere Defäkationsraten nachgewiesen.*
-

### 3.3.2 Effekte einer akuten Methylphenidat-Injektion nach frühkindlichem Trennungstress: Open Field-Test #2 (PND 22)

#### 3.3.2.1 Standard - Open Field (ohne Ton-Stimulation)

Die Analyse der OF-Daten für den Parameter Laufstrecke mittels eines 3Wege-ANOVA (AUFZUCHT x PHARM x ZEIT) ergab signifikante Haupteffekte der Faktoren AUFZUCHT ( $F=7.107$ ,  $p=0.004$ ), PHARM ( $F=77.226$ ,  $p<0.001$ ) und ZEIT ( $F=5.305$ ,  $p<0.001$ ) sowie signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x PHARM ( $F=7.674$ ,  $p<0.001$ ). Signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x ZEIT, PHARM x ZEIT und AUFZUCHT x PHARM x ZEIT waren nicht zu verzeichnen.

Bei der Analyse der OF-Daten der Zentrumsaktivität mittels eines 3Wege-ANOVA (Aufzucht x PHARM x ZEIT) wurden ebenfalls signifikante Haupteffekte der Faktoren AUFZUCHT ( $F=12.849$ ,  $p<0.001$ ) und PHARM ( $F=37.038$ ,  $p<0.001$ ), sowie signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x PHARM ( $F=6.915$ ,  $p=0.001$ ) ermittelt. Signifikante Effekte des Faktors ZEIT sowie Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x ZEIT, PHARM x ZEIT und AUFZUCHT x PHARM x ZEIT wurden hingegen nicht nachgewiesen.

Horizontale Exploration: In den Kontrollgruppen führte die MP-Injektion zu einem dosisabhängigen Anstieg der Laufaktivität im Vergleich zu den mit Saline behandelten Tieren (MP1: +66.0%,  $q=14.0947$ ,  $p<0.001$ ; MP5: +156.3%,  $q=13.004$ ,  $p<0.001$ ). In den frühkindlich gestressten Gruppen zeigten mit 1 mg/kg MP behandelte Tiere niedrigere (-16.1%,  $q=3.38$ ,  $p<0.044$ ), mit 5 mg/kg MP hingegen höhere (+52.0%,  $q=4.986$ ,  $p<0.001$ ) Laufaktivitäten als die mit Saline behandelten Tiere.

Innerhalb der mit Saline behandelten Gruppen wiesen frühkindlich gestresste Tiere im Vergleich zu Kontrolltieren hyperaktives Verhalten auf (erhöhte Laufaktivität: +33.1%,  $q=5.64$ ,  $p<0.001$ ). Innerhalb der mit 1mg/kg MP behandelten Gruppen war hingegen eine signifikant geringere Laufaktivität der frühkindlich gestressten Tiere im Vergleich zu den Kontrolltieren zu verzeichnen (-33.2%,  $q=12.38$ ,  $p<0.001$ ). Obwohl auch die mit 5mg/kg MP behandelten frühkindlich gestressten Tiere eine signifikant niedrigere Laufaktivität als die mit 5mg/kg MP behandelten Kontrolltiere (-21.6%,  $q=9.007$ ,  $p<0.001$ ) zeigten, führte nur die akute Behandlung frühkindlich gestressten Tiere mit 1 mg/kg MP zu einer Reduktion ihrer Laufaktivität auf das Niveau der salinebehandelten Kontrolltiere (Abb. 16A,C).



**Zentrumsaktivität:** Bei den MP-behandelten Kontrolltieren ergab sich ein dosisabhängiger Anstieg der Zentrumsaktivität (SAL < MP1 < MP5) im Vergleich zu den salinebehandelten ungestressten Kontrolltieren (MP1: +57.3%,  $q=9.811$ ,  $p<0.001$ ; MP5: +80.0%,  $q=5.500$ ,  $p<0.001$ ).

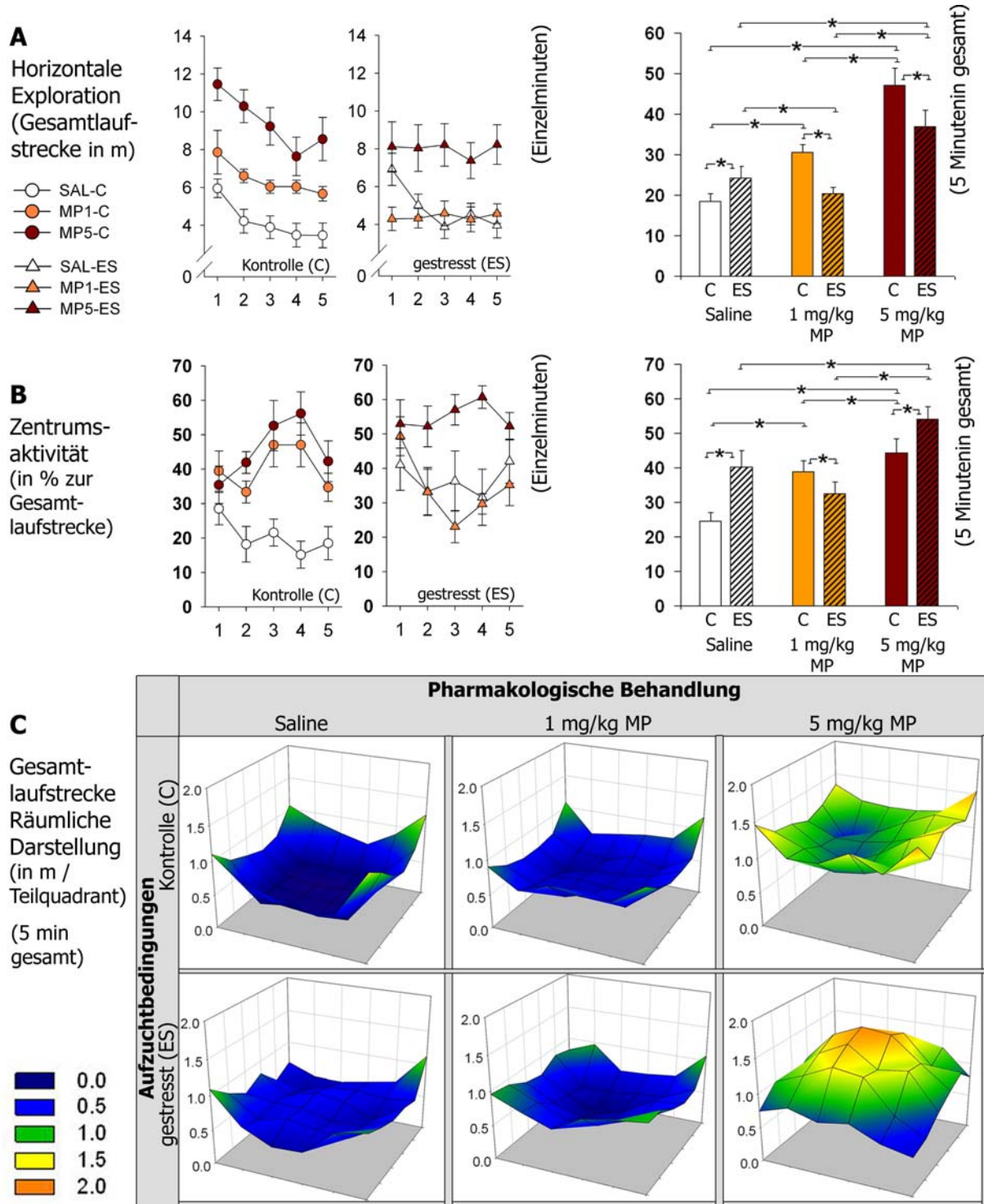


Abb. 16: Open Field-Test #2 (PND 22) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I) ♂  
 Effekte der akuten MP-Behandlung auf (A) Laufstrecke, (B) Zentrums-Aktivität, (Mittelwerte  $\pm$  Std.F, Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p<0.05$ : \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test)  
 (C) Räumliche Verteilung der Laufaktivität in der OF-Arena

Die frühkindlich gestressten Tiere wiesen nach einer Behandlung mit 5 mg/kg MP höhere Zentrumsaktivitäten (SAL~MP1<MP5) auf als die frühkindlich gestressten mit Saline behandelten Tiere (+34.4%,  $q=6.695$ ,  $p<0.001$ ) und MP1-behandelten Tiere (+66.2%,  $q=7.237$ ,  $p<0.001$ ). Die Zentrumsaktivität der frühkindlich gestressten Tiere wurde weder mit der 1mg/kg noch mit der 5 mg/kg MP Dosis auf das Niveau der salinebehandelten Kontrolltiere normalisiert (Abb. 16B,C).

- *Akute Gabe von Methylphenidat in geringer Dosis (1 mg/kg MP) führt unter den gegebenen experimentellen Bedingungen bei Jungtieren mit frühkindlicher Stresserfahrung zu einer Verminderung der Hyperaktivität. Die Behandlung ungestresster Jungtiere mit der gleichen Dosis führt hingegen zu einem gegenteiligen Effekt, d.h. einer Erhöhung der motorischen Aktivität.*
- *Eine Normalisierung der Zenrumsaktivität der frühkindlich gestressten Tiere erfolgte bei gleicher Dosis jedoch nicht.*

Für den Parameter vertikale Exploration ergaben sich nur signifikante Haupteffekte des Faktors PHARM ( $F=6.023$ ,  $p=0.004$ ). Es zeigte sich hier ein von den Aufzuchtbedingungen unabhängiger, aber dosisabhängiger Effekt der MP-Behandlung auf die vertikale Exploration, da bei den mit 5mg/kg MP behandelten Gruppen signifikant weniger vertikale Explorationsbewegungen festzustellen waren, als bei den mit 1mg/kg MP behandelten Gruppen ( $-60.3\%$ ,  $F=4.908$ ,  $p=0.003$ , Abb. 17A).

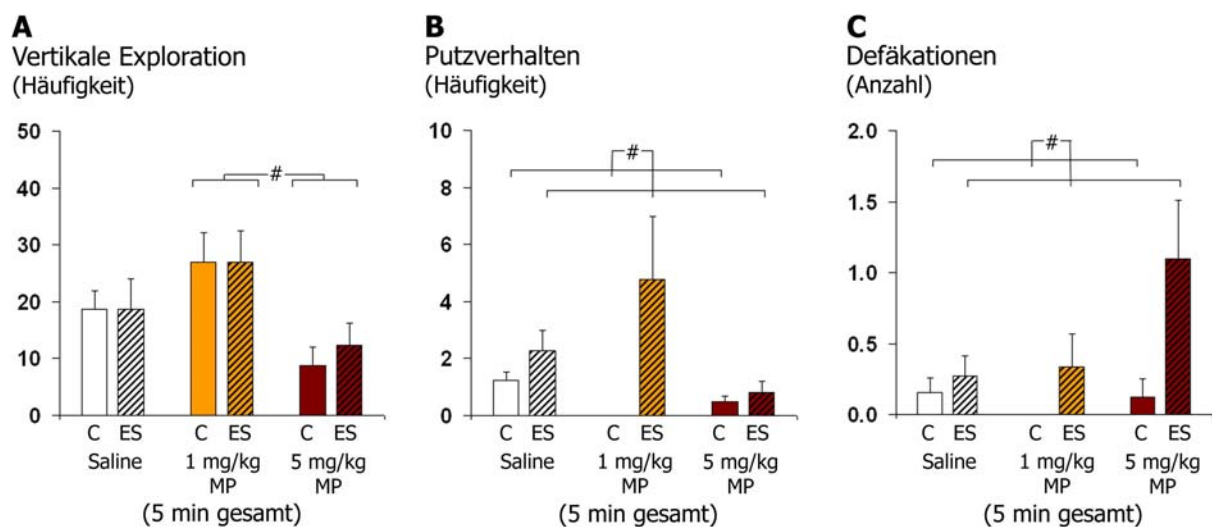


Abb. 17: Open Field-Test #2 (PND 22) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II) ♂  
Effekte der akuten MP-Behandlung auf (A) Vertikale Exploration, (B) Putzverhalten, (C) Defäkationen (Mittelwerte  $\pm$  Std.F;  
Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p<0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte, Post hoc Tukey-Test)

Für die Parameter Putzverhalten und Defäkationen ergaben sich nur signifikante Haupteffekte des Faktors AUFZUCHT. Frühkindlich gestresste Tiere zeigten vermehrtes Putzverhalten (+267.3%,  $F=7.244$ ,  $p=0.009$ , Abb. 17B) und höhere Defäkationsraten (+447.8%,  $F=7.258$ ,  $p=0.009$ , Abb. 17C). Für den Parameter Vokalisationen ergaben sich keine signifikanten Gruppenunterschiede (Daten nicht dargestellt).

### 3.3.2.2 Modifiziertes Open Field (mit Ton-Stimulation)

Bei der Analyse der OF-Daten für den Parameter Laufstrecke mittels eines 3Wege-ANOVA (Aufzucht x PHARM x ZEIT) wurden signifikante Haupteffekte der Faktoren AUFZUCHT ( $F=6.897$ ,  $p=0.009$ ) und PHARM ( $F=22.38$ ,  $p<0.001$ ) sowie signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x PHARM ( $F=3.316$ ,  $p=0.047$ ) ermittelt. Signifikante Haupteffekte des Faktors ZEIT sowie Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x ZEIT, PHARM x ZEIT und AUFZUCHT x PHARM x ZEIT fehlten hingegen.

Auch im modifizierten OF zeigten salinebehandelte, frühkindlich gestresste Tiere im Vergleich zu salinebehandelten Kontrolltieren signifikant erhöhte Laufaktivitäten (+50.7%,  $q=2.879$ ,  $p=0.048$ ). Eine Behandlung der frühkindlich gestressten Tiere mit 1mg/kg MP führte zu einer Angleichung der Laufaktivität an die mit Saline bzw. 1mg/kg MP behandelten Kontrollgruppen.

Zusätzlich zeigten die mit 5mg/kg MP behandelten frühkindlich gestressten Tiere im Gegensatz zu den Ergebnissen im Standard-OF eine signifikant höhere Laufaktivität als die mit 5mg/kg MP behandelten Kontrolltiere (+32.6%,  $q=3.432$ ,  $p=0.015$ ). Innerhalb der Kontroll- und frühkindlich gestressten Gruppen wiesen die mit 5mg/kg MP behandelten Tiere eine gegenüber den salinebehandelten Gruppen (ungestresst: +99.0%,  $q=5.232$ ,  $p<0.001$ , gestresst: +75.1%,  $q=5.985$ ,  $p<0.001$ ) und mit 1 mg/kg MP behandelten Gruppen (ungestresst: +74.2%,  $q=4.407$ ,  $p=0.002$ , gestresst: +116.8%,  $q=7.517$ ,  $p<0.001$ ) eine signifikant erhöhte Laufstrecke auf (Abb. 18A,C).

Bei der Analyse der OF-Daten zur Zentrumsaktivität mittels eines 3Wege-ANOVA (Aufzucht x PHARM x ZEIT) wurden nur signifikante Haupteffekte des Faktors AUFZUCHT ( $F=7.858$ ,  $p=0.006$ ) ermittelt. Signifikante Effekte der Faktoren PHARM und ZEIT sowie Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x PHARM, AUFZUCHT x ZEIT, PHARM x ZEIT und AUFZUCHT x PHARM x ZEIT ergaben sich nicht. Unabhängig von der pharmakologischen Behandlung bewegten sich frühkindlich gestresste Tiere durchschnittlich 43.3% mehr im OF-Zentrum als die Kontrolltiere (Abb. 18B,C).

- Akute Gabe von 1 mg/kg MP Dosis führt im modifizierten OF bei Jungtieren mit frühkindlicher Stresserfahrung nicht zu einer Verminderung der Hyperaktivität.
- Unabhängig von der Art der akuten pharmakologischen Behandlung zeigen frühkindlich gestresste Tiere mehr Zentrumsaktivität als die Kontrolltiere.

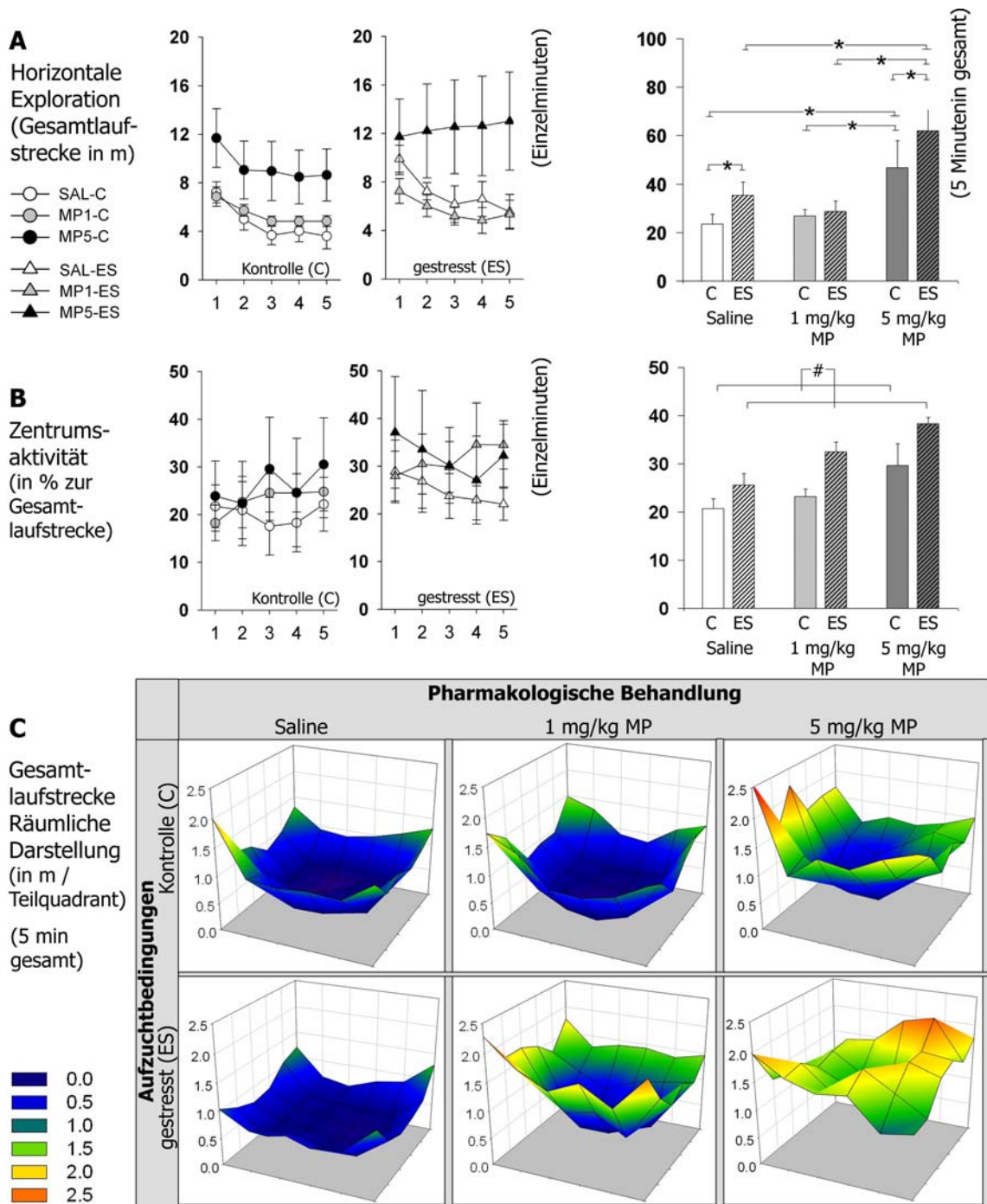


Abb. 18: Open Field-Test #2 (PND 22) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I) ♂  
 Effekte der akuten MP-Behandlung auf (A) Laufstrecke, (B) Zentrums-Aktivität  
 (Mittelwerte ± Std.F, Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test) (C) Räumliche Verteilung der Laufaktivität in der OF-Arena



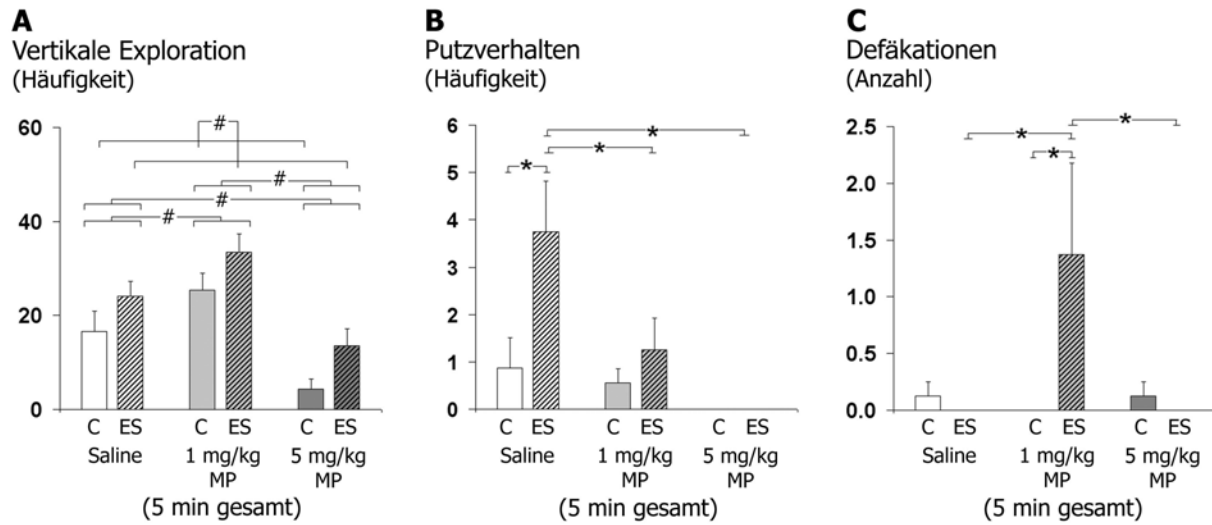


Abb. 19: Open Field-Test #2 (PND 22) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II) ♂  
 Effekte der akuten MP-Behandlung auf (A) Vertikale Exploration, (B) Putzverhalten, (C) Defäkationen  
 (Mittelwerte  $\pm$  Std.F; Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte, bzw. \* für Hauptfaktor-  
 Interaktionen, Post hoc Tukey test)



Für den Parameter vertikale Exploration wurden jeweils signifikante Haupteffekte der Faktoren AUFZUCHT ( $F=8.476$ ,  $p=0.006$ ) und PHARM ( $F=17.520$ ,  $p<0.001$ ) ermittelt. Es ergab sich somit einerseits ein von den Aufzuchtbedingungen unabhängiger, umgekehrt u-förmiger, dosisabhängiger Effekt der MP-Behandlung auf die vertikale Exploration, da die mit 5mg/kg MP behandelten Gruppen signifikant weniger vertikale Explorationsbewegungen zeigten, als die mit 1mg/kg MP ( $-69.5\%$ ,  $q=8.363$ ,  $p<0.001$ ) oder salinebehandelten Gruppen ( $-55.8\%$ ,  $q=4.582$ ,  $p=0.007$ ). Die mit 1mg/kg MP behandelten Tiere explorierten wiederum signifikant mehr als die salinebehandelten Tiere ( $+44.6\%$ ,  $q=3.716$ ,  $p=0.031$ , Abb. 19A).

Für den Parameter Putzverhalten ergaben sich jeweils signifikante Haupteffekte der Faktoren AUFZUCHT ( $F=6.302$ ,  $p=0.016$ ) und PHARM ( $F=7.918$ ,  $p=0.001$ ) sowie signifikante Interaktionen der beiden Faktoren ( $F=3.288$ ,  $p=0.047$ ). Innerhalb der salinebehandelten Gruppen zeigten frühkindlich gestresste Tiere häufigeres Putzverhalten als die Kontrolltiere. Gestresste und ungestresste MP1- bzw. MP5- behandelte Gruppen gleicher MP-Dosis unterschieden sich dagegen nicht. Innerhalb der frühkindlich gestressten Gruppen wiesen MP1- ( $-36.5\%$ ,  $q=4.267$ ,  $p=0.012$ ) und MP5- ( $-100\%$ ,  $q=6.400$ ,  $p<0.001$ ) behandelte Tiere signifikant weniger Putzverhalten auf als salinebehandelte Tiere (Abb. 19B).

Für den Parameter Defäkation wurden signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT und PHARM ( $F=3.349$ ,  $p=0.045$ ) ermittelt. Haupteffekte der Einzelfaktoren zeigten sich nicht.



Da innerhalb der frühkindlich gestressten Gruppen nur MP1- behandelte Tiere Defäkationen zeigten, waren diese bei MP1-behandelten Tieren signifikant häufiger als bei SAL- ( $q=4.106$ ,  $p=0.016$ ) und MP5- behandelten Tieren ( $q=4.106$ ,  $p=0.016$ ), aber auch als bei mit MP1-behandelten Kontrolltieren ( $q=4.109$ ,  $p=0.006$ , Abb. 19C)

Für den Parameter Vokalisationen ergaben sich keine signifikanten Gruppenunterschiede (Daten nicht dargestellt).

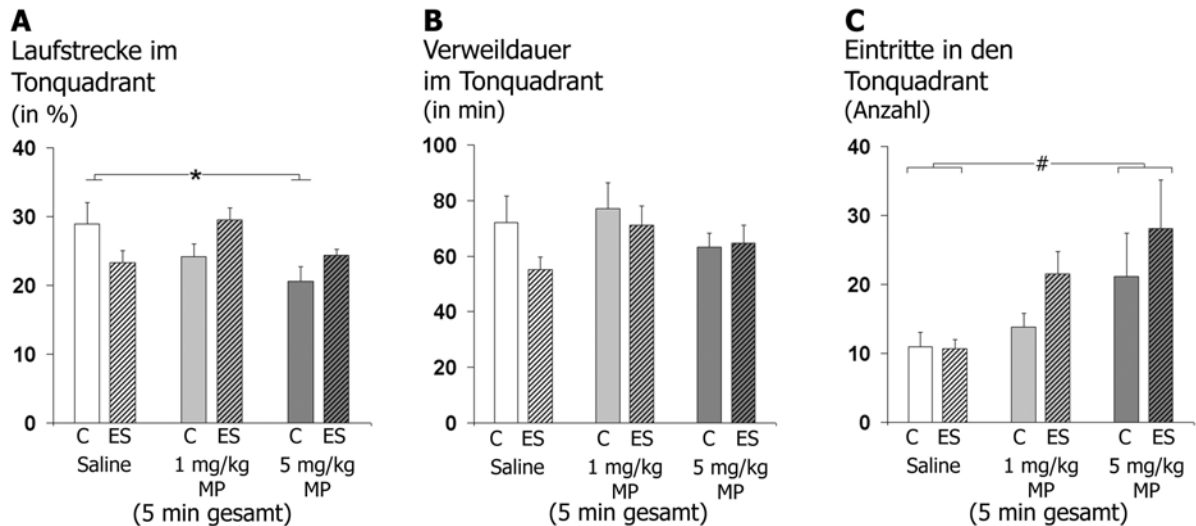


Abb. 20: Open Field-Test #2 (PND 22) im modifizierten OF (Tonquadrant-Aktivität) ♂  
 Effekte der akuten MP-Behandlung auf (A) Laufstrecke (B) Verweildauer im und (C) Eintritte in den  
 Tonquadrant (Mittelwerte  $\pm$  Std.F; Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ :  
 # für Hauptfaktor-Effekte bzw. \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test)

Die Analyse der prozentualen Laufstrecke im Tonquadrant ergab signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT und PHARM ( $F=4.161$ ,  $p=0.022$ ), jedoch keine signifikanten Haupteffekte der Einzelfaktoren. SAL-behandelte Kontrolltiere bewegten sich tendenziell mehr im Tonquadranten als SAL-behandelte frühkindlich gestresste Tiere (+19.6%,  $q=2.745$ ,  $p=0.059$ ). Innerhalb der MP1-behandelten Gruppen war der Trend hingegen umgekehrt, da die Kontrolltiere tendenziell weniger Laufaktivität im Tonquadranten zeigten als die frühkindlich gestressten Tiere (-22.0%,  $F=2.602$ ,  $p=0.073$ ). Nach der akuten Gabe von 1 mg/kg MP reagierten frühkindlich gestresste Tiere somit tendenziell stärker auf die Tonstimulation als frühkindlich gestresste SAL- (+26.8%) bzw- MP5 (+17.6%) behandelte Tiere. Innerhalb der Kontrolltiere zeigte sich hingegen eine dosisabhängige Abnahme der Laufaktivität im Tonquadranten mit signifikanter Differenz der SAL- und MP5- behandelten Tiere (-29.0%,  $q=4.054$ ,  $p=0.017$ ) (Abb. 20A). Die Verweildauer im Tonquadrant unterschied sich nicht signifikant zwischen den untersuchten Gruppen (Abb. 20B). Innerhalb der SAL-behandelten

Gruppen war jedoch für die Kontrolltiere eine tendenziell höhere Aufenthaltsdauer im Tonquadranten zu verzeichnen als für die frühkindlich gestressten Tiere (+31.1%). Da sich die Anzahl der Eintritte in den Tonquadranten nicht zwischen beiden Gruppen unterschied (Abb. 20B), bewegten sich die Kontrolltiere demnach länger innerhalb des Tonquadranten. Unter Einwirkung von MP ergab sich für die Anzahl der Eintritte in den Tonquadranten ein von den Aufzuchtbedingungen unabhängiger Effekt. MP5-behandelte Tiere traten signifikant häufiger in den Tonquadranten ein als SAL-behandelte Tiere (+127.5%,  $q=4.603$ ,  $p=0.006$ , Abb. 20C). Da sie sich aber insgesamt nicht länger im Tonquadrant aufhielten als SAL- oder MP1-behandelte Tiere und dort auch nicht mehr Wegstrecke zurücklegten, ergibt sich aus diesen Daten vor allem die Änderung des Aktivitätsmusters hin zum OF-Zentrum (vgl. auch Abb. 18B,C)

- *Nach der akuten Gabe von 1 mg/kg Methylphenidat reagierten gestresste Tiere tendenziell stärker auf die Tonstimulation als salinebehandelte gestresste Tiere. Eine akute Gabe von Methylphenidat in geringer Dosis (1 mg/kg MP) führt unter den gegebenen experimentellen Bedingungen bei Jungtieren mit frühkindlicher Stresserfahrung zu einer Steigerung der Reaktivität auf die Tonstimulation.*
- *Die Behandlung ungestresster Jungtiere mit MP führte hingegen zu einem gegenteiligen Effekt, d.h. einer Verminderung der Reaktivität.*

### 3.3.3 Untersuchungen zu Auswirkungen chronischer MP-Behandlung: OF-Test #3 (PND 45)

#### 3.3.3.1 Standard - Open Field (ohne Ton-Stimulation)

Der Test #3 findet am PND 45 vor der letzten MP-Injektion, d.h. ohne akute Wirkung des Pharmakons statt. Die Analyse der OF-Daten für den Parameter Laufstrecke mittels eines 3Wege-ANOVA (AUFZUCHT x PHARM x ZEIT) ergab dabei signifikante Haupteffekte des Faktors ZEIT ( $F= 28.725$ ,  $p<0.001$ ). Signifikante Effekte der Faktoren AUFZUCHT oder PHARM bzw. signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x PHARM, AUFZUCHT x ZEIT, PHARM x ZEIT und AUFZUCHT x PHARM x ZEIT ergaben sich nicht. Unabhängig vom Faktor AUFZUCHT oder PHARM zeigte sich damit in allen Gruppen eine Verminderung der Laufaktivität im Verlauf des Testes (Abb. 21A).

Auch bei der Analyse der OF-Daten für die Zentrumsaktivität mittels eines 3Wege-ANOVA (AUFZUCHT x PHARM x ZEIT) ergaben sich signifikante Haupteffekte des Faktors ZEIT ( $F= 3.130$ ,  $p=0.015$ ). Unabhängig vom Faktor AUFZUCHT oder PHARM zeigte sich damit in

allen Gruppen ein Anstieg der Zentrumsaktivität im Verlauf des Testes. Zusätzlich wurden signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x PHARM ( $F= 3.075, p=0.048$ ), jedoch keine Haupteffekte der Faktoren AUFZUCHT und PHARM bzw. signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x ZEIT, PHARM x ZEIT und AUFZUCHT x PHARM x ZEIT festgestellt.

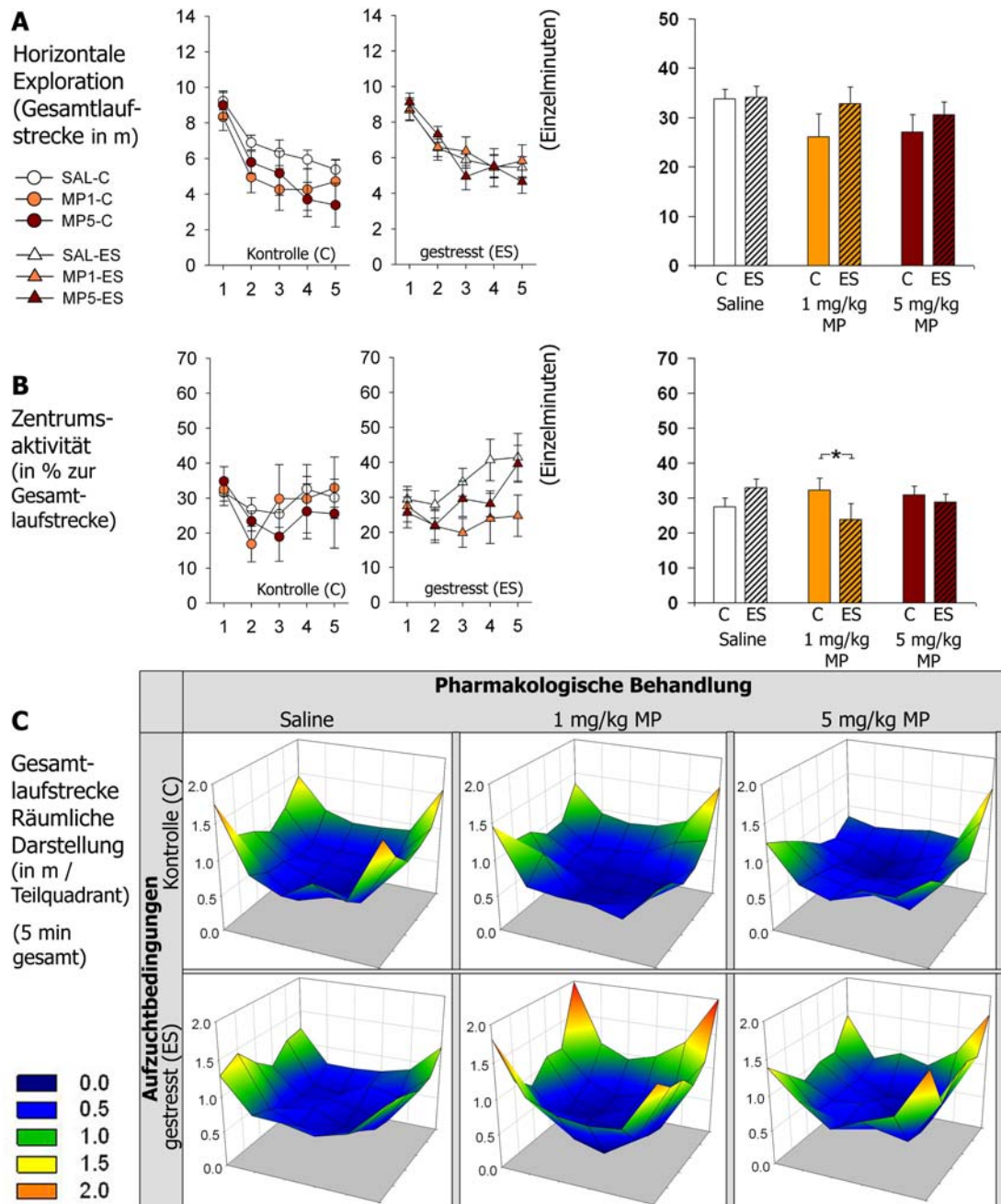


Abb. 21: Open Field-Test #3 (PND 45) im Standard-OF (Gesamtaktivität, Teil I) ♂  
 Effekte der chronischen MP-Behandlung ohne akute MP-Injektion auf (A) Laufstrecke, (B) Zentrums-Aktivität, (Mittelwerte  $\pm$  Std.F, Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test)  
 (C) Räumliche Verteilung der Laufaktivität in der OF-Arena



Die mit 1mg/kg MP behandelten frühkindlich gestressten Tiere hielten sich signifikant weniger im Zentrum des Open Fields auf als die mit der gleichen MP-Dosis behandelte Kontrollgruppe (-26.2%,  $q=3.855$ ,  $p=0.006$ , Abb. 21B).

Weiterhin wurden für den Parameter Putzverhalten signifikante Haupteffekte des Faktors AUFZUCHT ermittelt ( $F=6.506$ ,  $p=0.014$ ). Frühkindlich gestresste Tiere zeigten hier unabhängig von der pharmakologischen Behandlung vermehrte Putzaktivität (+137.8%,  $q=3.607$ ,  $p=0.014$ ; Abb. 22B). Für die Parameter Vertikale Exploration (Abb. 22A), Defäkation (Abb. 22C) und Vokalisation (Daten nicht dargestellt) ergaben sich keine signifikanten Gruppenunterschiede.

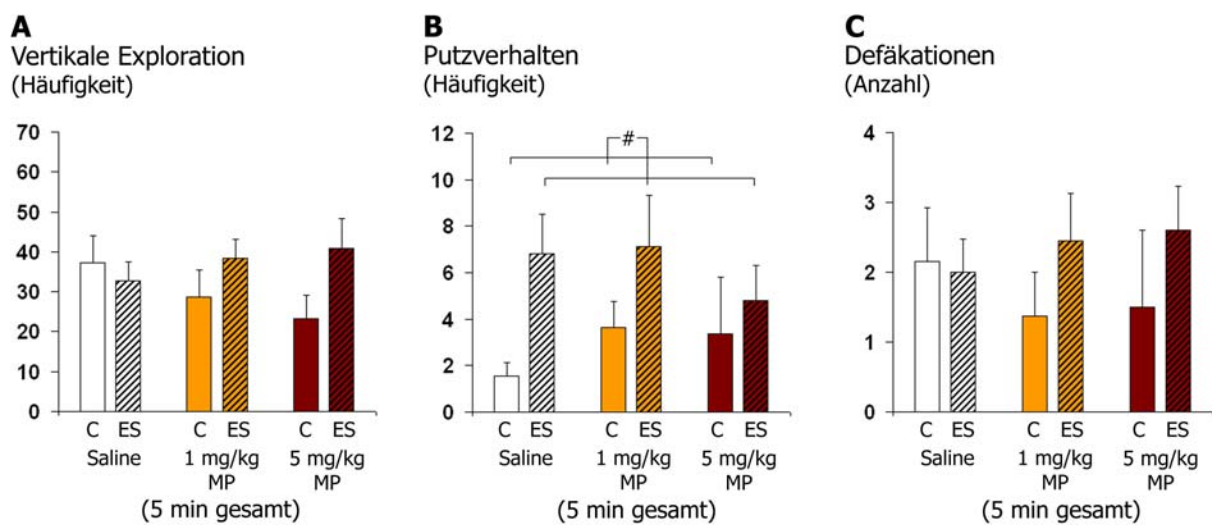


Abb. 22: Open Field-Test #3 (PND 45) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II) ♂  
Effekte der chronischen MP-Behandlung ohne akute MP-Injektion auf (A) Vertikale Exploration, (B) Putzverhalten, (C) Defäkationen (Mittelwerte  $\pm$  Std.F; Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p<0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte, Post hoc Tukey-Test)

- Die bei juvenilen Tieren am PND 22 verzeichnete erhöhte Lauf- und Zentrumsaktivität der salinebehandelten frühkindlich gestressten Tiere war bei adoleszenten Tieren am PND 45 nicht mehr signifikant unterschiedlich.
- Mit 1mg/kg MP behandelte gestresste Tiere zeigten eine verringerte Zentrumsaktivität im Vergleich zu den mit der gleichen Dosis behandelten Kontrolltieren.
- Gestresste Gruppen wiesen häufigeres Putzverhalten im Vergleich zu Kontrollgruppen auf.
- Weitere Gruppenunterschiede zeigten sich nach der chronischen MP-Behandlung im Präpubertätsalter (zwischen PND 22 und 45) nicht.

### 3.3.3.2 Modifiziertes Open Field (mit Ton-Stimulation)

Bei der Analyse der OF-Daten für den Parameter Laufstrecke mittels eines 3Wege-ANOVA (AUFZUCHT x PHARM x ZEIT) wurden nur signifikante Haupteffekte des Faktors ZEIT ( $F=9.708$ ,  $p<0.001$ ) sowie signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x PHARM ( $F=6.332$ ,  $p=0.002$ ) ermittelt. Signifikante Effekte der Faktoren AUFZUCHT oder PHARM bzw. signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x ZEIT, PHARM x ZEIT und AUFZUCHT x PHARM x ZEIT wurden nicht festgestellt. Unabhängig vom Faktor AUFZUCHT oder PHARM zeigte sich damit in allen Gruppen eine Verminderung der Laufaktivität im Verlauf des Testes. Die Innergruppenanalysen mittels des Post hoc Tukey Tests ergaben einen dosisabhängigen Effekt der MP-Behandlung auf die Horizontale Exploration innerhalb der Kontrolltiere, da die MP1-behandelte Gruppe signifikant höhere Laufstrecken zeigte als die SAL-behandelte ( $q=3.841$ ,  $p=0.018$ ) und MP5-behandelte Gruppe ( $q=3.739$ ,  $p=0.008$ , Abb. 23A)

Bei der Analyse der OF-Daten für die Zentrumsaktivität mittels eines 3Wege-ANOVA (AUFZUCHT x PHARM x ZEIT) ergaben sich nur signifikante Haupteffekte des Faktors PHARM ( $F=6.926$ ,  $p=0.001$ ). Signifikante Haupteffekte der Faktoren AUFZUCHT oder ZEIT bzw. signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x PHARM, AUFZUCHT x ZEIT, PHARM x ZEIT und AUFZUCHT x PHARM x ZEIT wurden nicht nachgewiesen. Unabhängig von der Art der AUFZUCHT wiesen die mit 5 mg/kg MP behandelten Gruppen damit eine höhere Zentrumsaktivität auf als die SAL-behandelten ( $q=5.244$ ,  $p<0.001$ ) und mit 1mg/kg MP behandelten ( $q=3.019$ ,  $p=0.033$ ) Gruppen.

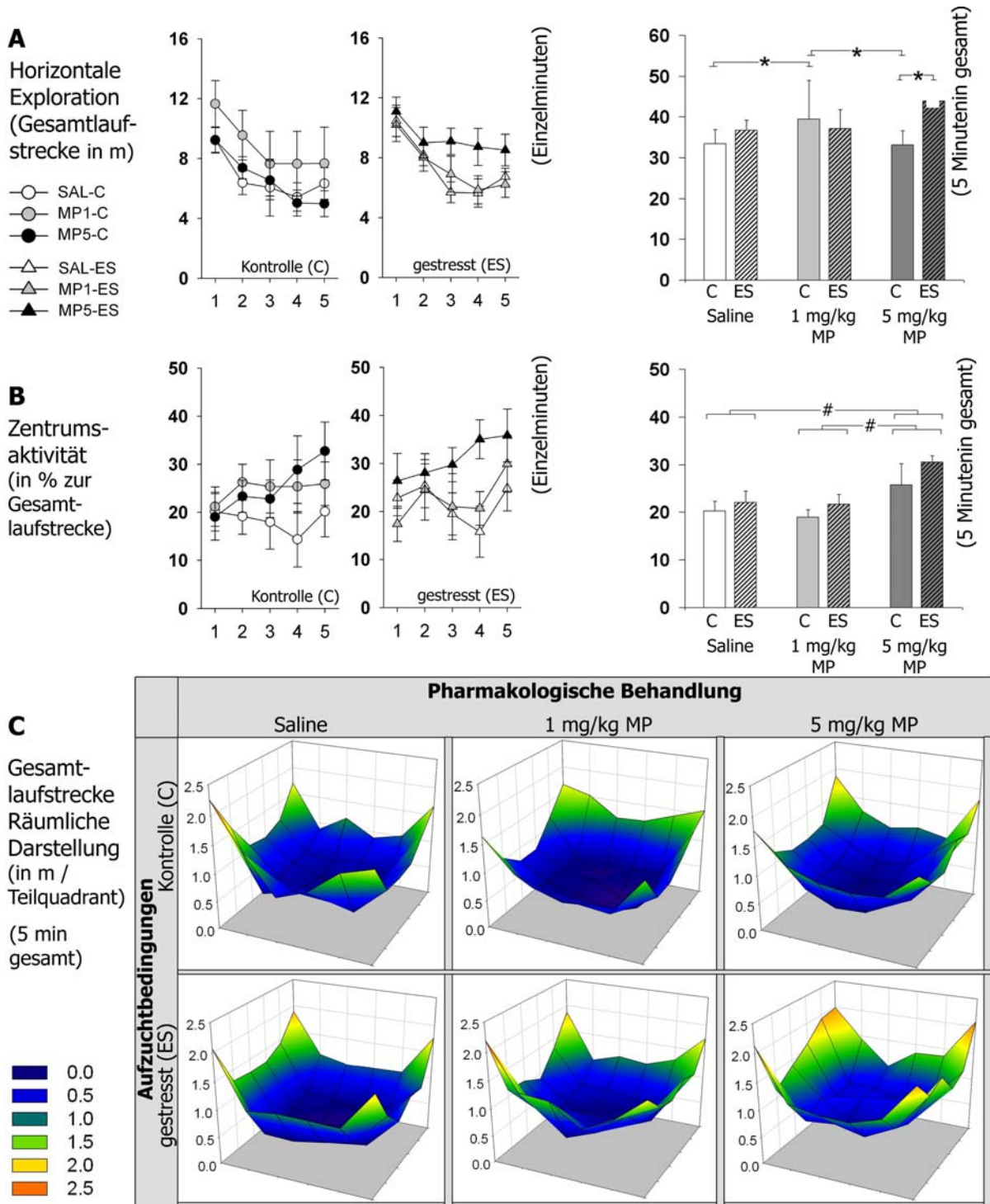


Abb. 23: Open Field-Test #3 (PND 45) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I) ♂  
Effekte der chronischen MP-Behandlung ohne akute MP-Injektion auf (A) Laufstrecke, (B) Zentrums-Aktivität,  
(Mittelwerte ± Std.F, Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte, \* für Hauptfaktor-  
Interaktionen, Post hoc Tukey-Test), (C) Räumliche Verteilung der Laufaktivität in der OF-Arena

Im modifizierten OF ergaben sich weder signifikante Hauptfaktor-Effekte der Parameter Vertikale Exploration (Abb. 24A) noch der Parameter Putzverhalten (Abb. 24B), Defäkationen (Abb. 24C) und Vokalisationen (Daten nicht dargestellt).

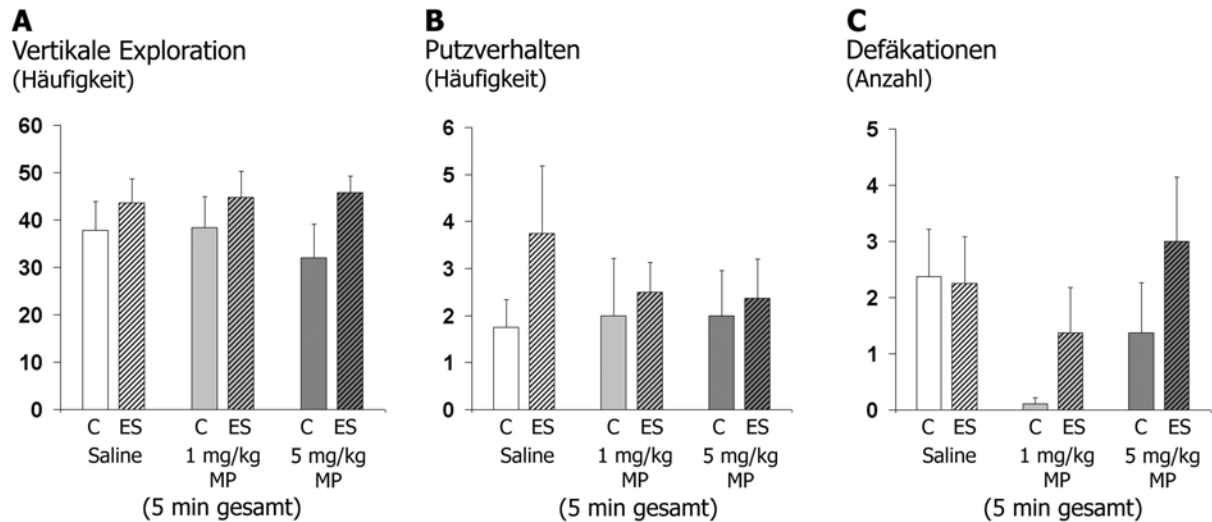


Abb. 24: Open Field-Test #3 (PND 45) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II) ♂  
Effekte der chronischen MP-Behandlung ohne akute MP-Injektion auf (A) Vertikale Exploration,  
(B) Putzverhalten, (C) Defäkationen (Mittelwerte  $\pm$  Std.F; Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ )

Auch bei der Analyse der Aktivität im Tonquadrant im Test #3 im modifizierten OF traten kaum Gruppenunterschiede auf, da sich beim Parameter Vertikale Exploration (Abb. 24A) zwar tendenzielle Effekte des Faktors Aufzucht ( $p = 0.076$ ) ergaben, jedoch keine weiteren Hauptfaktor-Effekte der Parameter Putzverhalten (Abb. 24B), Defäkationen (Abb. 24C) und Vokalisationen (Daten nicht dargestellt) ermittelt wurden.

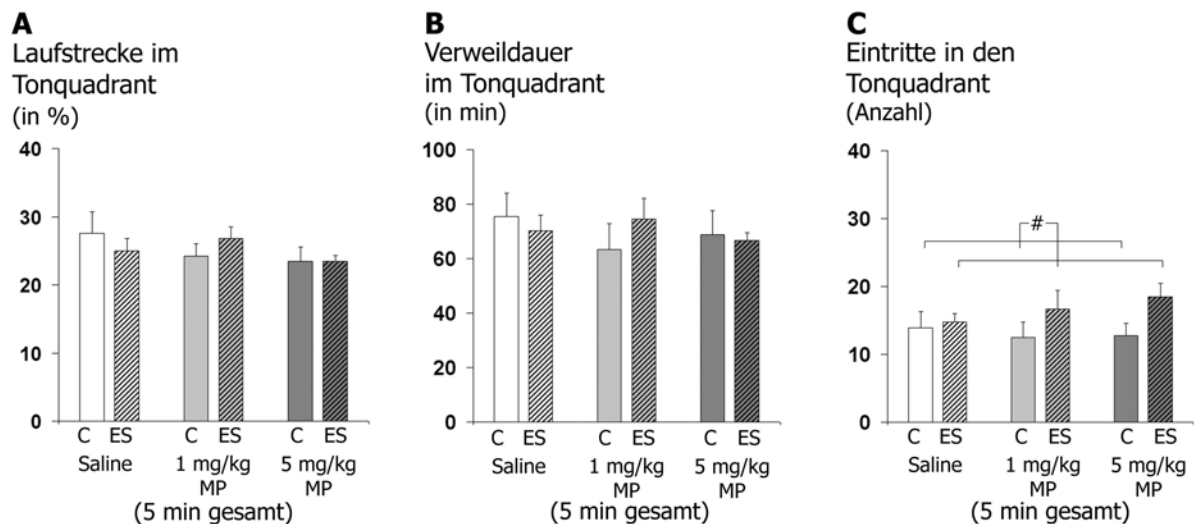


Abb. 25: Open Field-Test #3 (PND 45) im modifizierten OF (Tonquadrant-Aktivität) ♂  
Effekte der chronischen MP-Behandlung ohne akute MP-Injektion auf (A) Laufstrecke (B) Verweildauer im  
und (C) Eintritte in den Tonquadrant (Mittelwerte  $\pm$  Std.F; Statistik: 2Wege-ANOVA,  
 $p < 0.05$ ; # für Hauptfaktor-Effekte, Post hoc Tukey-Test)

Ebenso wurden weder signifikante Hauptfaktor-Effekte für den Parameter Laufstrecke im Tonquadrant (Abb. 25A) noch für den Parameter Verweildauer im Tonquadrant (Abb. 25B)

festgestellt. Unabhängig von der pharmakologischen Behandlung zeigten frühkindlich gestresste Tiere jedoch mehr Eintritte in den Tonquadranten (+27.2%,  $q=2.877$ ,  $p=0.048$ , Abb. 25C).

- *Wie schon im Test #3 Standard-OF ist auch im Test #3 im modifizierten OF am PND 45 keine erhöhte Laufaktivität und Zentrumsaktivität der salinebehandelten frühkindlich gestressten Tiere nachweisbar.*
- *Als einzigen Gruppenunterschied zeigen frühkindlich gestresste Tiere unabhängig von der pharmakologischen Behandlung mehr Eintritte in den Tonquadranten.*

### **3.3.4 Untersuchungen zur akuten MP-Wirkung nach chronischer MP-Behandlung: OF-Test #4 (PND 45)**

#### **3.3.4.1 Standard - Open Field (ohne Ton-Stimulation)**

Bei der Analyse der OF-Daten für den Parameter Laufstrecke mittels eines 3Wege-ANOVA (AUFZUCHT x PHARM x ZEIT) wurden signifikante Haupteffekte der Faktoren PHARM und ZEIT ermittelt. Mit MP behandelte Tiere zeigten signifikant höhere Laufaktivitäten als die SAL- behandelten Gruppen ( $F= 31.837$ ,  $p<0.001$ ). Die akute MP-Injektion führte also unabhängig von der Aufzuchtform (C/ES) sowohl in den MP1- als auch in den MP5- behandelten Gruppen zu erhöhten Laufstrecken im Vergleich zu den salinebehandelten Tieren. Zusätzlich ergab sich unabhängig von Aufzuchtbedingungen und pharmakologischer Behandlung eine Abnahme der Laufaktivität im Verlauf des Testes ( $F= 3.349$ ,  $p=0.011$ , Abb. 26A). Signifikante Effekte des Faktors AUFZUCHT bzw. signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x PHARM, AUFZUCHT x ZEIT, PHARM x ZEIT und AUFZUCHT x PHARM x ZEIT wurden hingegen nicht nachgewiesen. Die am PND 22 deutliche Hyperaktivität frühkindlich gestresster salinebehandelter Tiere war damit im Test #4 am PND 45 nicht mehr vorhanden (Abb. 26A).

Auch bei der Analyse der OF-Daten für die Zentrumsaktivität mittels eines 3Wege-ANOVA (AUFZUCHT x PHARM x ZEIT) wurden nur signifikante Haupteffekte des Faktors PHARM ( $F= 14.975$ ,  $p<0.001$ ) festgestellt. MP-behandelte Tiere zeigten signifikant höhere Zentrumsaktivitäten als die salinebehandelten Gruppen. Zusätzlich wurden signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x PHARM ( $F= 17.056$ ,  $p<0.001$ ) ermittelt (Abb. 26B). Signifikante Haupteffekte der Faktoren AUFZUCHT oder PHARM bzw. signifikante



Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x ZEIT, PHARM x ZEIT und AUFZUCHT x PHARM x ZEIT ergaben sich hingegen nicht.

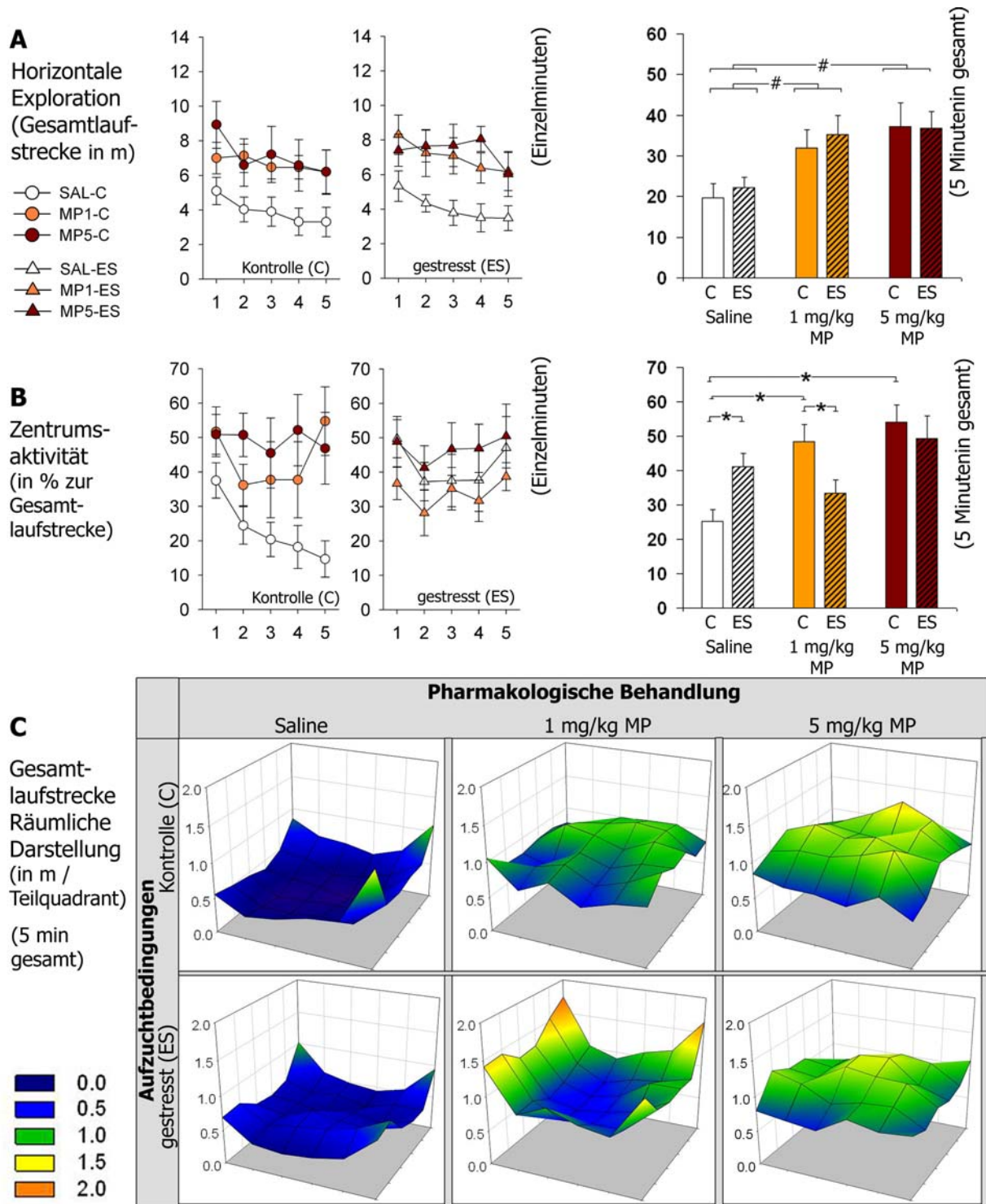


Abb. 26: Open Field-Test #4 (PND 45) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I) ♂  
 Effekte der akuten MP-Injektion nach chronischer MP-Behandlung auf (A) Laufstrecke, (B) Zentrums-Aktivität, (Mittelwerte ± Std.F, Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test)  
 (C) Räumliche Verteilung der Laufaktivität in der OF-Arena

Die erhöhte Zentrumsaktivität frühkindlich gestresster Tiere war im Gegensatz zum Parameter Laufstrecke sowohl in Test #1 und #2, als auch in Test #4 sichtbar. Salinebehandelte frühkindlich gestresste Tiere zeigten in Test #4 signifikant höhere Zentrumsaktivitäten als die salinebehandelten Kontrolltiere (+63.1%,  $q=8.989$ ,  $p<0.001$ ). Die Behandlung frühkindlich gestresster Tiere mit 1mg/kg MP führte hingegen zu einer Verringerung der Zentrumsaktivität im Vergleich zu den mit MP1-behandelten Kontrolltieren (-31.0%,  $q=3.0530$ ,  $p=0.031$ ) und damit zu ähnlichen Zentrumsaktivitäten wie bei den salinebehandelten Kontrolltieren (Abb. 26B).

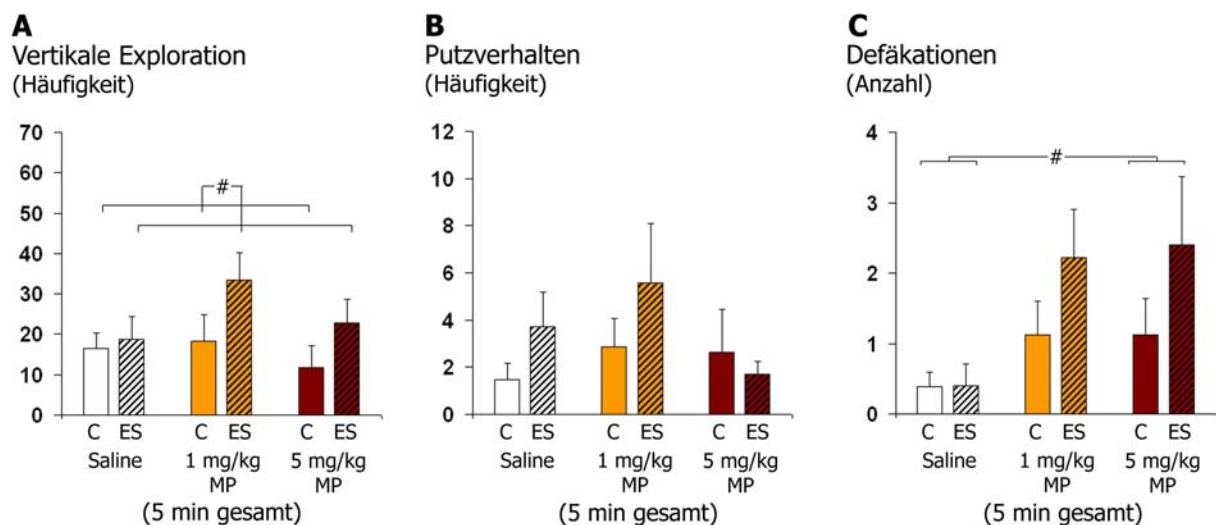


Abb. 27: Open Field-Test #4 (PND 45) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II) ♂  
Effekte der chronischen MP-Behandlung nach akuter MP-Injektion auf (A) Vertikale Exploration, (B) Putzverhalten, (C) Defäkationen (Mittelwerte  $\pm$  Std.F; Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p<0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte, Post hoc Tukey-Test)

Die Analyse des Parameters vertikale Exploration ergab nur signifikante Haupteffekte des Faktors AUFZUCHT ( $F=4.160$ ,  $p=0.046$ , Abb. 27A), wohingegen für die Parameter Putzverhalten (Abb. 27B) und Vokalisation (nicht dargestellt) keine signifikanten Hauptfaktor-Effekte bzw. Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT und PHARM nachgewiesen wurden. Für den Parameter Defäkation (Abb. 27C) zeigte sich ein signifikanter Haupteffekt des Faktors PHARM ( $F=3.308$ ,  $p=0.045$ ), jedoch kein Effekt des Faktors AUFZUCHT sowie keine Interaktionen. Unabhängig von der Aufzuchtform wiesen die MP5 behandelten Tiere signifikant (+368.5%,  $q=3.899$ ,  $p=0.026$ ), die MP1-behandelten Tiere tendenziell (+335.9%,  $q=2.882$ ,  $p=0.096$ ) erhöhte Defäkationsraten auf, wobei in den beiden frühkindlich gestressten MP-behandelten Gruppen ein wesentlich stärkerer Anstieg der Defäkationsrate zu verzeichnen war.

- 
- *Die akute MP-Injektion vor dem Test #4 im Standard-OF führte unabhängig von der Aufzuchtform (C/ES) sowohl in den MP1- als auch in den MP5-behandelten Gruppen zu erhöhten Laufstrecken im Vergleich zu den salinebehandelten Tieren.*
  - *Salinebehandelte frühkindlich gestresste Tiere zeigten in Test #4 signifikant höhere Zentrumsaktivitäten als die salinebehandelten Kontrolltiere. Die Behandlung frühkindlich gestresster Tiere mit 1mg/kg reduzierte die Zentrumsaktivität auf das Niveau salinebehandelter Kontrolltiere.*
- 

### 3.3.4.2 Modifiziertes Open Field (mit Ton-Stimulation)

Bei der Analyse der OF-Daten für den Parameter Laufstrecke mittels eines 3Wege-ANOVA (AUFZUCHT x PHARM x ZEIT) wurden signifikante Haupteffekte der Faktoren AUFZUCHT ( $F= 13.24$ ,  $p<0.001$ ) und PHARM ( $F= 3.055$ ,  $p=0.049$ ) sowie signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x PHARM ( $F=3.266$ ,  $p=0.047$ ) ermittelt. Signifikante Haupteffekte des Faktors ZEIT sowie Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x ZEIT, PHARM x ZEIT und AUFZUCHT x PHARM x ZEIT ergaben sich dagegen nicht. Wie im Test #2 im modifizierten OF zeigten frühkindlich gestresste SAL-Tiere im Vergleich zu den salinebehandelten Kontrolltieren auch im Test #4 signifikant erhöhte Laufaktivitäten (+39.7%,  $q=3.393$ ,  $p=0.016$ ). Eine Behandlung frühkindlich gestresster Tiere mit 1mg/kg MP führt jedoch anders als im Test #2 am PND 22 im Vergleich zu den salinebehandelten frühkindlich gestressten Tieren nicht zu einer Veränderung der Laufaktivität. Da die MP1 behandelten Kontrolltiere jedoch (wie in Test #2) höhere Laufaktivitäten aufwiesen als die SAL-behandelten Kontrolltiere (+35.4%,  $q=3.736$ ,  $p=0.022$ ), waren beide MP1-Gruppen gleich aktiv (Abb. 28A). Wie schon beim Test #2 zeigten die mit 5mg/kg MP behandelten frühkindlich gestressten Tiere eine signifikant höhere Laufaktivität als die mit 5mg/kg MP behandelten Kontrolltiere (+50.6%,  $q=4.857$ ,  $p<0.001$ ). Auch in diesem Test reagieren die frühkindlich gestressten Tiere damit anders als im gleichen Test im Standard-OF (dort kein Unterschied zwischen MP5-C und MP5-ES). Die Analyse der OF-Daten der Zentrumsaktivität mittels eines 3Wege-ANOVA (AUFZUCHT x PHARM x ZEIT) ergab nur signifikante Haupteffekte des Faktors PHARM ( $F=7.858$ ,  $p=0.006$ ) und Interaktionen der Faktoren (AUFZUCHT x PHARM). Signifikante Effekte der Faktoren PHARM und ZEIT sowie Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x ZEIT, PHARM x ZEIT und AUFZUCHT x PHARM x ZEIT wurden nicht festgestellt. Unabhängig von der Aufzuchtform bewegten sich MP5- behandelte Tiere damit mehr im OF-



Zentrum als salinebehandelte (+32.4%,  $q=5.649$ ,  $p<0.001$ ) und als MP1 behandelte Tiere (+73.9%,  $q=5.989$ ,  $p<0.001$ ) (Abb. 28B,C).

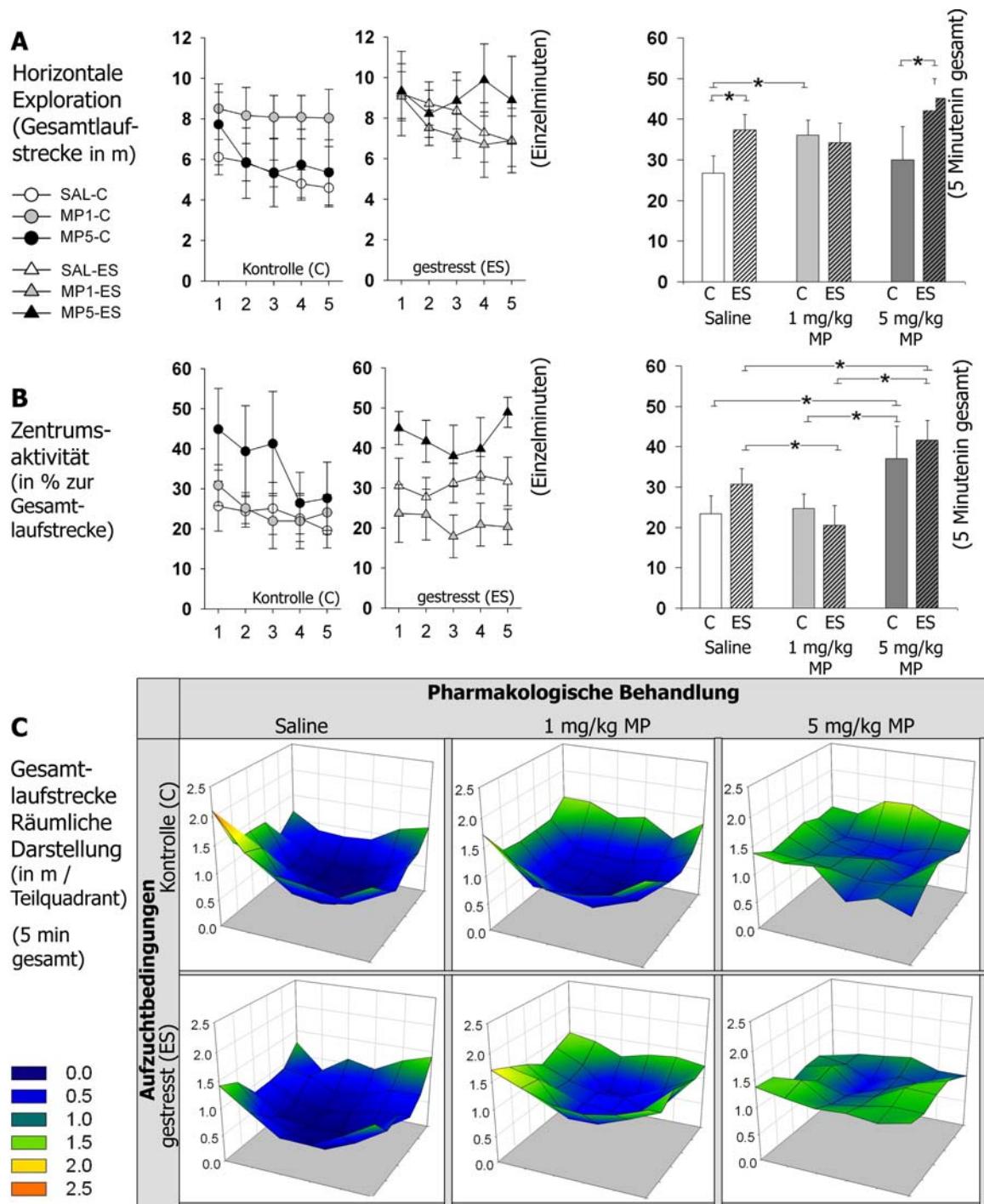


Abb. 28: Open Field-Test #4 (PND 45) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I) ♂  
Effekte der akuten MP-Injektion nach chronischer MP-Behandlung auf (A) Laufstrecke, (B) Zentrums-Aktivität, (Mittelwerte  $\pm$  Std.F, Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p<0.05$ : \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test), (C) Räumliche Verteilung der Laufaktivität in der OF-Arena



Innerhalb der Kontrollgruppen zeigten die mit 5mg/kg MP behandelten Tiere signifikant höhere Zentrumsaktivitäten als salinebehandelte (+99.0%,  $q=5.232$ ,  $p<0.001$ ) und

mit 1mg/kg MP behandelte (+74.2%,  $q=4.407$ ,  $p=0.002$ ) Kontrolltiere (Abb. 28B,C). Innerhalb der frühkindlich gestressten Gruppen ergab sich ein dosisabhängiger, u-förmiger Effekt, da die MP1-Gruppe signifikant weniger Zentrumsaktivität (ES: -32.9%,  $q=3.177$ ,  $p=0.025$ ), die MP-5-Gruppe hingegen signifikant mehr (+35.8%,  $q=3.887$ ,  $p=0.006$ ) Zentrumsaktivität zeigte als die salinebehandelte Gruppe. Die MP5-Gruppe bewegte sich ausserdem signifikant häufiger im Zentrumsbereich als die MP1-Gruppe (+102.5%,  $q=7.064$ ,  $p<0.001$ ). Die frühkindlich gestresste MP1-Gruppe wies damit ähnliche Zentrumsaktivitäten auf, wie die salinebehandelte Kontrollgruppe. Zwischen den jeweils zwei Aufzuchtgruppen gleicher pharmakologischer Dosis gab es keine signifikanten Unterschiede, die salinebehandelten frühkindlich gestressten Tiere waren jedoch tendenziell häufiger im OF-Zentrum, als die salinebehandelten Kontrolltiere (+30.8%,  $q=2.436$ ,  $p=0.085$ ).

Für den Parameter vertikale Exploration ergab der Zwei-Wege-ANOVA (Faktoren AUFZUCHT und PHARM) signifikante Haupteffekte des Faktors PHARM ( $F=3.525$ ,  $p=0.038$ , Abb. 29A), jedoch weder signifikante Haupteffekte des Faktors AUFZUCHT noch Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x PHARM. Der anschließende Post hoc Tukey Test zeigte, dass unabhängig von der Aufzuchtform (C, ES) die MP5-Gruppen signifikant weniger vertikale Explorationsbewegungen ausführten, als die MP1-Gruppen (-47.1%,  $q=3.752$ ,  $p=0.030$ ).

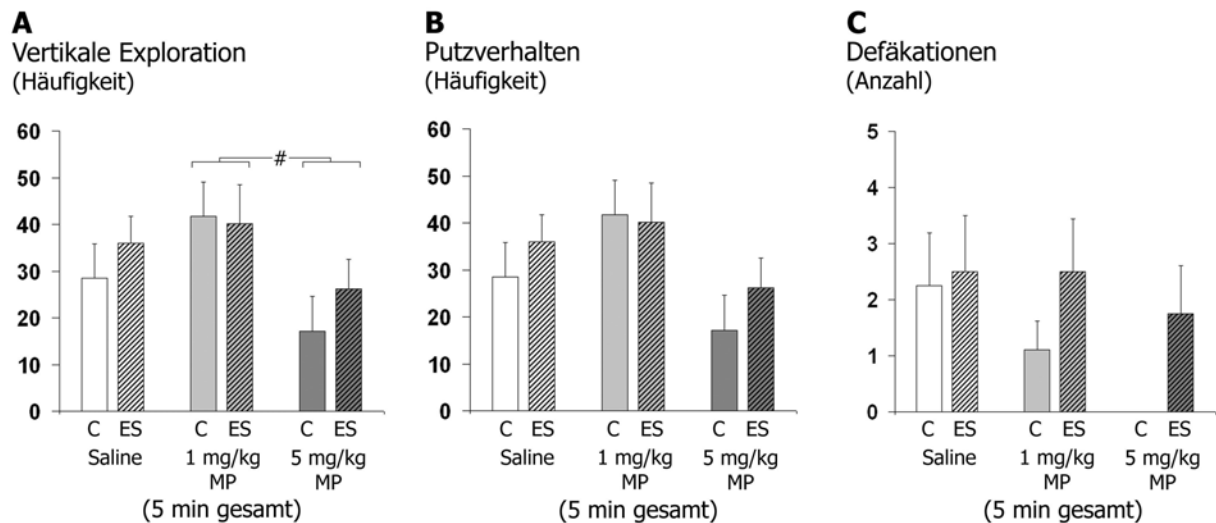


Abb. 29: Open Field-Test #4 (PND 45) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II) ♂  
Effekte der chronischen MP-Behandlung nach akuter MP-Injektion auf (A) Vertikale Exploration, (B) Putzverhalten, (C) Defäkationen (Mittelwerte  $\pm$  Std.F; Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p<0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte, Post hoc Tukey-Test)

Die Analyse der Parameter Putzverhalten (Abb. 29B), Defäkationen (Abb. 29C) und Vokalisationen (nicht dargestellt) ergab keine signifikanten Haupteffekte bzw. Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT und PHARM.

Die Analyse der prozentualen Laufstrecke im Tonquadrant ergab wie schon in Test #2 signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT und PHARM ( $F=4.518$ ,  $p=0.017$ ), jedoch keine signifikanten Haupteffekte der Einzelfaktoren.

Wie im Test #2 reagierten frühkindlich gestresste Tiere nach der akuten Gabe von 1 mg/kg MP somit signifikant stärker auf die Tonstimulation als frühkindlich gestresste SAL- (+41.4%,  $q=3.544$ ,  $p=0.042$ ) bzw. tendenziell stärker als MP5- behandelte Tiere (+21.6%). Innerhalb der Kontrolltiere zeigt sich hingegen keine signifikante Änderung der Tonquadrantaktivität im Vergleich von saline- und MP-behandelten Gruppen. (Abb. 30A). Salinebehandelte frühkindlich gestresste Tiere bewegten sich tendenziell (-21.7%,  $q=2.371$ ,  $p=0.101$ ), die mit 5 mg/kg MP (-24.5%,  $q=3.086$ ,  $p=0.035$ ) behandelten Tiere signifikant weniger im Tonquadranten als die mit jeweils gleicher Dosis behandelten Kontrolltiere. Innerhalb der MP1-behandelten Gruppen ist der Trend hingegen umgekehrt, da die frühkindlich gestressten Tiere tendenziell mehr Laufaktivität im Tonquadranten zeigten als die Kontrolltiere (+24.6%,  $F=2.441$ ,  $p=0.092$ ).

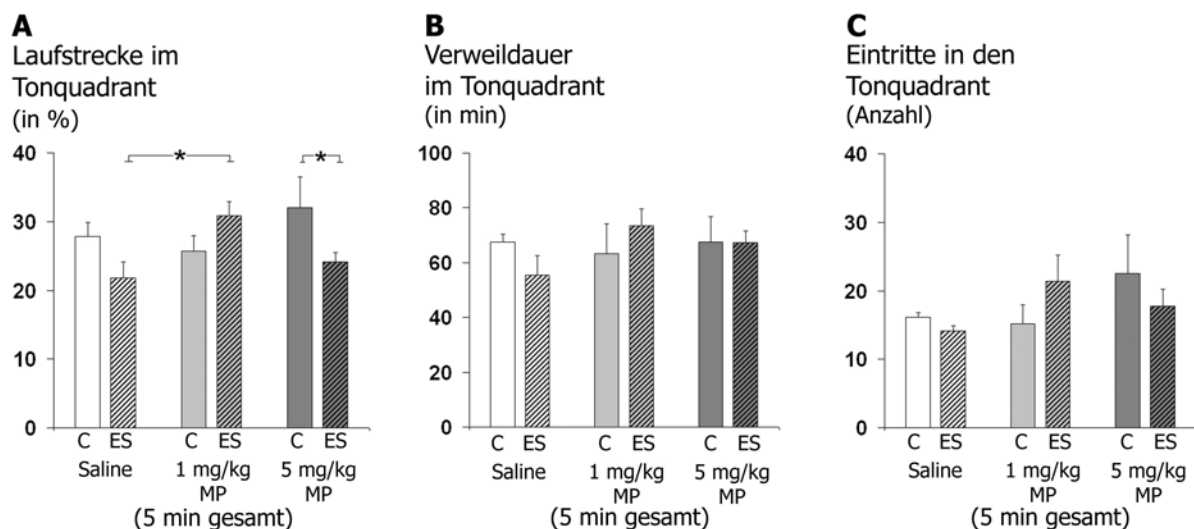


Abb. 30: Open Field-Test #4 (PND 45) im modifizierten OF (Tonquadrant-Aktivität) ♂ Effekte der chronischen MP-Behandlung nach akuter MP-Injektion auf (A) Laufstrecke (B) Verweildauer im und (C) Eintritte in den Tonquadrant (Mittelwerte  $\pm$  Std.F; Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p<0.05$ : \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey)



Die Verweildauer im Tonquadrant unterschied sich nicht signifikant zwischen den untersuchten Gruppen (Abb. 30B). Innerhalb der SAL-behandelten Gruppen war jedoch im Vergleich zu den

frühkindlich gestressten Tieren eine tendenziell höhere Aufenthaltsdauer der Kontrolltiere im Tonquadranten zu verzeichnen (+15.2%). Da sich die Anzahl der Eintritte in den Tonquadranten nicht zwischen den salinebehandelten Gruppen unterschied (Abb. 30C), reagierten die salinebehandelten Kontrolltiere deshalb (wie schon im Test #2) tendenziell stärker auf den Ton, weil sie sich länger bei der Tonquelle aufhielten und dort explorierten, sie aber nicht öfter in den Tonquadranten hineinliefen.

---

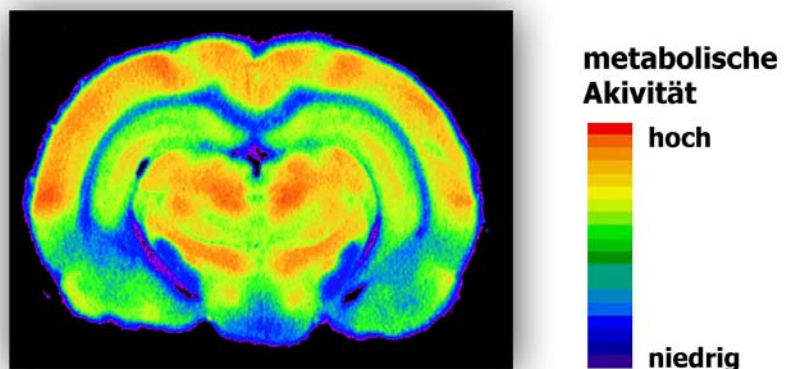
- *Obwohl die frühkindlich gestressten salinebehandelten Tiere eine höhere Laufaktivität zeigen als die salinebehandelten Kontrollgruppen (Abb. 28A), sind sie nicht häufiger im Ton-Quadrant (Abb. 30A).*
  - *Im Gegensatz dazu zeigen frühkindlich gestresste Tiere nach einer chronischen Behandlung mit 1mg/kg MP keine erhöhte motorische Aktivität (Abb. 28A), halten sich aber trotzdem prozentual häufiger im Tonquadrant auf (Abb. 30A). Die chronische Gabe von 1mg/kg MP erhöht hier deutlich die Reaktivität auf die angebotenen akustischen Stimuli.*
-

## 4 Funktionelles Imaging (Funktionell metabolische Untersuchungen mit der 2-FDG-Methode)

### 4.1 Allgemeine Einführung

Funktionelle bildgebende Verfahren bieten die Möglichkeit, aufgaben- oder situationsbezogene Änderungen der Gehirnaktivität durch die Messung von lokalen Änderungen des Blutflusses oder des Glukose- bzw. Sauerstoffverbrauchs zu visualisieren (Magistretti & Pellerin, 1999). Die gemessene metabolische Gehirnaktivität korreliert dabei mit der Aktivität der vorhandenen neuronalen Netzwerke, die wiederum eng an die Zufuhr von Glukose gekoppelt ist.

Abb. 31: Frontalschnitt eines 2-FDG-markierten Degugehirns (metabolische Aktivität verschiedener Gehirngebiete): Falschfarbendarstellung der Grauwertmarkierungen des Röntgenfilms



Das Ausmaß des Glukose- und Sauerstoffverbrauches des menschlichen Gehirns ist erheblich. Dies wird z.B. an seinem Energiebedarf deutlich, der ca. 20% des Gesamtenergieverbrauchs des menschlichen Körpers beträgt, obwohl sein Massenanteil nur bei 2% des Gesamtkörpergewichts liegt (Magistretti & Pellerin, 1999). Die verschiedenen Gehirnareale unterscheiden sich jedoch in Bezug auf ihren Glukosebedarf. Der Glukosebedarf ist dabei nicht nur regional (z.B. Präfrontalcortex und Basalganglien mit sehr hohem, Faserbereiche mit geringem Grundbedarf), sondern vor allem durch die funktionelle, gebietspezifische Aktivität einzelner Gehirngebiete unterschiedlich stark ausgeprägt (Barros et al., 2005). Die Korrelation zwischen elektrischer Aktivität und Glukosemetabolismus ist so eng, dass radioaktiv markierte Glukose (vgl. Abb. 32) zur indirekten Abschätzung von elektrischer Aktivität von Gehirngebieten in räumlicher und zeitlicher Auflösung genutzt werden kann (Sokoloff, 1999).

Im klinischen Bereich findet dabei die nichtinvasive Fluorodeoxy-Glukose-Positronen-Emissions-Tomographie (PET) Anwendung, die jedoch mehr und mehr durch die höherauflösende funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT) ersetzt wird, die ebenso wie die PET-Technik Veränderungen der Hirndurchblutung misst, jedoch den Einsatz radioaktiver Tracer unnötig macht. In Tiermodellen wie der vorliegenden Studie findet die 2-Fluoro-Deoxyglucose (2-FDG)-Methode nach Sokoloff et al., 1977) modifiziert nach

Gonzalez-Lima, 1992) jedoch weiterhin breite Anwendung, da diese durch die direkte Messung am Hirnschnitt eine sehr hohe Auflösung bietet und Untersuchungen eines sich frei bewegenden, unnarkotisierten Tieres auch während eines Verhaltenstests ermöglicht. Die 2-FDG-Methode wird in unserer Arbeitsgruppe bereits erfolgreich zur Überprüfung der physiologischen Wirkung von systemisch oder lokal applizierten, neuropharmakologisch wirksamen Substanzen eingesetzt (vgl. Bock et al., 1996; Bock et al., 1997).

#### 4.1.1 Grundlagen der 2-FDG-Methode

Glukose als „Brennstoff“ des Gehirns wird mittels des Blutkreislaufes über die Blut-Hirn-Schranke zu den Verbrauchsstellen im Gehirn (z.B. Neuronen) transportiert und normalerweise nach der Phosphorylierung zu Glukose-6-Phosphat (G-6-P) glykolytisch zu Pyruvat weiter metabolisiert. Zur radioaktiven Markierung sind alle sechs C-Atome des Glukosemoleküls durch  $^{14}\text{C}$ -Atome ersetzt. Da zusätzlich am C2-Atom ein Sauerstoff- durch ein Fluor-Atom ersetzt wurde, ähnelt die 2-Fluoro-Deoxy-Glukose der natürlichen Glukose strukturell so stark, dass eine Permeabilität der Blut-Hirnschranke und Phosphorylierungsrate erreicht wird, die mit normaler Glukose vergleichbar ist (Gonzalez-Lima, 1992). Das aus der Phosphorylierung der radioaktiv markierten 2-FDG entstandene 2-Fluorodeoxyglukosephosphat kann jedoch aufgrund der fehlenden Hydroxylgruppe am C2-Atom nicht weiter über die Glykolyse metabolisiert werden und reichert daher je nach Energiebedarf der einzelnen Hirngebiete aufgrund der jeweiligen synaptischen Aktivität so unterschiedlich stark an, dass Einzelstrukturen des Gehirns abgrenzbar und damit qualitativ und quantitativ analysierbar sind.

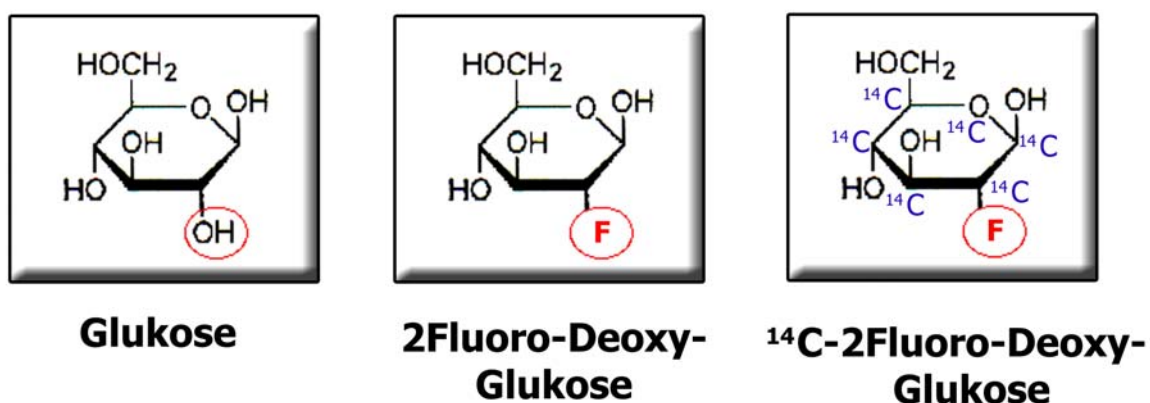


Abb. 32: Glukose, 2-Fluoro-Deoxyglukose und  $^{14}\text{C}$ -2-Fluoro-Deoxyglukose, chem. Formeln

Der Prozess der Anreicherung radioaktiv markierten 2-Fluorodeoxyglukosephosphats ist jedoch wahrscheinlich nicht als primär neuronaler Prozess anzusehen. Bei Untersuchungen zur Kopplung von synaptischer Aktivität an die Aufnahme von Glukose durch Astrozyten in der



Umgebung der Synapse, wurde am Beispiel Glutamats gezeigt, dass die Ausschüttung von Glutamat an der Synapse sowie die nachfolgende Transmitteraufnahme in die Präsynapse und den benachbarten Astrozyten in den Astrozyten ein Mechanismus ausgelöst wird, bei dem Laktat (nach aerober Umwandlung aus Glukose) als energiereiches Substrat zum Neuron zurücktransportiert wird (siehe Abb. 33 und Magistretti & Pellerin, 1999 zur detaillierteren Beschreibung). Die spezielle zweiteilige Form von Astrozyten mit den Synapsen umkleidenden Zellfortsätzen einerseits, und den, die Endothelzellen von Kapillaren umhüllenden Fortsätzen andererseits, die zur Aufnahme von Glukose aus dem Blutkreislauf dienen, schafft die ideale Voraussetzung zur Korrelation des Nachschubs aus dem Glukosemetabolismus mit dem akuten Energiebedarf an der Synapse. Die radioaktiv markierte Glukose reichert sich also wahrscheinlich nicht in den Neuronen, sondern in den umgebenden Astrozyten an. Da jedoch nur Astrozyten in der Nähe von aktivierten Synapsen verstärkt Glukose aufnehmen, ist die erhöhte Aktivität der Synapsen damit indirekt nachweisbar.

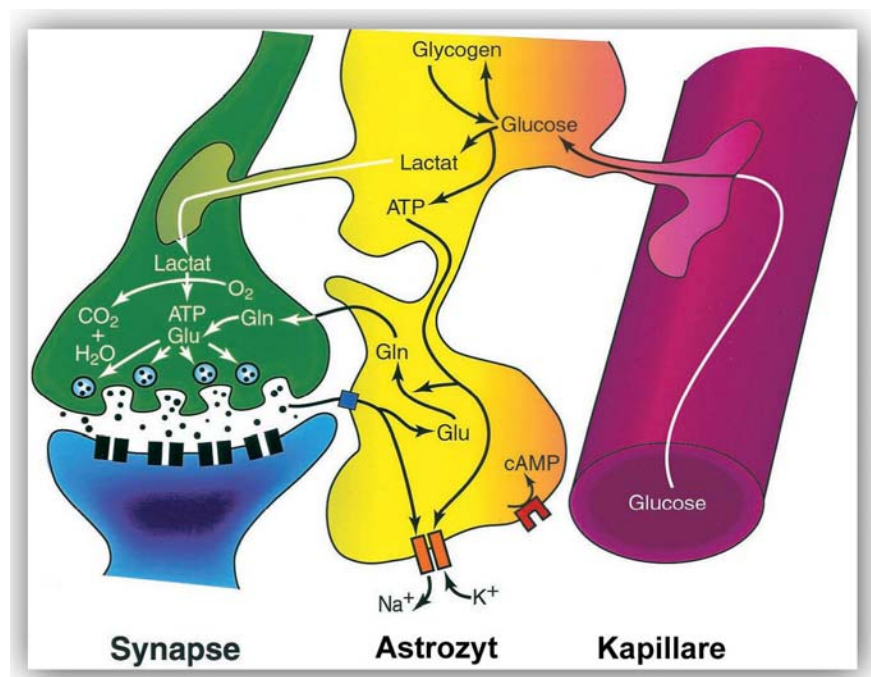


Abb. 33: Modell der Abhängigkeit der synaptischer Aktivität von astrozytischen Glukoseaufnahme Prozessen in der direkten Umgebung einer glutamatergen Synapse mit Blutkapillare (rot), Astrozyt (gelb) und Synapse (grün: Präsynapse; blau: Postsynapse). Dargestellt ist die Sekretion von Glutamat an der Präsynapse, die Aufnahme von Glutamat an der Postsynapse sowie durch Glutamatttransporter (blau) am Astrozyten und die Kaskade zur Aufnahme von Glukose über den Glutamat- Glutamin-Kreislauf (glu- gln), die astrozytische Natrium-Kalium-ATPase (orange), Adenosintriphosphat (ATP) –Bildungsstellen und die Glykolyse und der Transport von Glukose (Laktat-Shuttle) zurück in die Präsynapse (nach Magistretti & Pellerin, 1999, Pellerin et al., 1998 verändert, aus Todd & Botteron, 2001)

Auch dopaminerge Synapsen sind exzitatorische Synapsen. Daher sollten die eben am Beispiel glutamaterger Synapsen dargestellten Prozesse auch für die in der vorliegenden Dissertation diskutierten funktionell metabolischen Untersuchungen dopaminerg innervierter Gehirngebiete gelten. Bezüglich der genannten astrozytischen Kaskaden zur Energieversorgung präfrontaler

Synapsen gibt es sogar die Vermutung, dass eine Unterfunktion des Glukose- und Glykogen-Metabolismus der die Synapsen umgebenden Astrozyten durch zu geringe astrozytische DAT-Bindungsstellen ursächlich an der Unterfunktion des Präfrontalcortex in ADHD-Patienten beteiligt sein könnte (Todd & Botteron, 2001).

#### 4.1.2 Versuchsaufbau und experimentelle Gruppen

Untersuchungen der metabolischen Aktivität verschiedener Gehirnbereiche mittels 2-FDG-Methode bei Tieren mit unterschiedlicher pharmakologischer Behandlung (hier Methylphenidat in verschiedenen Dosen) erlauben Rückschlüsse auf die Wirkmechanismen des eingesetzten Pharmakons, da Aktivitätsveränderungen in den verschiedenen Gehirnbereichen gebietspezifisch analysiert werden können.

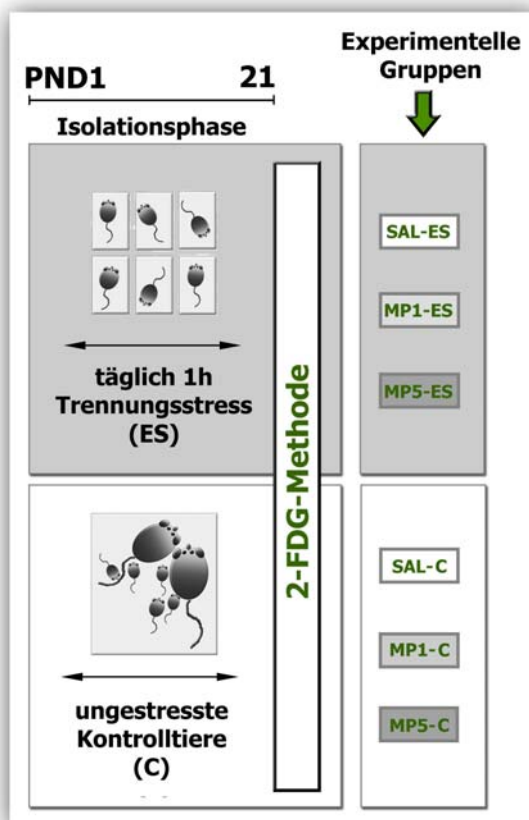


Abb. 34: 2-FDG-Experiment: Versuchsaufbau und experimentelle Gruppen

Tabelle 3: 2-FDG-Studie – Experimentelle Gruppen, Tierzahl ♂

Aufzuchtbedingung	Pharmakol. Behandlung	Anzahl Tiere (n)	Anzahl Würfe
Trennungsstress (ES)	Saline	5	5
	1 mg/kg MP	5	3
	5 mg/kg MP	5	4
ungestresste Kontrolltiere (C)	Saline	5	4
	1 mg/kg MP	5	3
	5 mg/kg MP	5	4

Ziel des vorliegenden Experiments war dabei, die Ursachen der beschriebenen Verhaltensänderungen nach frühkindlichem Trennungsstress sowie einer akuten MP-Applikation durch die Bestimmung der metabolischen Aktivität verschiedener Hirngebiete zu klären. In der vorliegenden 2-FDG-Studie fand zur Beantwortung dieser Fragen das gleiche Isolationsschema (tägl. 1h frühkindlicher Trennungsstress (ES) bzw. ungestörte ungestresste Kontrollen (C) von PND 1 – 21) Anwendung, das unter 2.2 für die Verhaltensexperimente



ausführlich beschrieben wurde. Am PND 22 wurden alle männlichen Jungtiere des jeweiligen, für die 2-FDG-Untersuchungen bestimmten Wurfes dem Heimkäfig entnommen, gewogen und als eingeschlechtliche Geschwistergruppe in eine undurchsichtige Testbox im Radionukleotid-Labor plaziert. Um die direkte Wirkung der pharmakologischen Substanz (Methylphenidat) auf die metabolische Aktivität des Gehirns zu untersuchen, wurden den Jungtieren nach 10min Habituationszeit 0.1ml einer ihrem Gewicht angepassten Dosis von 9  $\mu\text{Ci}$   $^{14}\text{C}$ -markierter 2-FDG (American Radiolabeled Chemicals) und gleichzeitig 0.2ml der körperrgewichtentsprechenden Dosis MP-Lösung bzw. 0.2ml Saline mittels einer einzigen i.p Injektion appliziert. Die Tiere wurden daraufhin für 45min als Geschwistergruppe ungestört in der Testbox belassen.

#### **4.1.3 Aufbereitung der Gehirne**

Nach Ablauf der Testzeit (45min nach der Injektion) wurden die Tiere dekapitiert. Die entnommenen Gehirne wurden aufgefroren, mit Hilfe eines Kryostaten frontal geschnitten (Schnittdicke 40 $\mu\text{m}$ ) und sofort auf einer Wärmplatte bei 40°C auf Objektträgern durch Antrocknung fixiert, um eine Diffusion der radioaktiv markierten Glukose im Schnitt zu verhindern. Nach dem Trocknen wurden die Gehirnschnitte auf einen  $^{14}\text{C}$ -sensitiven Röntgenfilm (Kodak Ectascan NB 100) aufgelegt und nach dreitägiger Expositionszeit entwickelt.

#### **4.1.4 Analyse und Auswertung des 2-FDG-Experiments**

Die resultierenden Aktivitätsmuster konnten nun mit Hilfe eines speziellen Bildanalyseystems (Apple Macintosh Computer, CCD-Kamera, Software NIH Image) digitalisiert und quantitativ ausgewertet werden. Für die Berechnung der relativen 2-FDG-Aufnahme der einzelnen Schnitte wurde dazu jeweils die photometrische Dichte des zu analysierenden Hirngebiets gemessen und die Hintergrundfärbung des Filmes subtrahiert. Der entstehende (hintergrundberichtigte) Wert wurde dann (als ein interner Standard für die injektions- und aktivitätsbedingte unterschiedliche Aufnahmemenge des 2-FDG der einzelnen Tiere) durch die mittlere photometrische Dichte des Faserbündels Corpus callosum dividiert. Das C. callosum wurde als Referenzstruktur ausgewählt, da es als breites und damit gut ansprechbares Faserbündel fast keine eigene 2-FDG-Inkorporation zeigt. Nur diese Relativwerte gingen in die statistische Analyse ein (Wert „1“ entspricht damit der Aktivität des C. callosum). Es wurden folgende Hirngebiete analysiert:

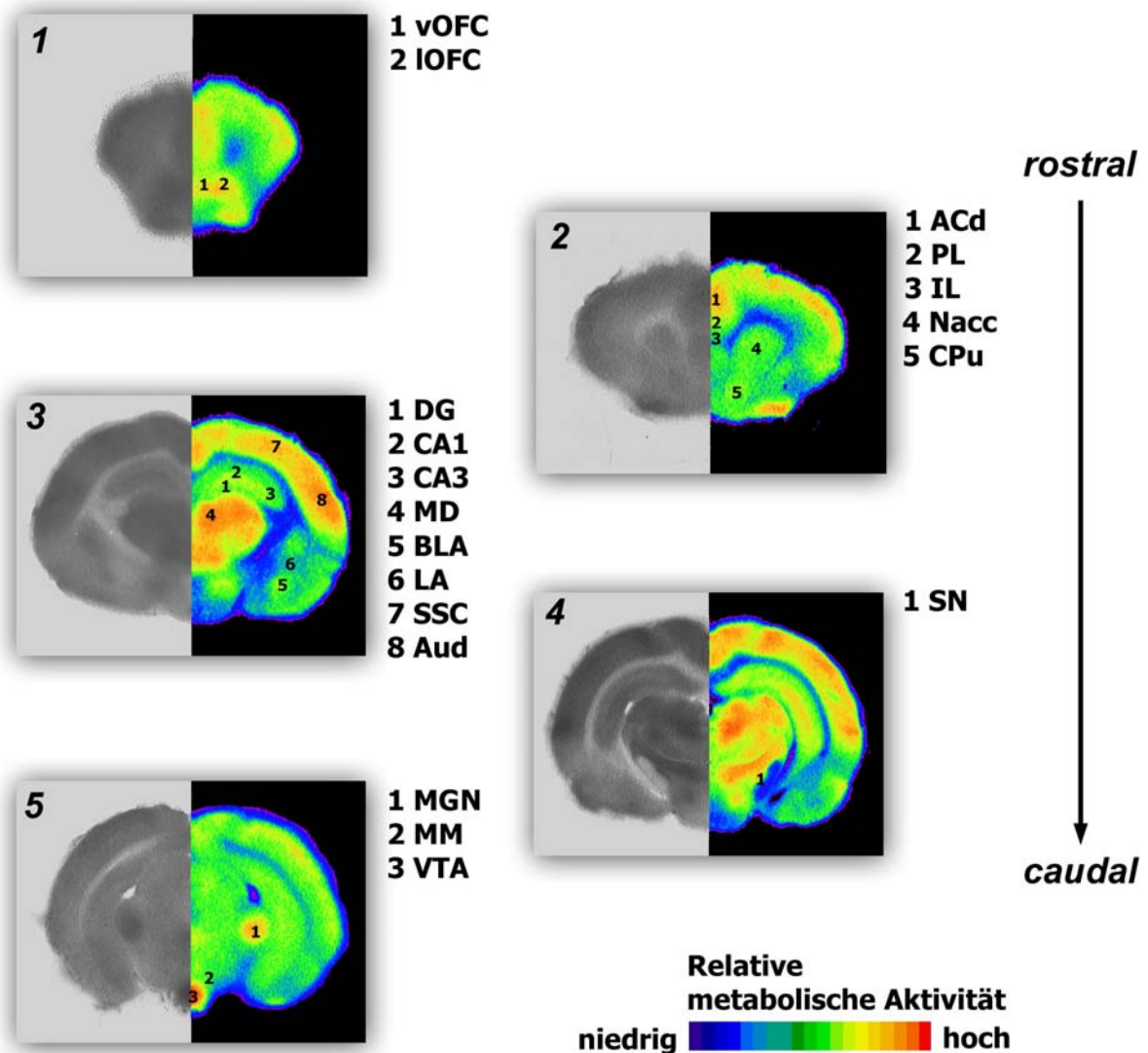


Abb. 35: 2-FDG-Experiment: Analytierte Gehirngebiete in Frontalschnitten 2-FDG-markierter Degugehirne (PND 22): jeweils links: Grauwertmarkierungen des Röntgenfilms, rechts: korrespondierende Falschfarbendarstellung

Die Identifikation und Abgrenzung der Gehirngebiete erfolgte in Anlehnung an Paxinos & Watson, 1998 sowie Wright & Kern, 1992 und ist in Abb. 37 bis Abb. 44 jeweils links neben den Autoradiogrammen dargestellt.

Die Auswahl der Gehirngebiete erfolgte nach folgenden Kriterien:

- Gehirngebiete mit starker dopaminergener Innervation bzw. vielen dopaminergen Zellen: die Substantia nigra (SN), das ventrale tegmentale Areal (VTA), der Nucleus mediodorsalis des Thalamus, (MD), der Nucleus accumbens (Nacc), das Striatum (Caudatum+ Putamen, CPu),

- Präfrontale Hirngebiete: der dorsale anteriore cinguläre Cortex (ACd), der ventrale und laterale orbitofrontale Cortex (vOFC, IOFC), der prälimbische Cortex (PL) und der infralimbische Cortex (IL),
- weitere limbische Regionen: Mammillarkörper (MM), der basolaterale und laterale Kern der Amygdala (BLA, LA), der Gyrus dentatus (DG), sowie die Cornu Ammonis Region1 (CA1) und Region3 (CA3) des Hippocampus,
- Kontrollregionen: das Mediale Geniculatum (MGN) als stark 2-FDG-markierte Region der Hörbahn, sowie weitere Cortexareale, wie der auditorische (Aud) und der somatosensorische Cortex (SSC).

#### 4.1.5 Statistik

Die Analyse des Parameters metabolische Aktivität wurde mit einem 3Wege-ANOVA (Faktoren Aufzuchtbedingung (AUFZUCHT), pharmakologische Behandlung (PHARM) und Hemisphäre (HEMI) durchgeführt. Bei der Erfassung der metabolischen Aktivität der Mammillarkörper wurde auf eine hemisphärengetrennte Auswertung verzichtet (da Hemisphären räumlich nicht trennbar) und ein Zwei-Wege-ANOVA (Faktoren AUFZUCHT und PHARM) angewendet. Für die Analyse möglicher Hauptfaktor-Effekte wurde bei allen Analysen ein Post hoc - Tukey - Test durchgeführt sowie  $p < 0.05$  als Signifikanzschwelle definiert (SigmaStat 3.5, Jandel, Deutschland).

## 4.2 Ergebnisse des 2-FDG-Experiments

### 4.2.1 Metabolische Grundaktivität der salinebehandelten ungestressten Kontrollgruppe

In den salinebehandelten ungestressten Kontrolltieren wurden die höchsten metabolischen Aktivitäten in den Mammillarkörpern sowie im medialen Geniculatum gemessen. Präfrontale Cortexbereiche, wie der ventrale und laterale orbifrontale, dorsale anterior cinguläre und prälimbische Cortex, aber auch cortikale Kontrollregionen, wie der somatosensorische und auditorische Cortex zeigten hohe photometrische Dichten. Ähnliche Aktivierungen wie in den zuletzt genannten Gebieten wurden im dorsalen Striatum, Nucleus accumbens, mediodorsalen Kern des Thalamus und im Gyrus dentatus gemessen. Niedrigere photometrische Dichten zeigten die CA1- und CA3-Region des Hippocampus, die basolaterale und laterale Amygdala sowie der infralimbische Cortex (Abb. 36 sowie Anhang A, Tabelle 36, jeweils Spalte SAL-C).

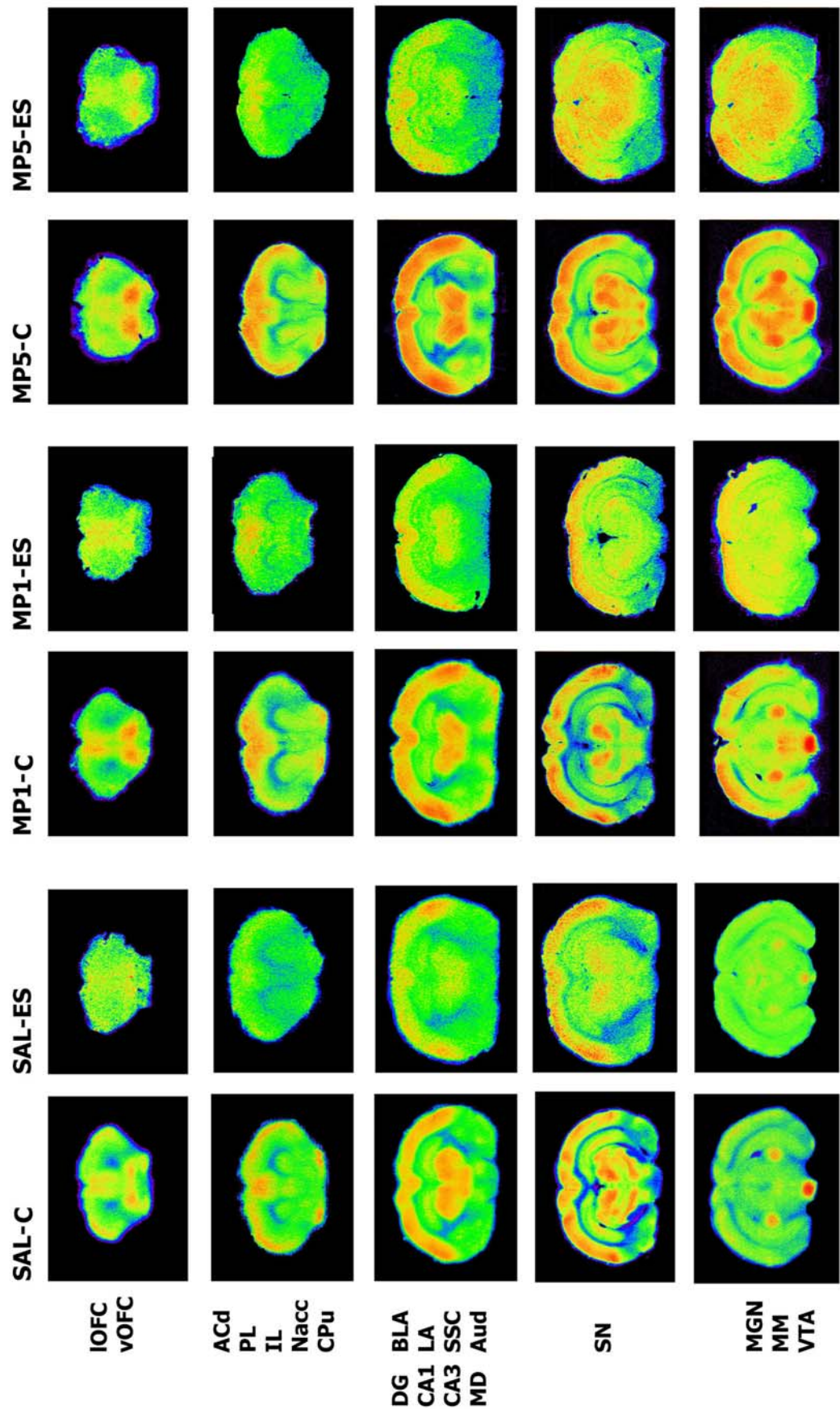


Abb. 36: Frontalschnitte 22tägiger Degus: Repräsentative 2-FDG-Markierungen der 6 experimentellen Gruppen  
 Falschfarbendarstellung der metabolischen Aktivität der einzelnen Gehirngewebe  
 (für eine genauere räumliche Zuordnung der Gehirngewebe vgl. Abb. 35)

#### 4.2.2 Effekte des frühkindlichen Trennungsstresses und/oder Methylphenidat-Behandlung auf die metabolische Gehirnaktivität

Statistische Vergleiche zwischen den experimentellen Gruppen innerhalb der einzelnen Hirngebiete mittels des 3Wege-ANOVA (Faktoren AUFZUCHT x PHARM x HEMI) ergaben signifikante Haupteffekte des Faktors AUFZUCHT mit Ausnahme der CA1- und CA3-Region des Hippocampus in allen analysierten Gehirngebieten (gelb markierte Ergebnisse in der Tabelle 4).

Tabelle 4: Metabolische Aktivität (2-FDG): Hauptfaktoreffekte + Interaktionen der Einzelfaktoren:  
Statistik: Drei Wege ANOVA (\* Mammillarkörper: 2Wege-ANOVA, ohne Faktor Hemisphäre)  
signifikante Hauptfaktor-Effekte: Faktor AUFZUCHT (gelb), Faktor PHARM (blau), signifikante Interaktionen: Faktoren PHARM x AUFZUCHT (grün)

Hirn- gebiet	Drei Wege ANOVA Hauptfaktoren						Drei Wege ANOVA Interaktionen							
	AUFZUCHT		PHARM		HEMI		AUFZUCHT x PHARM		PHARM x HEMI		AUFZUCHT T x HEMI		PHARM x AUFZUCHT T x HEMI	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
vOFC	189.49	<0.001	6.52	0.003	0.05	0.823	0.88	0.422	0.00	0.999	0.10	0.754	0.05	0.949
IOFC	206.99	<0.001	8.34	<0.001	0.27	0.609	1.13	0.330	0.02	0.983	0.10	0.748	0.02	0.977
Acd	98.27	<0.001	8.91	<0.001	0.06	0.815	3.38	0.042	0.00	0.996	0.02	0.896	0.12	0.885
PL	107.73	<0.001	6.24	0.004	0.03	0.857	3.91	0.027	0.10	0.907	0.05	0.819	0.09	0.910
IL	26.97	<0.001	2.96	0.061	0.06	0.801	3.20	0.050	0.00	0.995	0.06	0.809	0.06	0.943
Nacc	164.24	<0.001	5.68	0.006	0.01	0.939	6.13	0.004	0.02	0.979	0.43	0.514	0.04	0.961
Cpu	327.32	<0.001	7.63	0.001	0.05	0.818	3.28	0.046	0.03	0.970	0.44	0.511	0.09	0.913
DG	20.19	<0.001	3.82	0.029	0.13	0.719	0.00	1.000	0.03	0.974	0.26	0.612	0.02	0.978
CA1	3.59	0.064	1.82	0.173	0.09	0.770	0.87	0.427	0.05	0.951	0.01	0.940	0.04	0.961
CA3	1.77	0.190	3.44	0.040	0.01	0.936	0.03	0.969	0.05	0.947	0.18	0.670	0.03	0.975
BLA	55.44	<0.001	6.36	0.004	0.05	0.832	0.93	0.400	0.08	0.919	0.00	0.979	0.07	0.932
LA	48.19	<0.001	4.68	0.014	0.14	0.715	0.18	0.833	0.05	0.949	0.13	0.724	0.02	0.980
TH	44.32	<0.001	20.19	<0.001	0.00	0.997	3.05	0.056	0.01	0.995	0.00	0.994	0.00	0.999
SN	257.05	<0.001	39.21	<0.001	0.38	0.540	13.41	<0.001	0.06	0.940	0.00	0.988	0.04	0.963
VTA	187.06	<0.001	40.14	<0.001	0.00	0.985	3.81	0.029	0.05	0.948	0.05	0.822	0.11	0.894
MM*	113.89	<0.001	1.68	0.208			1.47	0.250						
MGV	174.92	<0.001	12.79	<0.001	0.07	0.791	0.85	0.433	0.02	0.980	0.02	0.878	0.09	0.917
SSC	47.83	<0.001	6.95	0.002	0.01	0.938	4.40	0.018	0.11	0.894	0.12	0.728	0.07	0.931
Aud	79.83	<0.001	1.55	0.223	0.15	0.698	2.01	0.146	0.06	0.938	0.00	0.959	0.01	0.992

Ebenso wurden dosisabhängige Haupteffekte des Faktors (PHARM) für viele untersuchte Hirngebiete festgestellt (blau markierte Ergebnisse in der Tabelle 4). Keine Effekte zeigten

hierbei der IL, CA1, MM und Aud. Signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x PHARM ergaben sich im ACd, IL, PL, Nacc, CPu, SN, VTA und SSC (grün markierte Ergebnisse in der Tabelle 4). In der vorliegenden Studie gab es keine hemisphärespezifischen Aktivitätsunterschiede, da keine signifikanten Haupteffekte des Faktors HEMI gefunden wurden. Weiterhin fehlten Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x HEMI, PHARM x HEMI oder AUFZUCHT x PHARM x HEMI in den untersuchten Hirngebieten. Der nachfolgend angewandte Post hoc Tukey Test ergab folgende Ergebnisse:

#### 4.2.2.1 Effekte des frühkindlichen Trennungstresses auf die metabolische Gehirnaktivität

Unabhängig von der pharmakologischen Behandlung zeigten frühkindlich gestresste, salinebehandelte Jungtiere mit Ausnahme der CA1 und CA3-Region des Hippocampus in allen anderen untersuchten Gehirnregionen geringere photometrische Dichten als die entsprechenden Kontrolltiere. Die frühkindlich gestressten Tiere zeigten damit im Gegensatz zu den ungestresst aufgezogenen Gruppen (s.o.) eine geringere und insgesamt homogenere Aktivierung des Gehirns (vgl. Tabelle 5).

Tabelle 5: Metabolische Aktivität (2-FDG): Haupteffekte des Faktors AUFZUCHT (+ prozentuale Veränderungen), Statistik: Drei Wege ANOVA (\*Mammillarkörper: 2Wege-ANOVA, ohne Faktor Hemisphäre), x: Wert fehlt aufgrund fehlender Interaktionen der Hauptfaktoren

Hirn- gebiet	Drei Wege ANOVA Haupteffekte des Faktors Aufzucht			Hirn- gebiet	Drei Wege ANOVA Haupteffekte des Faktors Aufzucht		
	C vs. ES				C vs. ES		
	q	P	%		q	P	%
vOFC	19.47	<0.001	-25.16	BLA	10.53	<0.001	-16.78
IOFC	20.35	<0.001	-25.68	LA	9.817	<0.001	-14.74
Acid	14.02	<0.001	-15.32	MD	9.415	<0.001	-13.72
PL	14.68	<0.001	-13.86	SN	22.67	<0.001	-29.36
IL	7.344	<0.001	-10.61	VTA	19.34	<0.001	-16.37
Nacc	18.12	<0.001	-17.57	MM*	15.09	<0.001	-32.99
Cpu	25.59	<0.001	-19.57	MGV	18.7	<0.001	-23.02
DG	6.355	<0.001	-9.37	SSC	9.781	<0.001	-11.45
CA1	x	x		Aud	12.64	<0.001	-16.82
CA3	x	x					



#### 4.2.2.2 Effekte der pharmakologischen Behandlung auf die metabolische Gehirnaktivität

Unabhängig von der Aufzuchtform zeigten mit 1 und 5 mg/kg MP behandelte Jungtiere im vOFC, IOFC, ACd, PL, Nacc, CPu, BLA und MD einen signifikanten Anstieg der metabolischen Aktivität. Im MD, in der SN, im VTA und im MGv ist der dosisabhängige Anstieg der Aktivität so stark, dass beide MP-Konzentrationen zu jeweils signifikant verschiedenen Wirkungen führen und sich damit zusätzlich beide MP-Konzentrationen signifikant unterscheiden. Im PL, DG, und der CA3-Region des Hippocampus führt nur MP1, aber nicht MP5 zu einem signifikanten Anstieg der metabolischen Aktivität (vgl. Tabelle 6).

Tabelle 6: Metabolische Aktivität (2-FDG): Haupteffekte des Faktors PHARM (+ prozentuale Veränderungen), Statistik: Drei Wege ANOVA (\* MM: 2Wege-ANOVA, ohne Faktor Hemisphäre), x: Wert fehlt aufgrund fehlender Interaktionen der Hauptfaktoren

Hirn- gebiet	Drei Wege ANOVA Haupteffekte des Faktors PHARM								
	SAL vs. MP1			SAL vs. MP5			MP1 vs. MP5		
	q	P	%	q	P	%	q	P	%
vOFC	4.072	0.006	+7.700	4.705	0.005	+8.994	0.633	0.656	+1.123
IOFC	4.849	0.001	+9.140	5.142	0.002	+9.693	0.293	0.837	+0.507
AcD	5.907	<0.001	+8.979	3.706	0.012	+5.632	2.202	0.126	-3.071
PL	4.983	0.003	+6.381	2.189	0.128	+2.803	2.794	0.054	-3.363
IL	x	x		x	x		x	x	
Nacc	3.909	0.008	+5.277	4.317	0.010	+5.827	0.407	0.775	+0.522
Cpu	4.194	0.005	+4.502	5.211	0.002	+5.594	1.018	0.475	+1.045
DG	3.759	0.028	+7.430	2.815	0.052	+5.564	0.944	0.508	-1.738
CA1	x	x		x	x		x	x	
CA3	3.149	0.031	+6.337	3.271	0.064	+6.582	0.122	0.932	+0.230
BLA	2.867	0.048	+6.469	5.027	0.003	+11.34	2.160	0.133	+4.579
LA	2.492	0.085	+5.178	4.309	0.010	+8.955	1.817	0.205	+3.59
MD	4.917	0.001	+10.34	8.973	<0.001	+18.87	4.056	0.006	+7.732
SN	4.290	0.004	+8.889	12.33	<0.001	+25.56	8.045	<0.001	+15.31
VTA	7.934	<0.001	+9.707	12.52	<0.001	+15.32	4.589	0.002	+5.118
MM*	x	x		x	x		x	x	
MGV	4.091	0.006	+7.443	7.125	<0.001	+12.96	3.034	0.037	+5.137
SSC	2.552	0.077	+4.040	5.271	0.002	+8.344	2.719	0.061	+4.137
Aud	x	x		x	x		x	x	

In den Arealen, in denen ein Post hoc Tukey Test für die Ebene der Interaktionen anwendbar war, konnten direkte Vergleiche zwischen Einzelgruppen durchgeführt werden:

Tabelle 7: Metabolische Aktivität (2-FDG): Ergebnisse des Post hoc tukey Test für Interaktionen der Hauptfaktoren AUFZUCHT x PHARM (+ prozentuale Veränderungen)

	SAL		MP1		MP5		innerhalb C						innerhalb ES					
	C vs. ES		C vs. ES		C vs. ES		SAL vs. MP1		SAL vs. MP5		MP1 vs. MP5		SAL vs. MP1		SAL vs. MP5		MP1 vs. MP5	
	p	%	p	%	p	%	p	%	p	%	p	%	p	%	p	%	p	%
<b>AcD</b>	<0.001	-14	<0.001	-12	<0.001	-20	0.007	+8	0.004	+10	0.585	+1	0.010	+10	0.744	+1	0.008	-8
<b>PL</b>	<0.001	-15	<0.001	-9	<0.001	-18	0.188	+3	0.148	+5	0.571	+1	0.002	+10	0.779	+1	0.002	-9
<b>IL</b>	0.002	-12	0.299	-5	<0.001	-16	0.592	+2	0.227	+6	0.264	+4	0.017	+11	0.636	+2	0.021	-8
<b>Nacc</b>	<0.001	-17	<0.001	-12	<0.001	-23	0.290	+3	0.002	+9	0.011	+6	0.018	+8	0.553	+2	0.030	-6
<b>Cpu</b>	<0.001	-18	<0.001	-18	<0.001	-23	0.043	+4	<0.001	+8	0.042	+4	0.097	+5	0.300	+3	0.290	-2
<b>SN</b>	<0.001	-27	<0.001	-23	<0.001	-36	0.098	+6	<0.001	+33	<0.001	+25	0.012	+13	0.006	+16	0.521	+3
<b>VTA</b>	<0.001	-20	<0.001	-12	<0.001	-18	0.026	+5	<0.001	+14	<0.001	+8	<0.001	+15	<0.001	+17	0.567	+1
<b>SSC</b>	0.007	-9	0.009	-8	<0.001	-17	0.221	+4	<0.001	+13	0.003	+9	0.396	+4	0.407	+3	0.638	-2

Die in den ungestressten, salinebehandelten Kontrolltieren hoch aktivierten Gehirngebiete (vgl. Abschnitt 4.2.1) zeigten in der frühkindlich gestressten salinebehandelten Gruppe wesentlich geringere Aktivitätsstärken. Dopaminerg innervierte Gebiete, wie der ACd (-14%), PL (-15%), IL (-12%), Nacc (-17%), CPu (-18%), SN (-27%), VTA (-20%) zeigten stärkere Unterschiede zwischen den beiden salinebehandelten Gruppen als z.B. die Kontrollregion SSC (-9%, Tabelle 7, Spalte „C vs. ES - SAL“).

- *Frühkindlich gestresste Tiere zeigen im Vergleich zu ungestressten Kontrolltieren während des 2-FDG-Tests in einer unbekannt und damit stressauslösenden Umgebung geringere metabolische Gehirnaktivitäten in fast allen untersuchten Hirngebieten. Dopaminerg innervierte Gebiete zeigten dabei deutliche Aktivitätsunterschiede zwischen Tieren beider Aufzuchtformen.*



#### 4.2.2.2.1 Effekte der pharmakologischen Behandlung bei Kontrolltieren

Innerhalb der ungestressten Untersuchungsgruppen zeigten die mit 1mg/kg MP behandelten Tiere nur im ACd (+8%), im CPu (+4%) und im VTA (+5%) signifikant höhere photometrische Dichten als die salinebehandelte Kontrollgruppe. Interessant ist hierbei der vergleichsweise stärkere prozentuale Anstieg der Aktivität im präfrontalen Bereich. Die Behandlung mit 5mg/kg MP führte zu einem stärkeren Anstieg der metabolischen Aktivität, wobei hier signifikante Effekte im ACd (+10%), im Nacc (+9%), im CPu (+8%), in der SN (+33%), im VTA (+14%) und im SSC (+13%) ermittelt wurden. Signifikante Unterschiede zwischen der MP1- und MP5-Dosis ergaben sich für den Nacc (+6%) und CPu (+4%), die SN (+25%) und VTA (+8%) sowie den SSC (+9%). Die SN zeigte damit den höchsten dosisabhängigen Anstieg der metabolischen Aktivität bei einer Behandlung mit MP (Tabelle 7, Spalten „innerhalb C“).

- *Eine akute MP-Gabe führt bei unbehandelten Kontrolltieren zu einem regionsspezifischen, dosisabhängigen Anstieg der metabolischen Aktivität.*
- *In nur drei Gehirngebieten (ACd, CPu, VTA) zeigte sich schon bei der geringen MP-Dosis ein signifikanter Aktivitätsanstieg. Bei einer Behandlung mit 5 mg/kg MP waren mehr Gehirngebiete signifikant aktiviert (vgl. Tabelle 7, Spalten „innerhalb C“)*

#### 4.2.2.2.2 Effekte der pharmakologischen Behandlung bei frühkindlich gestressten Tieren

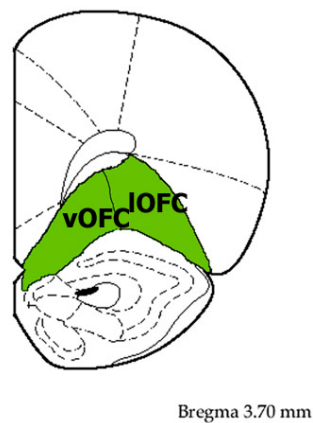
Im Unterschied zu den ungestresst aufgezogenen Kontrollgruppen, bei denen die höchste metabolische Aktivität bei 5mg/kg MP nachzuweisen war (siehe 4.2.2.2.1) ergab sich bei den frühkindlich gestressten Tieren ein anderes Bild: Die stärkste Aktivierung im Vergleich zu salinebehandelten frühkindlich gestressten Tieren ergab sich hier im ACd (+10%), PL (+10%), IL (+11%) und Nacc (+8%), interessanterweise bei der mit 1mg/kg MP behandelten Gruppe. In den genannten präfrontalen Gebieten führte die Behandlung mit 1mg/kg MP tendenziell zu photometrischen Dichten, die denen der salinebehandelten ungestressten Kontrollgruppe vergleichbar sind und im IL sogar zu einem Ausgleich der Folgen des frühkindlichen Stresses (keine signifikante Differenz zwischen MP1-C und MP1-ES (Tabelle 7, Spalte MP1, C vs.ES). Eine Behandlung frühkindlich gestresster Tiere mit 5mg/kg MP führte hingegen in diesen Hirngebieten zu keiner Veränderung der metabolischen Aktivität im Vergleich zu den salinebehandelten Kontrolltieren. Jedoch führte die Behandlung mit MP5 im Vergleich zu den MP1 behandelten Tieren im ACd (-8%), PL (-9%), IL(-8%) und Nacc (-6%) zu signifikant

niedrigeren Grauwerten. In der SN und VTA ergab sich hingegen eine vergleichbare Erhöhung der metabolischen Aktivität nach einer Behandlung mit 1 und 5mg/kg MP. Die Behandlung mit 1mg/kg MP führte zu einem Anstieg um 13% in der SN und 15% im VTA, eine Behandlung mit 5mg/kg MP zu einem Anstieg um 16% in der SN und 17% im VTA (Tabelle 7, Spalten „innerhalb ES“).

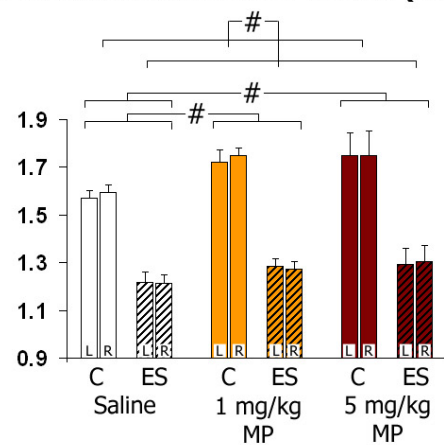
- Eine Behandlung mit 1 mg/kg MP führt bei frühkindlich gestressten Tieren zu einem starken Anstieg der metabolischen Aktivität im ACd, PL, IL und Nacc, wogegen 5mg/kg MP dort zu einem weniger ausgeprägten Anstieg führte. Frühkindlich gestresste Tiere reagieren damit in diesen Gehirngebieten anders auf die pharmakologische Behandlung als Kontrolltiere (vgl. Tabelle 7). In den Mittelhirngebieten SN und VTA zeigten beide MP-Konzentrationen vergleichbare Effekte.

Die beschriebenen Ergebnisse der 2-FDG-Studie sind nun zur besseren Übersicht grafisch dargestellt.

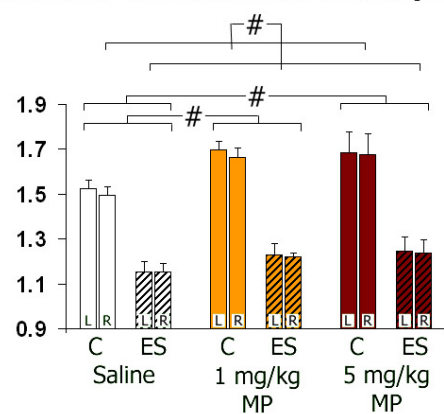
Abb. 37: Metabolische Aktivität (2-FDG) des ventralen und lateralen orbitofrontalen Cortex  
Mittlere photometrische Dichte (Grauwerte, relativ zum C. call. ± SEM, (L/R: linke/rechte Hemisphäre)  
(Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : # für Hauptfaktoreffekte, Post hoc Tukey-Test) ♂



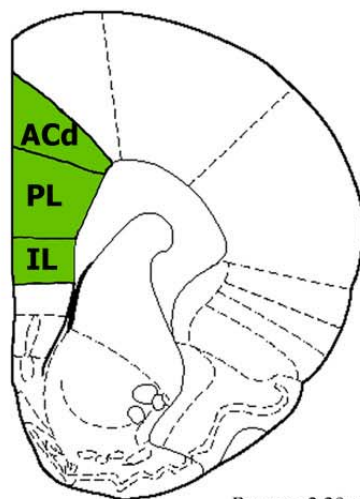
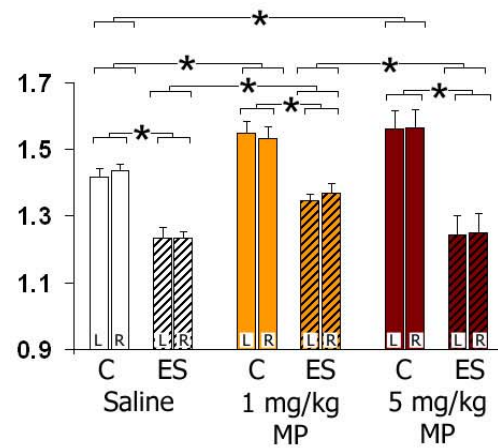
### Ventraler orbitofrontaler Cortex (vOFC)



### Lateraler orbitofrontaler Cortex (lOFC)

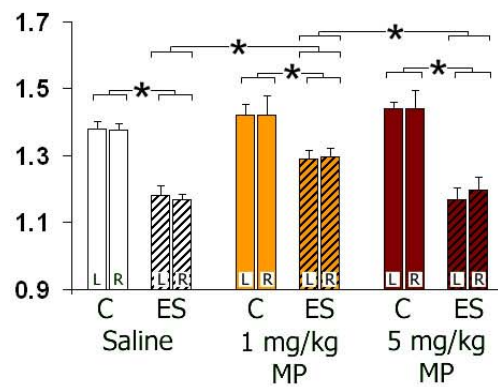


### Anterior cingulärer Cortex (ACd)



Bregma 2.20 mm

### Prälimbischer Cortex (PL)



### Infralimbischer Cortex (IL)

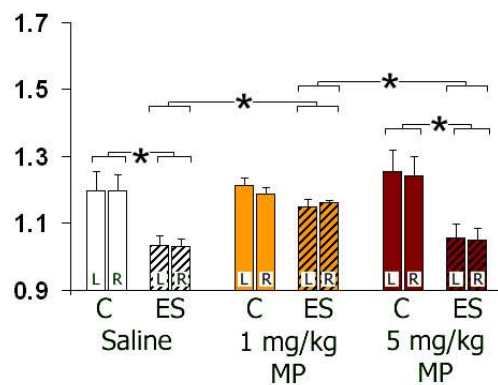
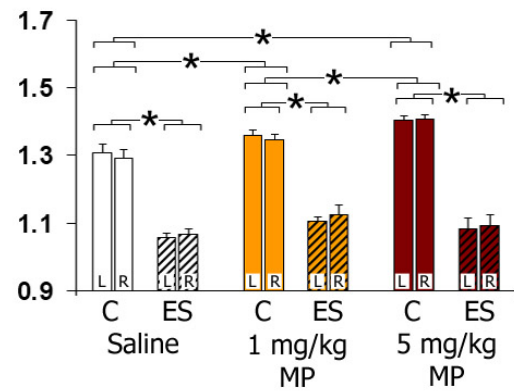
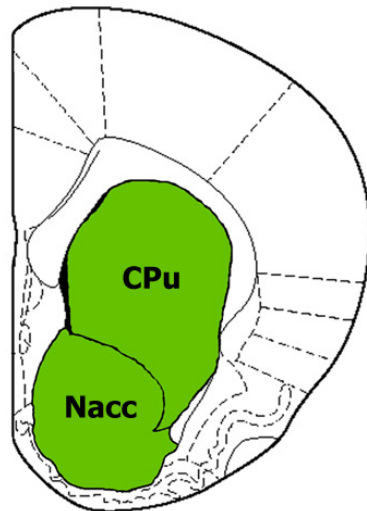


Abb. 38: Metabolische Aktivität (2-FDG) des anterior cingulären, prä- und infralimbischen Cortex. Mittlere photometrische Dichte (Grauwerte, relativ zum C. call.  $\pm$  SEM, L/R: linke/rechte Hemisphäre) (Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test) ♂

**Striatum (Caudatum+Putamen, CPu)**



**Nucleus accumbens (Nacc)**

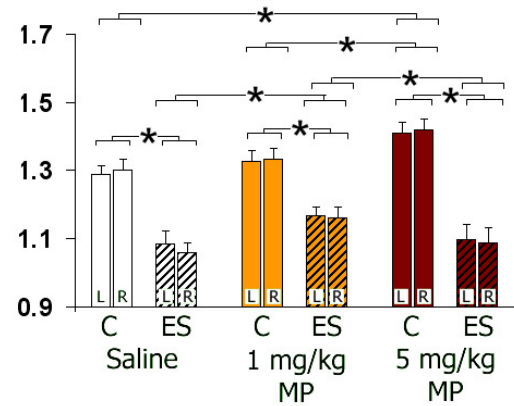
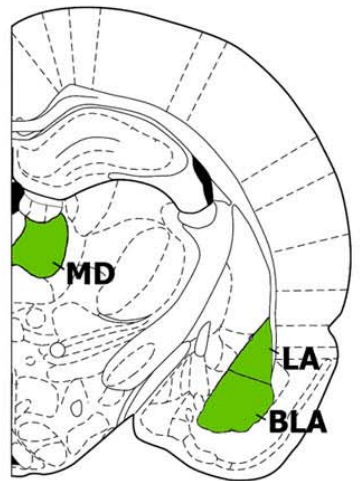
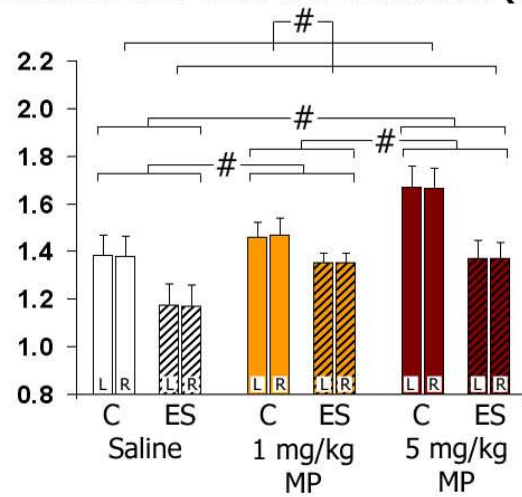


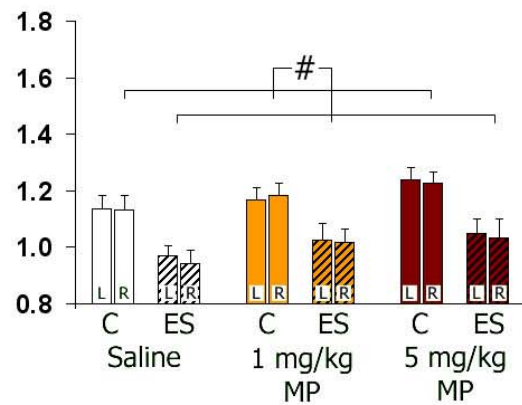
Abb. 39: Metabolische Aktivität (2-FDG) der Basalganglien Nacc und CPu  
 Mittlere photometrische Dichte (Grauwerte, relativ zum C. call. ± SEM, L/R: linke/rechte Hemisphäre)  
 (Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test) ♂

### Mediodorsaler Kern des Thalamus (MD)



Bregma -3.14 mm

### Laterale Amygdala (LA)



### Basolaterale Amygdala (BLA)

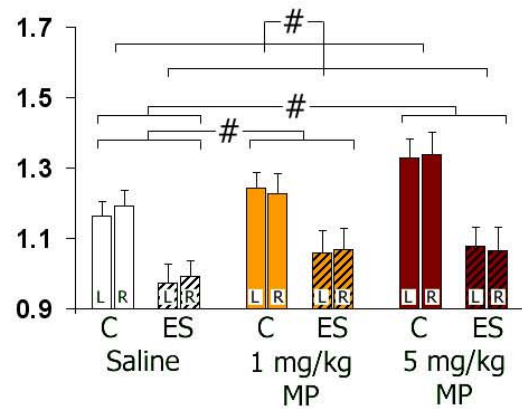
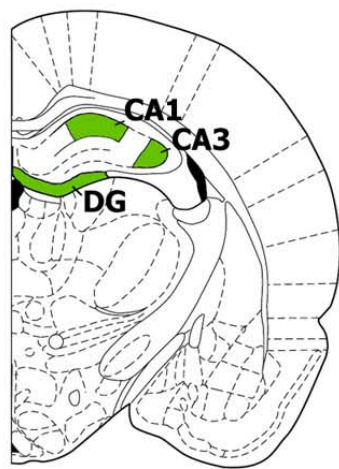
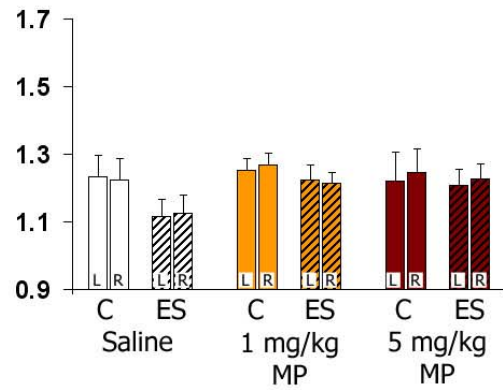


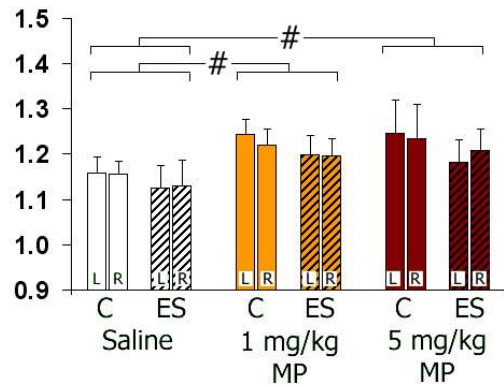
Abb. 40: Metabolische Aktivität (2-FDG) des mediodorsalen Kerns des Thalamus + der lateralen und basolateralen Amygdala  
 Mittlere photometrische Dichte (Grauwerte, relativ zum C. call.  $\pm$  SEM, L/R: linke/rechte Hemisphäre)  
 (Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte, Post hoc Tukey-Test) ♂

### CA1-Region des Hippocampus (CA1)



Bregma -3.14 mm

### CA3-Region des Hippocampus (CA3)



### Gyrus dentatus (DG)

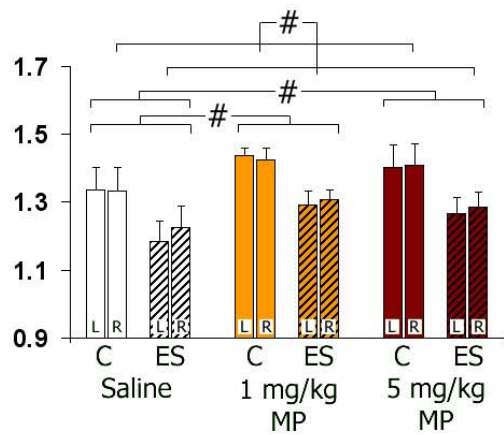


Abb. 41: Metabolische Aktivität (2-FDG) des Gyrus dentatus (DG), sowie der Cornu Ammonis Region1 (CA1) und Region3 (CA3) des Hippocampus. Mittlere photometrische Dichte (Grauwerte, relativ zum C. call.  $\pm$  SEM, L/R: linke/rechte Hemisphäre) (Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte, Post hoc Tukey-Test) ♂

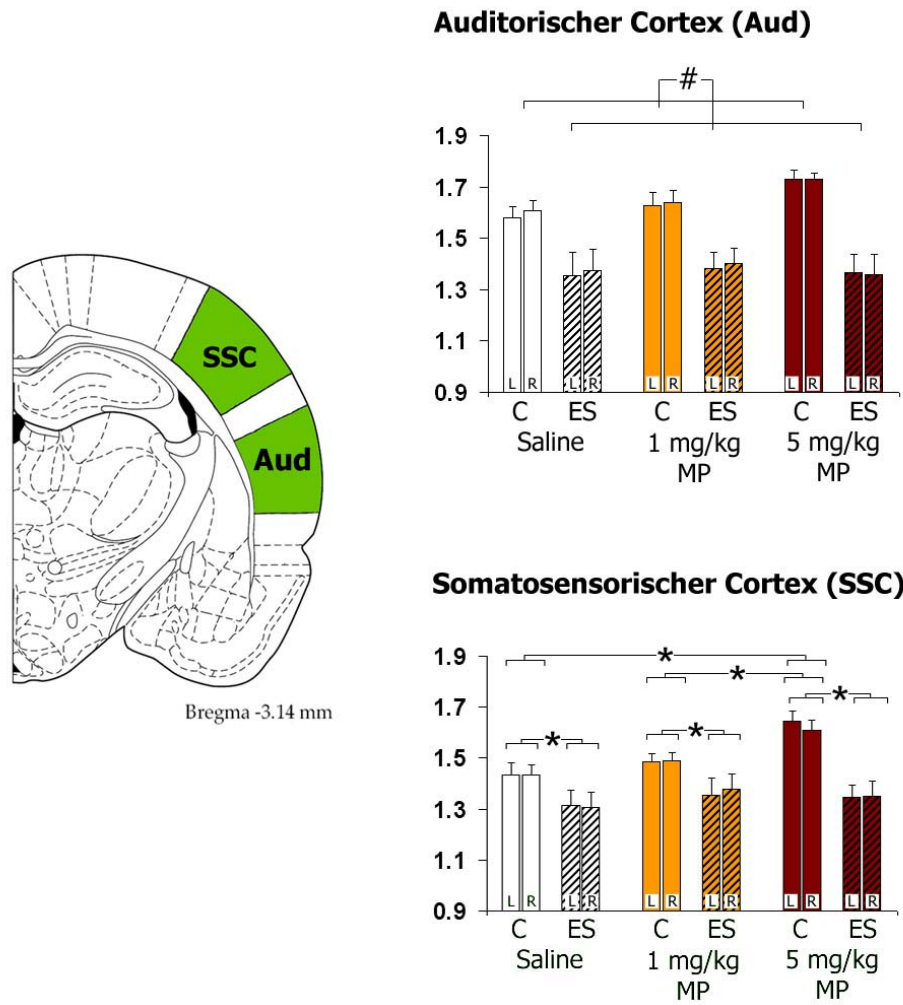


Abb. 42: Metabolische Aktivität (2-FDG) des somatosensorischen und auditorischen Cortex  
 Mittlere photometrische Dichte (Grauwerte, relativ zum C. call.  $\pm$  SEM, L/R: linke/rechte Hemisphäre)  
 (Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte, \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test) ♂

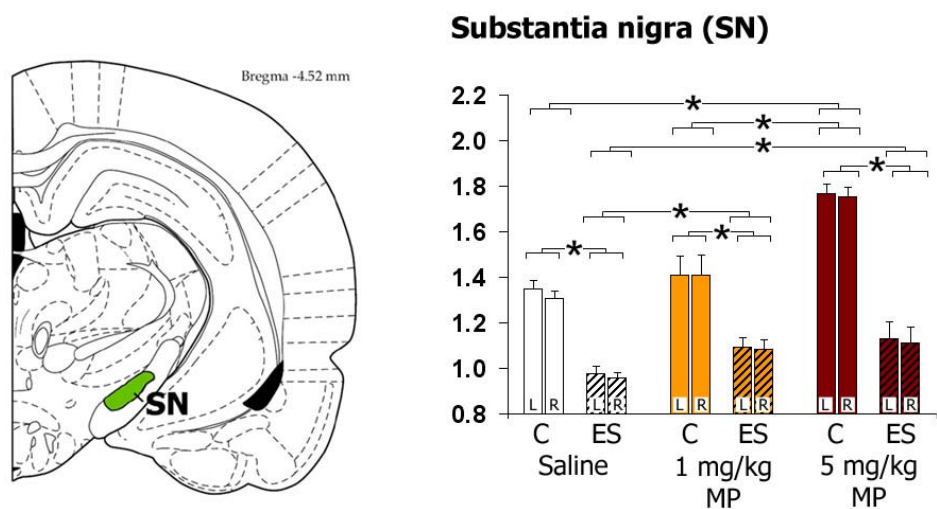
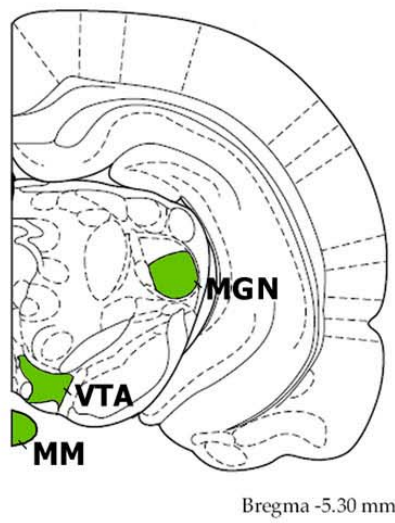
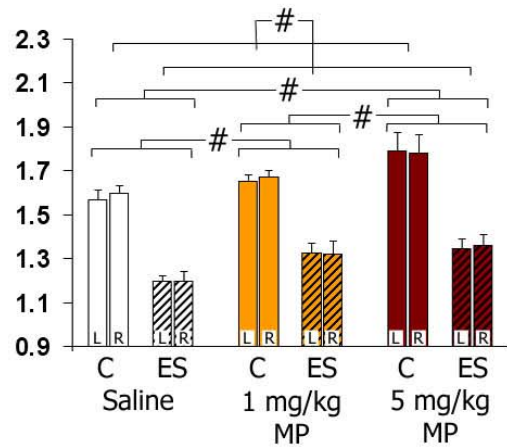


Abb. 43: Metabolische Aktivität (2-FDG) der Substantia nigra  
 Mittlere photometrische Dichte (Grauwerte, relativ zum C. call.  $\pm$  SEM, L/R: linke/rechte Hemisphäre)  
 (Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test) ♂

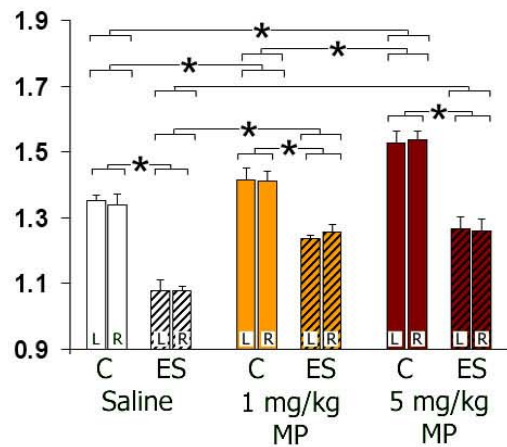




### Mediales Geniculatum (MGN)



### Ventrales tegmentales Areal (VTA)



### Mammillarkörper (MM)

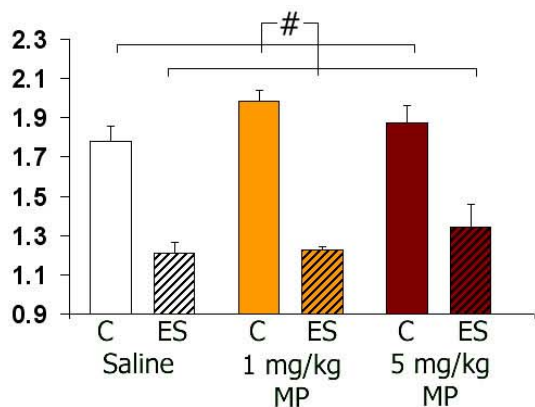


Abb. 44: Metabolische Aktivität (2-FDG) des Medialen Geniculatum, des ventralen tegmentalen Areals sowie der Mammillarkörper  
 Mittlere photometrische Dichte (Grauwerte, relativ zum C. call.  $\pm$  SEM, L/R: linke/rechte Hemisphäre)  
 (Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte, \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test) ♂



## 5 Histologische Untersuchungen

### 5.1 Allgemeine Einführung (Golgi-Cox-Methode)

Mit Hilfe der Golgi-Cox Methode können synaptische Veränderungen an Neuronen verschiedenster Hirnregionen analysiert werden. In unserer Arbeitsgruppe wurde diese seit längerer Zeit etablierte Methode in mehreren Studien erfolgreich angewandt (vgl. z.B. Bock & Braun, 1999a; Bock & Braun, 1999b; Poeggel et al., 2003a).

Die Golgi-Cox Methode ist eine der ältesten metallischen Färbungen, die in der Neurohistologie angewandt wird. Sie wurde im Jahre 1873 nach zufälliger Entdeckung durch Camillo Golgi beschrieben und einige Jahre später durch Cox weiterentwickelt. Die Färbung von neuronalem Gewebe mit einer Mischung aus Kaliumbichromat und Quecksilberchlorid (Methode nach Cox) entsteht durch metallische Quecksilberniederschläge sowie komplexe Quecksilberoxide in den Neuronen.

Die Methode ist zur Analyse von Nervenzellen geeignet, da

- nur wenige Nervenzellen angefärbt werden (kein Färbungsgradient – d.h. Färbung entweder deutlich vorhanden oder vollkommen fehlend)
- Soma, Dendriten und Axon einer Zelle, wenn einmal gefärbt, sehr deutlich markiert sind und sich deutlich von ungefärbten Zellen und dem sonstigen Hintergrund abheben.

Durch diese Eigenschaften ist die Auswertung der Morphologie von Einzelneuronen möglich, da das bisher nicht geklärte Phänomen der Anfärbung von nur wenigen Einzelneuronen diese Zellen optisch vom dichten Neuronennetzwerk abhebt und so vor dem Hintergrund der ungefärbten Nachbarneurone morphologisch auswertbar macht.

### 5.2 Versuchsaufbau und experimentelle Gruppen

Für die vorliegende Golgi-Cox-Studie wurden Tiere verwendet, an denen die Verhaltensuntersuchungen im Standard - Open Field an PND 22 und PND 45 durchgeführt wurde. Sie wurden also entweder von PND1 – 21 täglich 1h frühkindlich gestresst (ES) bzw. als Kontrolltiere gehalten (C) und von PND 22 – 45 tägl. mit 0.2µl Saline, 1 oder 5mg/kg MP-Lösung behandelt (siehe 2.2 (Aufzuchtgruppen) und 2.3 (pharmakologische Gruppen)).

Tabelle 8: Golgi-Cox-Staining - Experimentelle Gruppen ♂

Aufzuchtbedingung	Pharmakol. Behandlung	Anzahl Tiere (n)	Anzahl Würfe
Trennungsstress (ES)	Saline	4	4
	1 mg/kg MP	4	4
	5 mg/kg MP	4	4
Kontrolltiere (C)	Saline	4	4
	1 mg/kg MP	4	4
	5 mg/kg MP	4	4

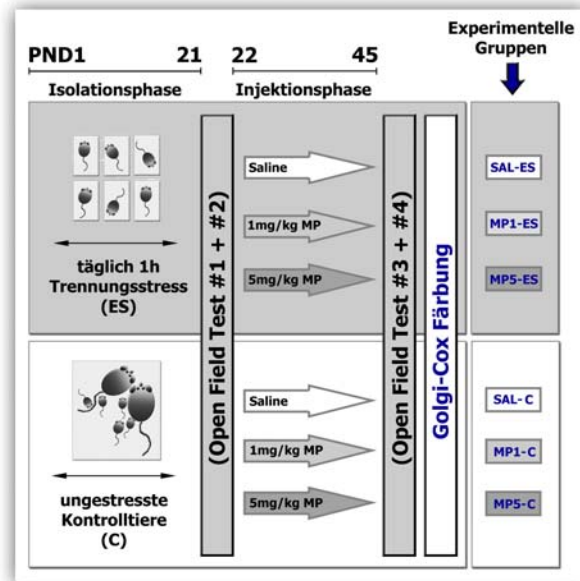


Abb. 45: Golgi-Cox-Untersuchung: Versuchsaufbau und experimentelle Gruppen ♂

### 5.3 Präparation und histologische Aufarbeitung der Gehirne

Am PND46, d.h. 24 Stunden nach der letzten Injektion wurden die Tiere eines Wurfes gemeinsam dem Heimkäfig entnommen und dekapitiert. Nach der möglichst schnellen Präparation wurden die Gehirne in Golgi-Lösung enthaltende, lichtdichte Flaschen überführt und nach mehreren Dehydrierungsschritten in 8% Celloidin eingebettet. In diesem Zustand sind die fixierten Gehirne bei 8°C gekühlt über mehrere Monate haltbar.

Von insgesamt vier Gehirnen von Tieren vier verschiedener Versuchsgruppen wurden jeweils im gleichen Arbeitsgang serielle Frontalschnitte (150µm) des Präfrontalcortex angefertigt und mit einem modifizierten Protokoll der Golgimethode nach (Glaser & Van der Loos, 1981) gefärbt, entwickelt und auf Objektträgern zur weiteren Auswertung fixiert (siehe Anhang C). Je nach Stärke der Färbung sind diese Präparate noch nach einem Zeitraum von drei Monaten bis zu zwei Jahren auswertbar.

### 5.4 Analyse und Auswertung Golgi – Cox gefärbter Neurone

In der vorliegenden Studie wurden Untersuchungen zur Morphologie von Pyramidenzellen der Schicht II/III des dorsalen anterioren cingulären Cortex (ACd, Abb. 46C) durchgeführt. Der ACd wurde dabei in Übereinstimmung mit Uylings et al., 2003 und Krettek & Price, 1977 definiert (Abb. 46A-B) und entspricht der Cg1-Region in Zilles, 1995; Paxinos & Watson, 1998.

Neuronen der vorliegenden Studie mussten folgenden Kriterien entsprechen:

- Der Zellkörper des zu untersuchenden Neurons muss in Schicht II/III und innerhalb der oben definierten Grenzen des ACd positioniert sein,
- das Neuron sollte komplett und deutlich gefärbte Apikal- und Basaldendriten zeigen,
- vor allem der Apikaldendrit sollte mehrere Ebenen gleichmäßiger Bifurkationen aufweisen. Neuronen mit längeren Apikaldendriten und davon abgehenden kleineren Abzweigungen (oblique dendrites), die tiefer in Schicht III auftraten, wurden nicht in die Auswertung einbezogen (vgl. Bock, 1998).

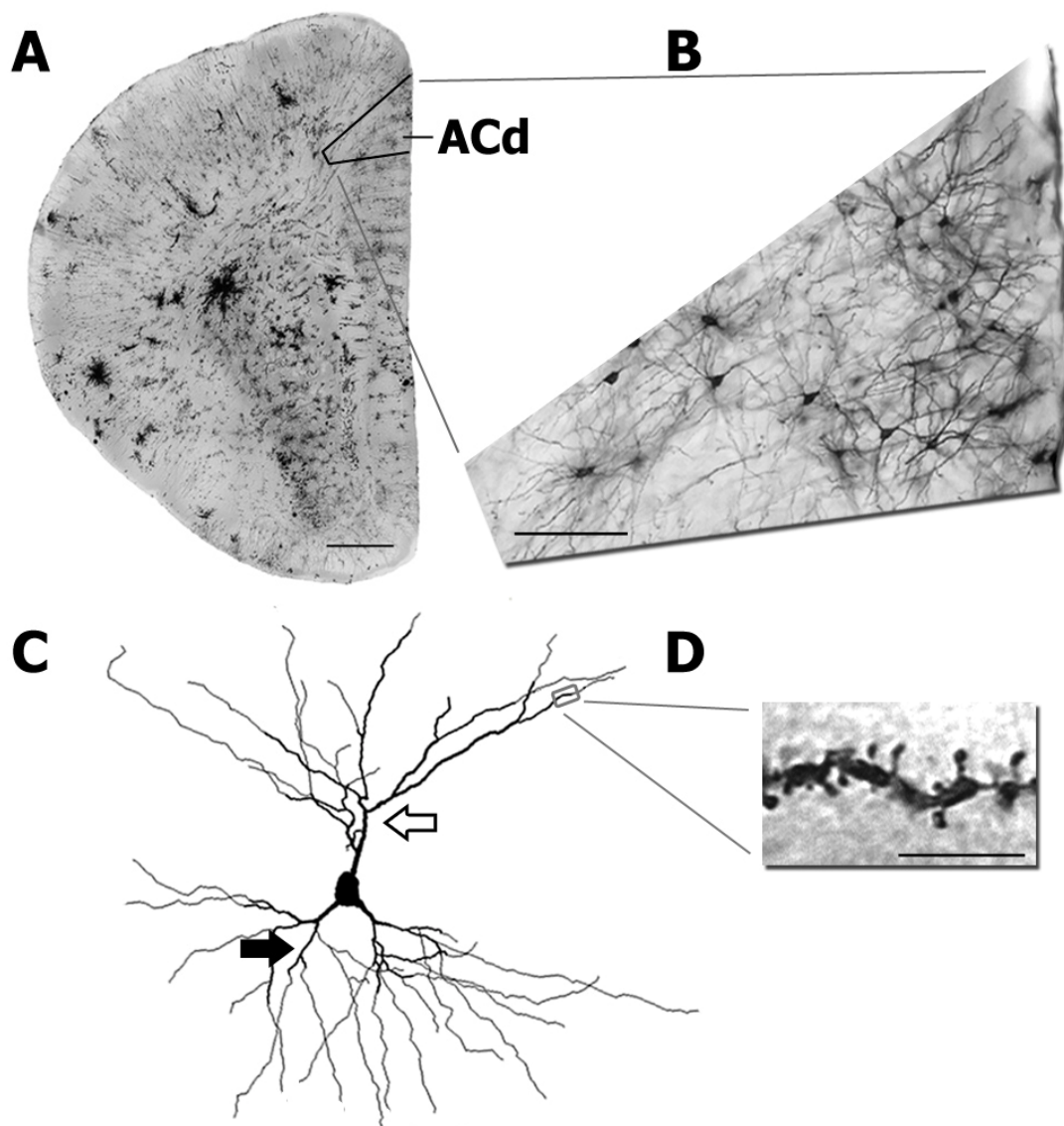


Abb. 46: Histologische Untersuchung (Golgi-Cox-Methode)  
A,B: ACd: anterior cingulärer Cortex (ACd), Golgi-Cox Färbung  
C: NeuroLucida-Grafik eines Golgi-Cox gefärbten Neurons der Schicht II – III des ACd (weiße Pfeile deuten auf Apikal-, schwarze auf Basaldendriten), D: Segment eines Apikaldendriten mit Spines,  
Messbalken entsprechen (A) 1000µm, (B) 100 µm, (C) 20µm, (D) 5µm

Alle ausgewählten Neurone wurden mithilfe eines computerbasierten Analysesystems (NEUROLUCIDA®; MicroBrightField, Williston, VT, USA) analysiert, welches eine dreidimensionale quantitative Auswertung ganzer Neuronen ermöglicht. Die Dendritenlängen wurden durch das rechnergestützte Nachzeichnen des gesamten sichtbaren apikalen sowie zweier basaler Dendritenbäume ermittelt. Zur Analyse der Spinefrequenzen hingegen wurden jeweils ein Dendritenabzweig mit all den daran vorhandenen sichtbaren Spines in seiner gesamten Länge vom Beginn am Zellkörper bis zur Spitze analysiert (vgl. Abb. 47).

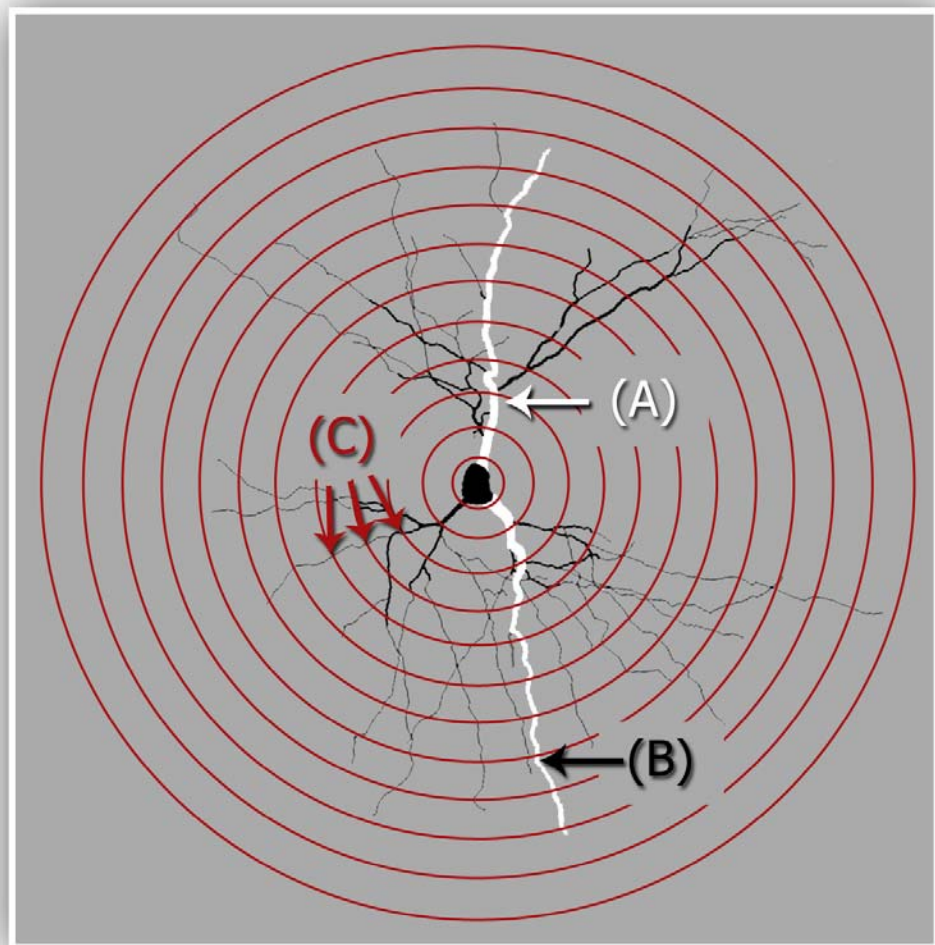


Abb. 47: Analyse und Auswertung Golgi – Cox gefärbter Neurone  
A: Apikaldendrit, B: Basaldendrit, C: Schnittpunkte mit Sholl-Ringen (rot)

Nur Spines des „Mushroomtyps“ (mit klar abgrenzbarem Hals- und Kopfbereich) sowie sogenannte „stubby spines“ (kleinere Verdickungen ohne Hals) gingen in die Berechnung der Spinefrequenz (Anzahl Spines je 10µm Dendritenabschnitt) ein. Eine Korrektur des Ergebnisses durch die Addition potentiell verdeckter Spines (siehe Feldman & Peters, 1979) wurde nicht durchgeführt, da auch die alleinige Auswertung der sichtbaren Spines ausreichend für den Vergleich verschiedener experimenteller Bedingungen ist (Horner & Arbuthnott, 1991).

Zusätzlich zur beschriebenen Erfassung und Auswertung der Gesamtlängen und Gesamtspinefrequenzen der Dendriten ermöglicht das NeuroLucidasystem zudem Aussagen zu Längen und Spinefrequenzen der einzelnen Verzweigungsordnungen sowie die Durchführung einer dreidimensionalen Version der Shollanalyse (Sholl, 1953), die Daten zur Komplexität von Neuronen liefert. Bei der Shollanalyse wird die Anzahl von Schnittpunkten mit virtuellen, konzentrisch um den Mittelpunkt des Zellkörpers angeordneten Sphären ermittelt (vgl. Abb. 47C). Bei der vorliegenden Analyse wurden für die Sholl-Sphären 20µm-Intervalle gewählt, die in 10µm Abstand vom Mittelpunkt des Zellkörpers beginnen.

## 5.5 Statistik

Jede experimentelle Gruppe bestand aus vier männlichen Tieren (n=4), bei denen jeweils vier Neurone pro Hemisphäre analysiert wurden. Bei jedem Tier wurden Mittelwerte der einzelnen Parameter aus allen analysierten Neuronen einer Hemisphäre gebildet.

Für alle Analysen wurde ein 3Wege-ANOVA (Faktor Aufzuchtbedingung (AUFZUCHT) x Faktor pharmakologische Behandlung (PHARM) x Hemisphäre (HEMI)) mit anschließendem Post hoc Tukey Test und einer bei  $p < 0.05$  liegender Signifikanzschwelle angewendet (SigmaStat 3.5, Jandel, Deutschland).

## 5.6 Ergebnisse der histologischen Untersuchungen:

Die histologischen Untersuchungen mittels Golgi-Cox-Färbung hatten zum Ziel, a) den Einfluss von frühkindlichem Stress auf die neuronale Morphologie und Synapsendichte von Pyramidenzellen der Schicht II/III des ACd sowie b) den Einfluss einer anschließenden chronischen Behandlung mit MP während der Präpubertätsphase bei ungestressten und gestressten Tieren zu analysieren.

Die nachfolgend dargestellten Ergebnisse dieser Studie wurden bereits veröffentlicht (Zehle et al., 2007).

### 5.6.1 Dendritenlänge

Für den Parameter Dendritenlänge ergab der 3Wege-ANOVA signifikante Haupteffekte des Faktors PHARM für apikale ( $F=9.580$ ,  $p < 0.001$ ) und basale ( $F=13.196$ ,  $p < 0.001$ ) Dendriten (Abb. 48A,B). Eine chronische Behandlung mit MP führt also unabhängig von der Aufzuchtform zu einer Verlängerung der Apikal- und Basaldendriten. Für den Faktor AUFZUCHT wurden keine signifikanten Effekte ermittelt. Frühkindlicher Trennungsstress allein führt also nicht zu einer Induktion von Dendritenlängenveränderungen. Zusätzlich

ergaben sich weder signifikante Effekte des Faktors HEMI, noch Interaktionen der Faktoren PHARM x HEMI, AUFZUCHT x HEMI sowie AUFZUCHT x PHARM x HEMI.

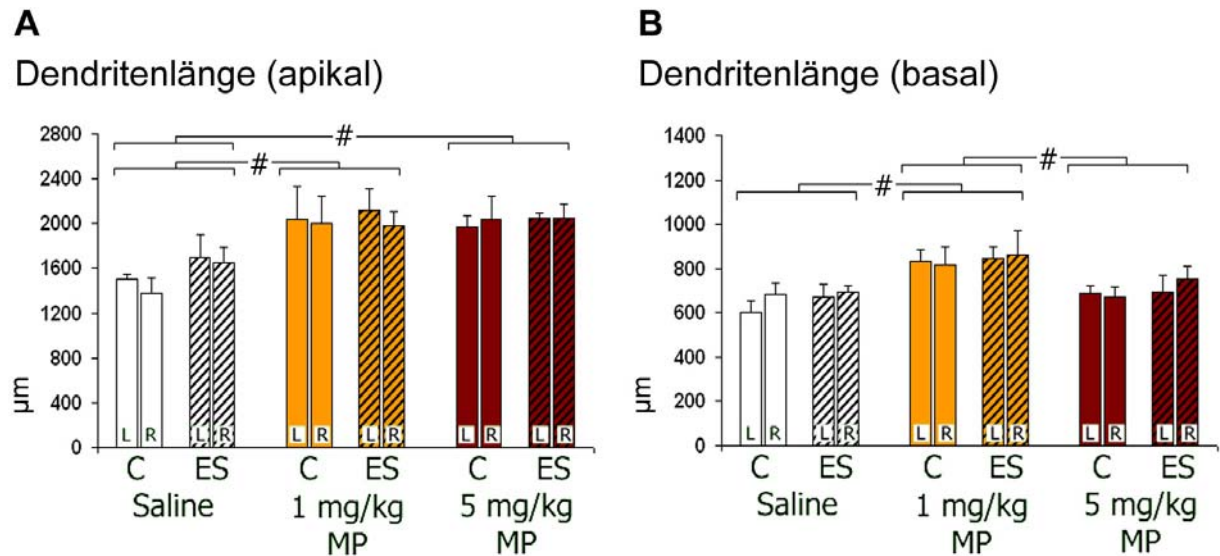


Abb. 48: Effekte des frühkindlichen Trennungsstresses und MP-Behandlung auf die Dendritenlängen von Schicht II/III-Pyramidenzellen des ACd: (L/R: linke/rechte Hemisphäre, Mittelwerte± SEM, Drei-Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte bzw. \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test) ♂

Der Post hoc tukey Test ergab für die Apikaldendriten eine signifikante Erhöhung der Dendritenlänge nach einer chronischen Behandlung mit MP1 (+31.0 %,  $p < 0.05$ ) und MP5 (+30.5 %,  $p < 0.05$ , (Abb. 48A, Abb. 49) im Vergleich zu den salinebehandelten Gruppen. Ebenso wurden für die Basaldendriten ungestresster und frühkindlich gestresster Tiere (Abb. 48B, Abb. 49) höhere Dendritenlängen nach einer Behandlung mit 1mg/kg MP nachgewiesen (+29.5%,  $p < 0.05$ ).

Eine Behandlung mit 5mg/kg MP führte hingegen im Vergleich zu den salinebehandelten Tieren nicht zu einer Verlängerung der Basaldendritenlänge (Abb. 48B), diese Dendriten blieben auf dem Niveau der salinebehandelten Gruppen. Die mit 5 mg/kg MP behandelten Gruppen wiesen damit signifikant kürzere Basaldendriten auf, als die mit 1 mg/kg MP behandelten Tiere (-16.5%,  $p < 0.05$ ).

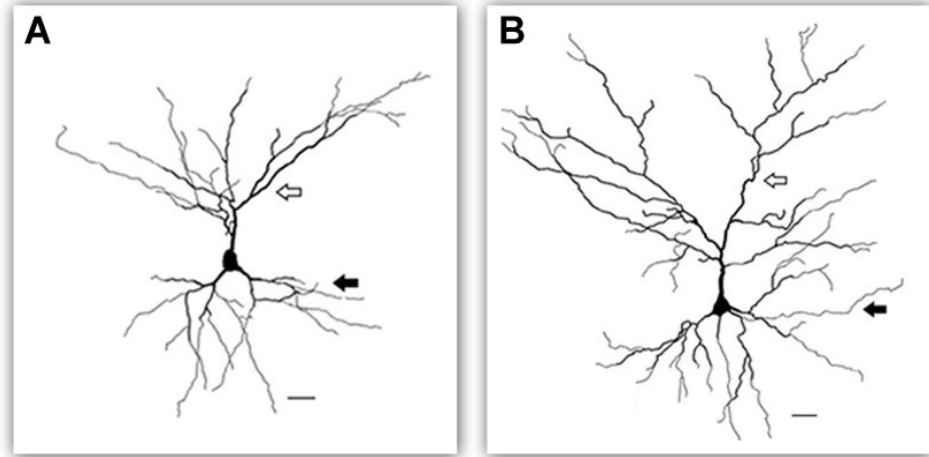


Abb. 49: Neurolucida-Zeichnungen repräsentativer Pyramidenzellen von (A) mit Saline- und (B) mit 1 mg/kg Methylphenidat behandelten ungestressten Kontrolltieren (weiße Pfeile deuten auf Apikal-, schwarze auf Basaldendriten, Maßbalken entspricht 20µm)

- *Eine chronische Behandlung mit 1 mg/kg MP führt in beiden Aufzuchtgruppen (C/ES) zu einer Verlängerung der Apikal- und Basaldendriten (vgl. Abb. 49). Die Behandlung mit 5 mg/kg MP führt hingegen zu einer Verlängerung der Apikal- aber nicht der Basaldendriten.*

## 5.6.2 Zellkomplexität

### 5.6.2.1 Shollanalyse über die Gesamtanzahl der Shollsphärenschnittpunkte

Für den Parameter Zellkomplexität, gemessen als Gesamtanzahl der Shollsphärenschnittpunkte (vgl. Abb. 47C), ergab der 3Wege-ANOVA signifikante Haupteffekte des Faktors AUFZUCHT für apikale ( $F=5.766$ ,  $p=0.017$ ) und basale ( $F=6.815$ ,  $p=0.01$ ) Dendriten. (Abb. 50A,B). Frühkindlicher Trennungstress führt also unabhängig von der pharmakologischen Behandlung zu einer Erhöhung der Zellkomplexität.

Für den Faktor PHARM wurden ebenfalls signifikante Hauptfaktor-Effekte für Apikal- ( $F=13.033$ ,  $p<0.001$ ) und Basaldendriten ( $F=17.113$ ,  $p<0.001$ ) nachgewiesen. Eine chronische Behandlung mit MP führt also unabhängig von der Aufzuchtform zu höherer Komplexität der Apikal- (+29.3%,  $p<0.05$ ) und Basaldendriten (+19.1%,  $p<0.05$ , Abb. 50B). Es ergaben sich weder signifikante Effekte des Faktors HEMI noch Interaktionen der Faktoren PHARM x HEMI, AUFZUCHT x HEMI sowie AUFZUCHT x PHARM x HEMI.

Eine chronische Behandlung mit 1 mg/kg MP führt demnach unabhängig von der frühkindlichen Stresserfahrung zu dosisabhängigen Veränderungen der Zellkomplexität.



Die Apikaldendriten der beiden mit 1 mg/kg MP behandelten Gruppen zeigten eine signifikant höhere dendritische Komplexität als jeweils beide salinebehandelten (+33.0%,  $p < 0.05$ ) und die mit 5 mg/kg MP behandelten Gruppen (+30.8%  $p < 0.05$ ). Die salinebehandelten Gruppen unterschieden sich nicht signifikant von den 5 mg/kg MP behandelten Gruppen (Abb. 50A).

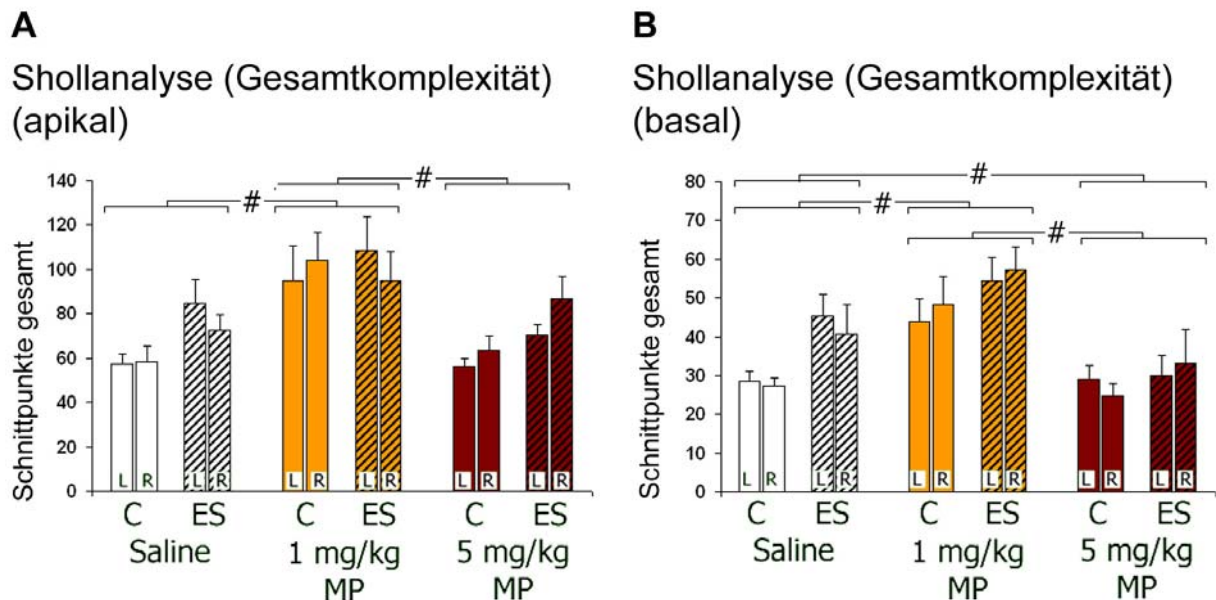


Abb. 50: Effekte des frühkindlichen Trennungsstresses und MP-Behandlung auf die Zellkomplexität von Schicht II/III-Pyramidenzellen des ACd: (L/R: linke/rechte Hemisphäre, Mittelwerte  $\pm$  SEM, Drei-Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte bzw. \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test) ♂

Auch in den Basaldendriten induzierte die Behandlung mit 1 mg/kg MP eine erhöhte dendritische Komplexität im Vergleich zu den salinebehandelten (+30.3%  $p < 0.05$ ) und MP5 behandelten Gruppen (+42.4%  $p < 0.05$ ). Die MP5 behandelten Gruppen zeigten hingegen eine verringerte dendritische Komplexität als die salinebehandelten Gruppen (-21.1%,  $p < 0.05$ , Abb. 50B).

- Eine chronische Behandlung mit 1 mg/kg MP führt in beiden Aufzuchtgruppen (C/ES) im Vergleich zu den salinebehandelten Gruppen zu einer Erhöhung der Komplexität der Apikal- und Basaldendriten (vgl. Abb. 50). Die Behandlung mit 5 mg/kg MP führt im Vergleich zu den salinebehandelten Gruppen in den Apikaldendriten zu keiner Änderung, in den Basaldendriten hingegen zu einer Verringerung der Komplexität der Zellen.



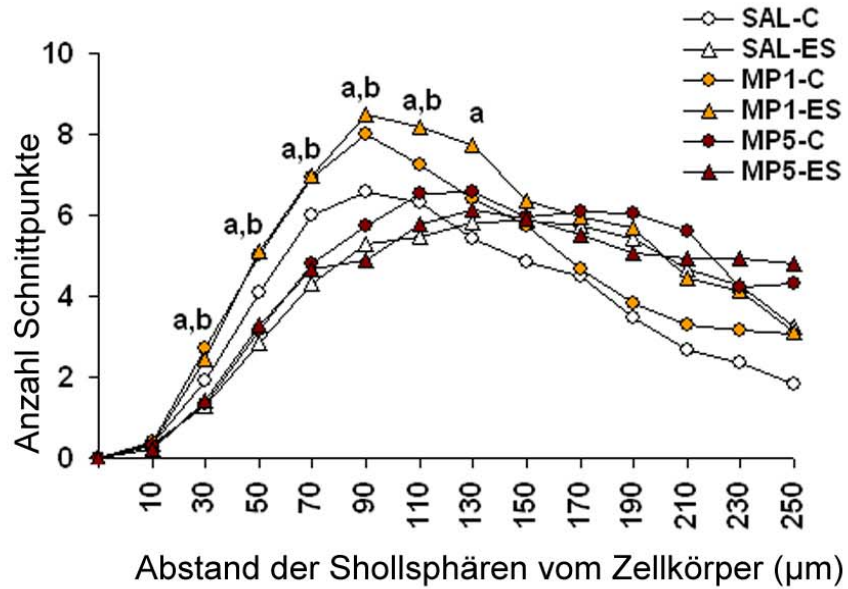
### 5.6.2.2 Shollanalyse über die Anzahl der Schnittpunkte mit Einzelhollsphären

Zur genaueren Beschreibung der räumlichen Struktur der Schicht II/III-Pyramidenzellen des ACd der verschiedenen experimentellen Gruppen wurde zusätzlich eine Shollanalyse über die Anzahl der Schnittpunkte mit den Einzelhollsphären durchgeführt (Anzahl der Schnittpunkte der Dendriten mit virtuellen, konzentrisch um den Mittelpunkt des Zellkörpers angeordneten Sphären) (vgl. Abb. 47C). Diese ergab signifikante Effekte des Faktors PHARM. Hingegen wurden weder signifikante Effekte der Faktoren AUFZUCHT und HEMI, noch Interaktionen der Faktoren PHARM x AUFZUCHT, PHARM x HEMI, AUFZUCHT x HEMI sowie AUFZUCHT x PHARM x HEMI festgestellt.

Wie schon bei der Gesamtkomplexität und der Gesamtlänge gab es also auch bei einer differenzierteren Betrachtung der Zellstruktur keine signifikanten Effekte des frühkindlichen Trennungsstress selbst. In den Apikaldendriten zeigten mit 1 mg/kg MP behandelte Gruppen im Vergleich zu den salinebehandelten Gruppen signifikant höhere Schnittpunktzahlen bei den Shollringen mit einem Abstand von 30 bis 130µm vom Zellkörper, also eine komplexere Dendritenstruktur. Im Gegensatz dazu führte eine Behandlung mit 5 mg/kg MP zu keinen signifikanten Veränderungen der Dendritenstruktur. In einem Abstand von 30 bis 110µm vom Zellkörper wiesen mit 1 mg/kg MP behandelte Gruppen signifikant mehr Sphärenschnittpunkte auf als die entsprechenden mit 5 mg/kg MP behandelten Gruppen. Innerhalb der Basaldendriten führte die Behandlung mit 1 mg/kg MP bei Shollsphären in einem Abstand von 90µm - 130µm vom Zellkörper zu signifikant mehr Schnittpunkten als eine Behandlung mit Saline, d.h. zu komplexeren Verzweigungsmustern. Mit 1 mg/kg MP behandelte Tiere wiesen nur bei einem Shollsphärenabstand von 90µm vom Zellkörper signifikant höhere Schnittpunktzahlen auf als die MP5 behandelten Gruppen. Eine Behandlung mit 5 mg/kg MP führte hingegen zu keiner signifikanten Veränderung der Anzahl der Shollsphärenschnittpunkte.

- 
- *Bei differenzierter räumlicher Betrachtung der Sholl Schnittpunkte wird deutlich, dass die chronische Behandlung mit 1 mg/kg (aber nicht 5 mg/kg) MP in beiden Aufzuchtgruppen zu einer Erhöhung der Komplexität vor allem in den proximalen Apikaldendritenabschnitten führt (vgl. Abb. 51). In den distaleren Apikaldendritenabschnitten ergeben sich hingegen keine signifikanten Gruppenunterschiede. Bei den Basaldendriten zeigt sich bei proximalen und distalen Dendritenabschnitten eine Tendenz (Signifikanz bei 90 µm) zur erhöhten Komplexität nach einer Behandlung mit 1 mg/kg MP.*

**A**  
Shollanalyse (Einzelsphären)  
(apikal)



**B**  
Shollanalyse (Einzelsphären)  
(basal)

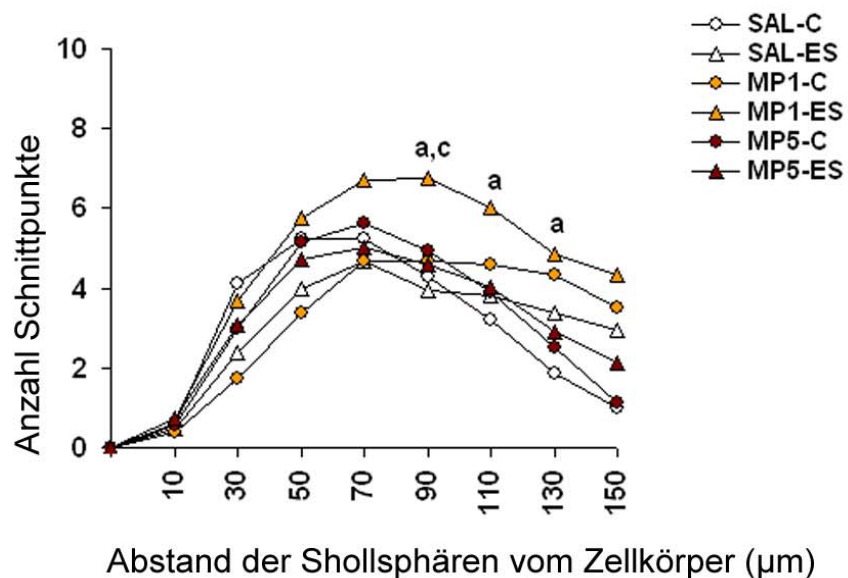


Abb. 51: Effekte des frühkindlichen Trennungsstresses und MP-Behandlung auf die Zellkomplexität (Schnittpunkte mit Einzelschollsphären) von Schicht II/III-Pyramidenzellen des ACd, (A) Apical- und (B) Basaldendriten, Statistik: (Mittelwerte± SEM, Drei-Wege-ANOVA, (a) SAL vs. MP1, (b) MP1 vs. MP5, (c) SAL vs. MP5:  $p < 0.05$  post hoc Tukey) ♂

### 5.6.3 Spinefrequenz

Der 3Wege-ANOVA (AUFZUCHT x PHARM x HEMI) ergab signifikante Haupteffekte des Faktors AUFZUCHT für apikale ( $F=5.460$ ,  $p=0.025$ ) und basale Dendriten ( $F=25.213$ ,  $p<0.001$ ) und für den Faktor PHARM für Apikaldendriten ( $F=5.234$ ,  $p=0.01$ ). Signifikante Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT x PHARM wurden sowohl für Apikal- ( $F=3.996$ ,  $p=0.027$ ) als auch Basaldendriten ( $F=3.341$ ,  $p=0.045$ ) nachgewiesen. Es gab hingegen weder signifikante Haupteffekte des Faktors HEMI, noch Interaktionen der Faktoren PHARM x HEMI, AUFZUCHT x HEMI sowie AUFZUCHT x PHARM x HEMI.

Eine durch Trennungsstress induzierte Erhöhung der Spinefrequenz im Vergleich zu ungestressten Kontrolltieren wurde bereits in mehreren Vorgängerstudien unserer Arbeitsgruppe belegt (Poeggel et al., 2003a für 21tägige, sowie Helmeke et al., 2001a,b für 45tägige Tiere), bei denen jedoch keine pharmakologische Behandlung der Kontrollgruppen wie in der vorliegenden Studie (Saline-Injektion) stattfand. Mit der vorliegenden Studie konnte jetzt gezeigt werden, dass diese stressinduzierte Veränderung der morphologischen Struktur präfrontaler Pyramidenzellen trotz der wiederholten Salinebehandlung der Kontrollgruppe stattfindet, da frühkindlich gestresste salinebehandelte Tiere signifikant höhere apikale (+13.5%,  $p<0.05$ , Abb. 52A) und basale (+21.7%,  $p<0.05$ , Abb. 52B) Spinefrequenzen aufwiesen als die salinebehandelten Kontrolltiere.

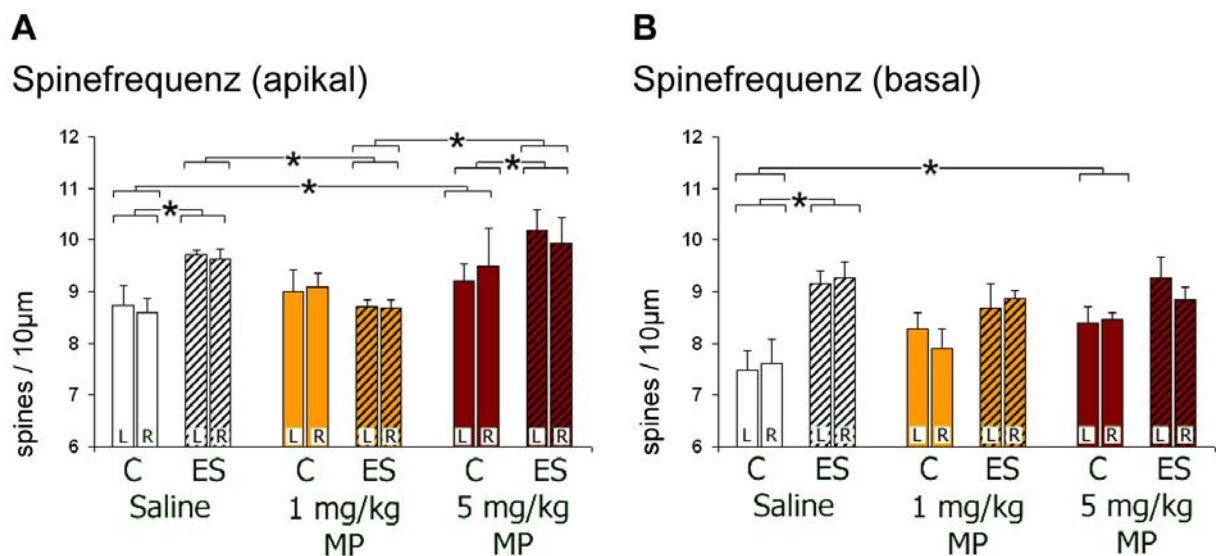


Abb. 52: Effekte des frühkindlichen Trennungsstress und MP-Behandlung auf die Spinefrequenz von Schicht II/III-Pyramidenzellen des ACd: (L/R: linke/rechte Hemisphäre, Mittelwerte± SEM, Drei-Wege-ANOVA,  $p<0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte bzw. \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test) ♂

Die oben beschriebenen Gruppenunterschiede verdeutlichen differenzierte Effekte der pharmakologischen Behandlung in frühkindlich gestressten und Kontrolltieren. Bei den

frühkindlich gestressten Tieren führte die chronische Behandlung mit MP in den Apikaldendriten zu einer u-förmigen Dosis-Effekt-Kurve, d.h. die MP1- behandelten Tiere zeigten signifikant geringere Spinefrequenzen als die SAL- (-10.0%  $p < 0.05$ ) und MP5- (-15.7%,  $p < 0.05$ ) behandelten Tiere.

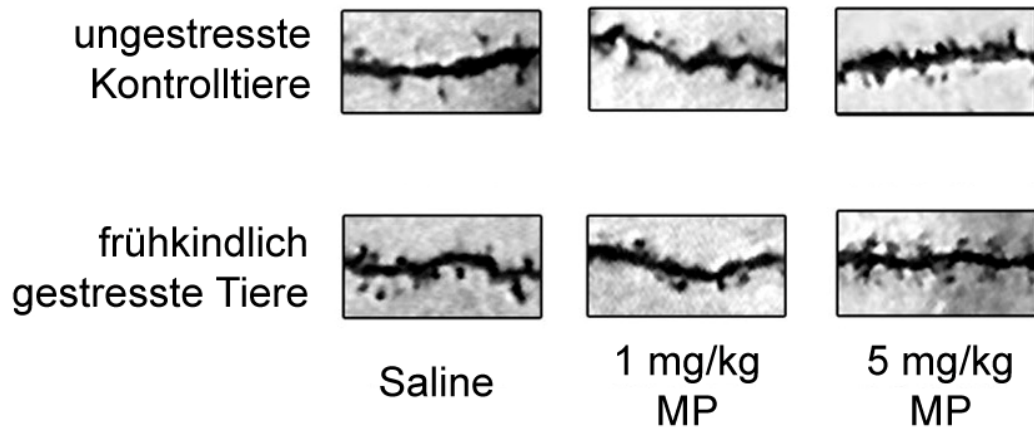


Abb. 53: Repräsentative Segmente von Apikaldendriten der untersuchten experimentellen Gruppen

SAL- und MP5-behandelte Tiere zeigten hingegen vergleichbare Spinefrequenzen (Abb. 52A). Im Gegensatz dazu zeigte sich kein signifikanter Effekt der MP-Behandlung auf die Basaldendriten frühkindlich gestresster Tiere (Abb. 52B).

Innerhalb der Kontrollgruppen führt eine Behandlung mit 5 mg/kg MP gegenüber den SAL-behandelten Tieren zu signifikant erhöhten apikalen (+9.8%,  $p < 0.05$ ) und basalen (+11.3%,  $p < 0.05$ ) Spinefrequenzen. Die Behandlung mit 1 mg/kg MP führte hingegen zu keiner Veränderung der Spinefrequenzen im Vergleich zu den salinebehandelten ungestressten Kontrolltieren. Eine Behandlung mit 5 mg/kg MP führte in der frühkindlich gestressten Gruppe zu höheren apikalen Spinefrequenzen als in mit 5 mg/kg MP behandelten Kontrolltieren (+7.6%,  $p < 0.05$ ). Eine Behandlung mit 1 mg/kg MP führte jedoch zu keinen Veränderungen der Spinedichten bei frühkindlich gestressten und Kontrolltieren (Abb. 52A,B).

- *Eine chronische Behandlung frühkindlich gestresster Tiere mit 1 mg/kg MP während der Präpubertät führt an den Apikaldendriten zu einer Normalisierung der stressinduzierten erhöhten Spinefrequenz.*
- *Bei ungestressten Tieren führt dieselbe chronische MP-Behandlung hingegen zu keiner signifikanten Veränderung der Spinefrequenz.*

## 6 Diskussion

Ein erster Schwerpunkt der vorliegenden Studie bildete die Untersuchung der Effekte von frühkindlichem Trennungsstress auf das Verhalten und auf die metabolische Aktivität von 21-tägigen Degujungtieren. Die Grundhypothese hierzu lautete, dass zusätzlich zu einer genetischen Prädisposition negative Umwelteinflüsse und Erfahrungen bei der Entwicklung von Symptomen beteidigt sind, die denen des Krankheitsbildes ADHD beim Menschen ähnlich sind.

### 6.1 Frühkindliche Stresserfahrung führt im Tiermodell Degu zu Hyperaktivität und reduzierter Aufmerksamkeit

Ein Hauptsymptom des Krankheitsbildes ADHD ist hyperaktives Verhalten. Auch Degujungtiere, die in den ersten drei Lebenswochen einem wiederholten, nicht vermeidbarem Stress ausgesetzt wurden, in dem sie täglich für eine kurze Zeit (eine Stunde) von ihren Eltern getrennt wurden, zeigen in den, im Anschluss an die Stressphase am PND 22, durchgeführten OF-Tests, eine erhöhte motorische Aktivität, eine vermehrte Zentrumsexploration sowie höhere Defäkationsraten (Abschnitt 3.3.1.1). Frühkindlich gestresste Jungtiere reagierten zudem weniger auf emotional positiv assoziierte Geschwistervokalisationen (Spiellaute, vgl. Abb. 9) als ihre gleichaltrigen ungestressten Altersgenossen (Kapitel 3.3.1).

Die Analyse der motorischen Aktivität der frühkindlich gestressten Jungtiere ergab höhere zurückgelegte Laufstecken und ein vermehrtes vertikales Explorationsverhalten, wie Aufrichten und Springen, und unterstreicht damit den stabilen Effekt der durch Trennungsstress ausgelösten Hyperaktivität, der bereits Ergebnis einer früheren Untersuchung am selben Tiermodell (jedoch an jüngeren Tieren, Braun 2003) sowie an anderen Tiermodellen war (meist Studien an Ratten- und Kleinaffen, vgl. Hall 1998, Heim 2001, Meaney 1996, Pryce 2001, Pryce 2003), nun für 21-tägig gestresste Degus.

Da ADHD-Patienten vor allem Defizite in der bei der Filterung und Wichtung der Vielzahl parallel angebotener Stimuli (response selection) zeigen, wurden in der vorliegenden Studie in Abwandlung einer früheren Studie am Degumodell (Braun et al., 2003) des Weiteren Verhaltensexperimente in einem modifizierten Open Field (d.h. mit zusätzlicher Tonstimulation) durchgeführt. Die Präsentation eines emotional assoziierten, da vermutlich in der frühen Kindheit erlernten, artspezifischen Stimulus (hier Spiellaut) erlaubt damit eine gleichzeitige Erfassung von Parametern der Aufmerksamkeit (Reaktivität zu den über

Lautsprecher eingespielten Geschwistervokalisationen) sowie der allgemeinen motorischen Aktivität (vertikale, horizontale Exploration im Gesamt-OF etc.).

Die Ergebnisse des ersten Tests im modifizierten OF zeigten, dass sowohl die Laufstrecke der frühkindlich gestressten Tiere im Tonquadrant (relative Laufstrecke im Tonquadrant, bezogen auf die Gesamtlaufstrecke im OF) als auch die Verweildauer im Tonquadrant signifikant reduziert war. Da die Kontrolltiere den Tonquadranten nicht signifikant öfter betraten (Anzahl der Eintritte), kann geschlussfolgert werden, dass diese wesentlich länger beim Ton verweilten als die frühkindlich gestressten Tiere. Letztere zeigten damit möglicherweise eine geringere Fähigkeit, die Aufmerksamkeit über längere Zeit auf den akustischen Stimulus zu richten (Abb. 15D-F). Die frühkindlich gestressten Tiere zeigten damit im modifizierten OF eine verminderte Reaktivität auf den angebotenen Ton.

Sind die Ergebnisse des OF-Tests nun mit Aufmerksamkeitsdefiziten der ADHD-Patienten zu vergleichen? Beim Test im modifizierten OF wurde das Tier einer neuen und damit reizüberfluteten Umgebung ausgesetzt. Angesichts der verringerten Tonquadrant-Aktivitäten waren frühkindlich gestresste Tiere in dieser Situation weniger gut in der Lage, den angebotenen Stimulus zu erkennen bzw. bei ihm zu verweilen. Bei ADHD-Patienten werden derartige Analysen der Aufmerksamkeitsfähigkeit häufig mithilfe ACd-spezifischer Tests, wie dem „continuous performance test“ (CPT) (Wohlberg & Kornetsky, 1973; Uno et al., 2006; Pasini et al., 2007) durchgeführt, in dem ADHD-Patienten deutliche Defizite zeigten. Für Tiermodelle wurde daraus der „Five-Choice-Serial-Reaction-Time-Task“ (5-CSRTT) entwickelt (Puumala et al., 1996; Barbelivien et al., 2001, Review in Robbins, 2002), in dem z.B. ACd-läsionierte Ratten Defizite aufwiesen (Muir et al., 1996). Negative Ergebnisse in diesen Tests werden daher mit einer Dysfunktion dieses Hirngebietes sowohl bei den untersuchten Probanden als auch im Tiermodell assoziiert. Da die in der vorliegenden Studie durchgeführten Experimente im modifizierten OF ebenfalls auf eine verminderte Aufmerksamkeitsfähigkeit deuten, könnte daher auch im Tiermodell Degu eine Verminderung der PFC-Funktion vermutet werden.

In der vorliegenden Studie bewirkte der frühkindliche Stress zudem eine erhöhte Zentrumsexploration. Anhand klassischer Interpretationen von OF-Tests würde der verstärkte Aufenthalt im Zentrum des OF auf eine verminderte Ängstlichkeit der Tiere hindeuten (Walsh & Cummins, 1976; Clement & Chapouthier, 1998; Hall et al., 2000; Lipkind et al., 2004). Trotzdem scheint an diesem Punkt keine eindeutige Aussage zur Wirkung des frühkindlichen Stresses auf die Ängstlichkeit der Jungtiere möglich, da die

erhöhten Defäkationsraten andererseits auch als höhere Ängstlichkeit gedeutet werden könnten. Diese Unsicherheit konnte bereits in einer anderen Studie am frühkindlich gestressten Degu bei Untersuchungen im Elevated Plus Maze (EPM) nicht eindeutig geklärt werden, denn diese ergaben keinen signifikanten Effekt des frühkindlichen Stresses auf die relative Aktivität der Tiere in den offenen bzw. geschlossenen Armen des EPM, d.h. den traditionell erfassten Parametern zur Messung der Ängstlichkeit im EPM (Becker et al., 2007). Aufgrund der artspezifischen Eigenschaften des kletterfreudigen Degus mit häufigem Aufenthalt in erhöhter Umgebung und der Fähigkeit, niedrigere Äste kleinerer Bäume und Sträucher zu erklettern (Woods CA & Boraker DK, 1975), lässt dieses Negativergebnis jedoch eher eine fehlende Eignung des Degus für diesen Testparameter vermuten. Darauf deuten auch die im selben Test zusätzlich ermittelten Daten hin, die eine erhöhte vertikale Explorationstätigkeit (Häufigkeit des Aufrichtens) in den geschlossenen Armen des EPM zeigen, was in einigen Studien als Hinweis auf verminderte Ängstlichkeit gedeutet wird (Escorihuela et al., 1999). Eine mögliche Klärung für dieses uneindeutige Ergebnis im OF könnte jedoch eine aktuelle Studie an Ratten bieten, in der die erhöhte Zentrumsexploration im OF eher als Hinweis auf eine höhere Impulsivität gewertet wird (Colorado et al., 2006). Anhand der vorliegenden diskrepanten OF- und EPM-Ergebnisse des Ängstlichkeitsverhaltens bei gleichem Stressparadigma sollte daher auf eine abschließende Aussage zur Ängstlichkeit verzichtet werden. Durch gezielt gewählte Versuchsanordnungen sollte hier zukünftig die Frage verfolgt werden, ob der frühkindliche Stress im Tiermodell Degu eher Zeichen erhöhter Impulsivität, als Merkmale verminderter Ängstlichkeit bedingt.

Die gesteigerte horizontale und vertikale Explorationsaktivität führte möglicherweise auch zum tendenziell geringeren Körpergewicht der frühkindlich gestressten Tiere am PND 22 (Anhang A.2, Tabelle 20). Hierfür könnte einerseits ein höherer Energiebedarf aufgrund der höheren motorischen Aktivität, aber potentiell auch eine trennungsstressbedingte Verminderung der Nahrungsaufnahme durch die täglich einstündliche Trennungsphase von den Eltern verantwortlich sein. Dieser Effekt war jedoch transient, da am PND 45 kein Gewichtsunterschied zwischen den einzelnen experimentellen Gruppen mehr erkennbar war.

Stressinduzierte Verhaltensänderungen des Degus (wie z.B. das hyperaktive Verhalten) können durch eine veränderte Sensibilität und Stressreaktivität als Anpassung an die wiederkehrenden stressvollen Erfahrungen erklärt werden (Meaney, 2001). Für die Ausprägung der Stressreaktivität sind dabei die Art und die Dauer der Stresseinwirkung entscheidend. In der Literatur werden Langzeitisolationen (>1 h täglich), die meist zu einem Anstieg, und Kurzzeitisolationen (3-20 min, z.T. auch als Handling bezeichnet), die eher zu

einer Abnahme der Stressreaktivität (Lehmann & Feldon, 2000) sowie zu geringerer Ängstlichkeit führen, unterschieden (Anisman et al., 1998; Caldji et al., 2000; Macri & Wurbel, 2006).

Die Stresswirkung des in der vorliegenden Studie angewendeten Paradigmas belegen endokrine Untersuchungen an akut isolierten Degus, die zeigen, dass es sowohl bei mehrmals frühkindlich gestressten als auch bei vorher ungestresst aufgezogenen Degus zu einem signifikanten Glukokortikoid-Anstieg im Blut kommt, wenn sie erneut (bzw. erstmals) dem Trennungstress ausgesetzt werden (Gruss et al., 2006). Als Besonderheit beim Degu handelt es sich hierbei anders als bei Ratten nur zu einem geringen Anteil um Cortikosteron, sondern vor allem um Cortisol (wie beim Menschen) (Kenagy et al., 1999). Während des akuten Trennungstresses zeigten frühkindlich gestresste Degumännchen dabei tendenziell weniger ausgeprägte endokrine Reaktionen als die erstmals gestressten Tiere (Gruss et al., 2006). Dies deckt sich mit Ergebnissen aus Rattenstudien, die signifikant niedrigere Corticosteron-Konzentrationen mutterseparierter Ratten zeigten (Sanchez et al., 1998).

Anhand dieser Wirkung des vorliegenden Stressparadigmas scheint es sich in der vorliegenden Studie eher um die „mildere Form“ der Separation (siehe oben, Kurzzeitseparation) zu handeln, in der wahrscheinlich die Gewöhnung an die wiederholte Exposition in einen zuerst unbekanntem, fremden Ort eher zu einer Verringerung der Reaktivität auf einen erneuten Stress führt.

In Zusammenfassung dieser Befunde kann also gesagt werden, dass das angewendete Stressparadigma zu Verhaltensveränderungen führt, die den Symptomen des ADHD ähneln und für die, wie in der Einleitung beschrieben, vor allem eine motorische Hyperaktivität und/oder verminderte Ängstlichkeit (erhöhte Impulsivität) kennzeichnend sind (Furman, 2005; Castellanos et al., 2006). Veränderungen der Funktionalität des PFC sind dabei (wie im Krankheitsbild ADHD) wahrscheinlich ursächlich beteiligt.

## **6.2 Frühkindliche Stresserfahrung führt im Tiermodell Degu zu geringerer metabolischer Aktivität vor allem dopaminerg innervierter Gehirngebiete**

Um die Wirkung des frühkindlichen Stresses auf die metabolische Aktivität des Gehirns juveniler Degus zu untersuchen, wurden in der vorliegenden Studie funktionelle Imaging-Experimente mit der 2-FDG-Methode durchgeführt (siehe Kapitel 4). Wie schon beim Open Field-Test (Kapitel 3.1.1), wurden auch beim 2-FDG-Experiment (Kapitel 4.1.2) Degus



(hier vorher mit radioaktiver Glukose versetzt) einer ihnen unbekanntem Umgebung in der Testbox im Radionukleotidlabor ausgesetzt. Der Einfluss dieses akuten Stresses führte bei den frühkindlich gestressten Tieren mit Ausnahme der CA1 und CA3-Region des Hippocampus in allen untersuchten Gehirngebieten zu einer deutlich geringeren metabolischen Hirnaktivität als bei den Kontrolltieren (Kapitel 4.2.2.1).

Dieser Effekt wiederholter Stresserfahrungen ist bisher in der Literatur so nicht gezeigt worden, da die wenigen Imaging-Studien an juvenilen oder adoleszenten Tieren nur akute Stresseffekte an stressnaiven Tieren zeigen. 8-tägige Degujungtiere wiesen beispielsweise unter akutem Separationsstress eine Verminderung der metabolischen Aktivität limbischer und nigrostriataler Gehirngebiete auf (Bock, unveröff.). In PET-Scans an juvenilen Rhesusaffen wurden zudem hemisphärenabhängige Veränderungen der metabolischen Aktivität nach Trennungstresserfahrungen (Kurzzeitseparation des Jungtiers von der Mutter) festgestellt (Rilling et al., 2001).

Da in der vorliegenden Studie eine Abnahme der metabolischen Aktivität in fast allen untersuchten Gehirngebieten nachgewiesen wurde, könnte vermutet werden, dass es sich dabei nicht um einen regionenspezifischen, sondern eher um einen globalen Effekt handelt, der z.B. durch die unterschiedlichen endokrinen Reaktionen vorher gestresster bzw. ungestresster Tiere auf den akuten Separationsstress erklärt werden könnte, da bei den frühkindlich gestressten Tieren durch die wiederholte Trennung von den Eltern möglicherweise eine Habituation an die anfänglich stressreiche Situation stattgefunden hat (s.o.).

Bei genauerer Betrachtung der prozentualen Aktivitätsunterschiede einzelner Gehirngebiete zeigen frühkindlich gestresste Tiere jedoch vor allem in Gehirngebieten mit starker dopaminergem Innervation reduzierte metabolische Gehirnaktivitäten. Zu nennen wären hier präfrontale Gebiete, wie der ACd, IL, PL und OFC, mesolimbische Areale wie der Nacc und das Striatum sowie Mittelhirngebiete, wie das VTA und die SN. Da die mit der 2-FDG-Methode gemessene metabolische Aktivität mit der synaptischen Aktivität einer Gehirnregion korrelierbar ist (vgl. Kapitel 4.1.1), lässt dies vermuten, dass eine Reduktion der synaptischen Aktivität dieser dopaminergen bzw. dopaminerg innervierten Areale (entweder zusätzlich zu den Änderungen des Stresssystems oder als primäre Ursache) zu den schwachen 2-FDG-Markierungen in den frühkindlich gestressten Tieren führt. Die Ursache dafür könnten stressinduzierte Veränderungen monoaminergem Systeme sein (wie veränderte TH-Faserdichten, veränderte DAT-Konzentrationen, veränderte

Dopaminausschüttung etc.), die für verschiedenste Tiermodelle, wie den Degu (Braun et al., 2000), Ratten (Hall et al., 1999), Mäuse (Ago et al., 2002), Gerbils (Lehmann et al., 2002; Busche et al., 2004), Meerschweinchen (Harvey et al., 1994), Rhesusaffen (Kraemer et al., 1984) und andere Spezies beschrieben sind und denen eine wichtige Rolle bei der Adaptation des Gehirns an stressvolle Situationen beigemessen werden kann (Feenstra, 2000).

Auf eine entsprechende dopaminerge Unterfunktion beispielsweise des PFC und des Nacc weisen auch Mikrodialysestudien am Degu hin, in denen frühkindlich gestresste Degus in einer akuten Stresssituation (Separation des analysierten Tieres von den Geschwistertieren) eine geringere DA-Freisetzung zeigen (Jeziński et al., 2007).

Es stellt sich nun die Frage, warum eine verringerte Aktivität der Basalganglien Auswirkungen auf das gezeigte hyperaktive Verhalten haben kann. Hierzu muss die Funktion des Striatums innerhalb des motorischen Schaltkreises betrachtet werden (vgl. Abb. 54). Dieser Schaltkreis teilt sich im Bereich der Basalganglien (Pallidum) in einen direkten und einen indirekten Weg auf. Der direkte Weg verläuft vom PFC durch das interne Segment des Globus pallidus zum Thalamus. Er wirkt bei Anregung striataler Neurone durch den Cortex durch GABAerge Transmission disinhibierend auf die hemmenden Neurone des Globus pallidus und damit im Endeffekt anregend auf thalamische Verbindungen (Solanto, 2002). Der zweite, indirekte Weg projiziert hingegen über das externe Segment des Globus Pallidus inhibitorisch zum subthalamischen Nucleus und dann ebenfalls zum internalen Segment des Globus Pallidus, führt damit aber zu einem entgegengesetzten Effekt, einer Inhibition der vom Cortex ausgehenden Erregung (Solanto, 2002). Ungleichgewichte in diesen beiden Wegen führen daher zu verschiedenen Krankheitsbildern. Die Degeneration der dopaminergen Neurone der SN führt durch den Ausfall der direkten nigrostriatalen Projektion und die dadurch relative Überaktivität des indirekten Weges zu hypokinetischen Syndromen, wie der Akinese (Bewegungsarmut) des klinisch häufigen Morbus Parkinson (Trepel, 1999). Verringerte Aktivität des indirekten Weges führt hingegen zu motorischer Überaktivität (z.B. bei der Chorea Huntington). Der SN wird somit eine wesentliche Funktion für den Bewegungsantrieb bzw. die Bewegungsinitiation zugeschrieben (Trepel, 1999) und durch seine Verbindung mit den Basalganglien (Striatum, Globus pallidus, subthalamische Nuclei) werden unerwünschte motorische Muster inhibiert und erwünschte Muster selektiert (Roth, 2001).

Bei Störungen der Funktionalität des Striatums kommt es je nach Art der Dysfunktion entweder zu motorischer Überaktivität (z.B. bei der Chorea Huntington) oder zu Akinese (Bewegungsarmut beim Morbus Parkinson) (Trepel, 1999; Solanto, 2002). Auch die motorische Überaktivität beim Krankheitsbild ADHD kann damit als eine Art “Entgegengesetzter Morbus Parkinson” erklärt werden, bei der eine erhöhte striatale Aktivität zu einer verringerten Aktivität des internen Pallidums führt und damit motorische Überaktivität auslöst (Castellanos, 2001; Solanto, 2002).

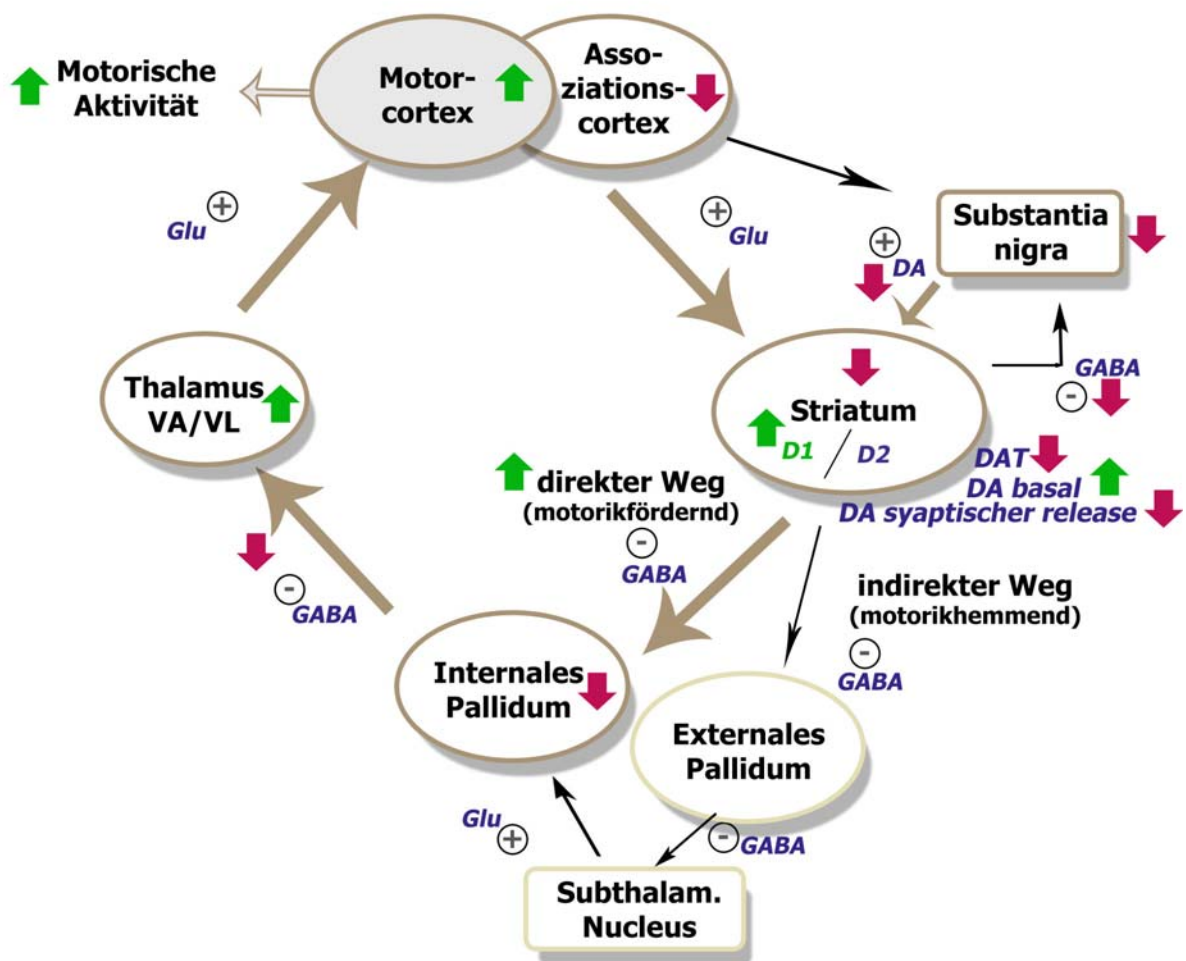


Abb. 54: Hypothese zu Veränderungen des nigrostriatalen Systems und motorischen Schaltkreises nach frühkindlicher Elternseparation (nach Trepel, 1999; Solanto, 2002, verändert)

Doch was könnte dies alles nun mit dem angewendeten Stressparadigma zutun haben?

Der direkte Weg des motorischen Schaltkreises wird über D1-Rezeptoren, der indirekte Weg hingegen über D2-Rezeptoren reguliert. In einer Studie an frühkindlich gestressten Ratten

wurden erhöhte D1-Rezeptordichten, jedoch unveränderte D2-Rezeptordichten im Striatum von in den ersten 14 Lebenstagen dreistündlich elternseparierten Ratten im Vergleich zu ungestressten Kontrollen nachgewiesen (Brake et al., 2004). Eine derartige Verschiebung des Verhältnisses der D1 und D2 Rezeptoren zugunsten der D1 Rezeptoren würde nun zu einer verstärkten Aktivität des direkten Weges und damit schlussendlich zu einer Erhöhung der motorischen Aktivität führen. Diese Annahme wird dadurch gestützt, dass die Ratten, die in der oben zitierten Studie von Brake et al., 2004 die veränderten striatalen D1-Rezeptordichten zeigten, auch hyperaktives Verhalten aufwiesen (Brake et al., 2004). Trotz einer scheinbar vergleichbaren Reduktion der Aktivität des Striatums, führt frühkindlicher Stress damit anders als beim Parkinson-Syndrom, bei dem eine erhöhte Aktivierung der D2-Rezeptoren zu einer Dominanz des indirekten Weges und daher eher zu motorischer Inaktivität führt (Wichmann & DeLong, 1996), bei frühkindlich gestressten Tieren zu einer Erhöhung der motorischen Aktivität. Diese Hypothese sollte in zukünftigen Untersuchungen am Tiermodell Degu durch die Analyse der striatalen D1-Rezeptordichten in Abhängigkeit frühkindlicher Stresseinwirkungen überprüft werden.

Die im vorliegenden 2-FDG-Experiment gezeigten, durch wiederholten postnatalen Trennungsstress induzierten, verringerten Aktivitäten dopaminerg innervierter Gebiete, sollten sich auch auf andere Regelkreise, wie z.B. den mesocorticolimbischen Schaltkreis auswirken, für den im Folgenden ebenfalls eine Hypothese zu dessen Veränderung durch die stressinduzierten metabolischen Aktivität der einzelnen Gehirngebiete aufgestellt werden soll. Von Bedeutung sind hier vor allem die verringerten Aktivitäten des Mittelhirns (hier vor allem des ventralen tegmental Areal) und die dadurch potentiell verringerte Ausschüttung von Transmittern in den Basalganglien (Trepel, 1999; Solanto, 2002). Der mit der potentiellen Verringerung der synaptischen Aktivität reduzierte metabolische Bedarf dieser Regionen ist in den Basalganglien frühkindlich gestresster Tiere der vorliegenden Studie gezeigt. Durch die verringerte Nacc -Aktivität sollte innerhalb des mesocorticolimbischen Schaltkreises das ventrale Pallidum weniger inhibiert werden. Damit hemmt das nun aktivere Pallidum stärker den mediodorsalen Thalamus, der auch in der vorliegenden Studie geringere metabolische Aktivität zeigt und dessen Efferenzen in den PFC dadurch weniger aktiv sind (Trepel, 1999; Solanto, 2002). Dies könnte die beschriebenen Aufmerksamkeitsdefizite auslösen (s.o.). Modulatorischen Einfluss auf dieses System nehmen dabei weitere limbische Areale, wie die Amygdala oder die Mammillarkörper, die ebenfalls reduzierte metabolische Aktivitäten zeigen.

Zusammenfassend kann damit gesagt werden, dass die Elternseparation zu einer verringerten Aktivität des limbischen Systems nach Papez führt (Papez, 1937, vgl. Abb. 55).

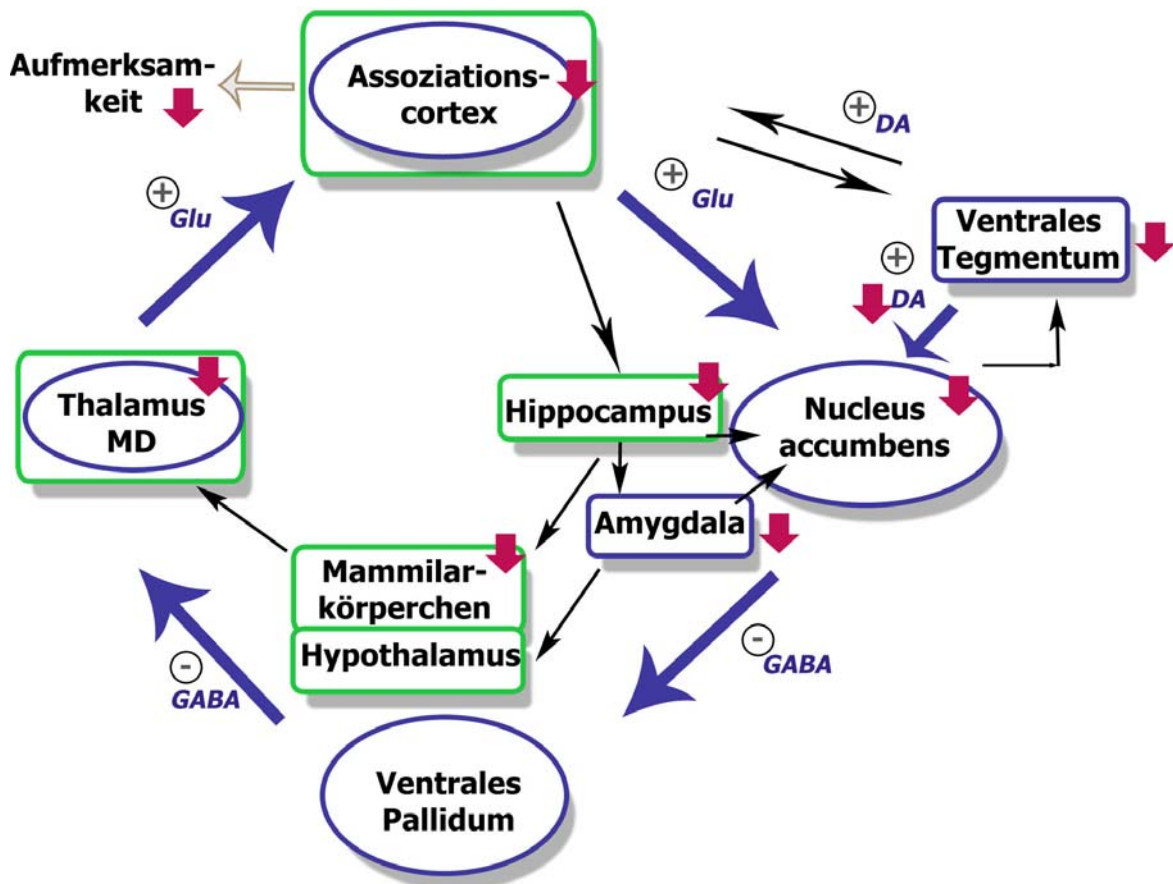


Abb. 55: Hypothese zu Veränderungen des mesocorticolimbischen Schaltkreises nach frühkindlicher Elternseparation  
grün: Papez-Kreis, blau: erweiterte limbische Schleife  
(nach Trepel, 1999; Kandel et al., 2000, verändert)

Mit der 2-FDG-Technik kann z.B. aufgrund der fehlenden zellulären Auflösung im Rahmen der vorliegenden Studie nicht geklärt werden, welche Faktoren oder deren Kombination zur erniedrigten metabolischen Aktivität der verschiedenen Gehirnbereiche frühkindlich gestresster Tiere beitragen bzw. diese verursachen.

Unabhängig davon steht die mit der 2-FDG-Methode ermittelte, durch frühkindlichen Stresses verursachte Verringerung der metabolischen Gehirnaktivität in den Schlüsselarealen der oben dargestellten mesocorticolimbischen und motorischen (hypothetischen) Schaltkreise, wie z.B. der erniedrigten Präfrontalcortex- und Striatumsaktivität, jedoch in gutem Einklang zu fMRI- und PET-Studien an Kindern und Jugendlichen mit ADHD. So wurde in klinischen Studien an ADHD-Patienten sowohl eine verspätete funktionelle Ausreifung (Durston et al., 2003) als auch eine vergleichbare

verminderte Funktion (Bush et al., 1999; Rubia et al., 1999; Durston, 2003, Zametkin et al., 1990; Tamm et al., 2004, siehe Einleitung) präfrontaler Hirngebiete nachgewiesen. Diese Veränderungen sind wie in unserem Tiermodell mit Veränderungen der Aufmerksamkeitsfähigkeit verbunden. Im Vergleich zu gesunden Kontrollen zeigten Patienten mit ADHD z.B. deutlich niedrigere Aktivierungen im ACd bei Tests der "Response inhibition" (Reaktionsvermeidung), welche als ursächlich für die negativen Ergebnisse von ADHD-Patienten bei Aufgaben mit schnellen Reaktionsmuster- und Aufgabenwechseln, die erhöhte differenzierte Aufmerksamkeit erfordern, angesehen werden (Tamm et al., 2004). Auch Veränderungen striataler Aktivität findet sich im Tiermodell Degu und bei ADHD-Patienten, da reduzierte striatale Aktivität in mehreren Studien an ADHD-Patienten unter Basiskonditionen oder während der Lösung von Aufgaben (Go-NoGo-Task, Stop-Task) gefunden wurde (Lou et al., 1984; Lou et al., 1989; Vaidya et al., 1998; Rubia et al., 1999). Zusätzlich wurden strukturelle Veränderungen (erniedrigte Größen des Striatums und des PFC) festgestellt (Seidman et al., 2005).

In einem verhaltensbasierten Tiermodell des ADHD-Syndroms wurde zudem gezeigt, dass bei Tieren mit Verhaltensdefiziten im 5-CSRT-Test, also ebenso mit verringerter Aufmerksamkeitsfähigkeit, eine reduzierte 2-FDG-Aufnahme in prefrontalen und cingulären Cortexarealen festzustellen ist (Barbelivien et al., 2001). In dieser Studie wurde allerdings eine Tierkohorte mit guten Verhaltensergebnissen mit einer Tierkohorte mit schlechten Ergebnissen aus der gleichen Tierzucht und gleichen Haltungsbedingungen verglichen, womit die Ursache dieser Verhaltensunterschiede auf die individuelle Tiervarianz innerhalb des genetischen Pools dieser genutzten Tierzucht zurückzuführen ist.

In der vorliegenden Dissertation wurde das Verhalten der Degus hingegen gezielt durch die veränderte frühkindliche Umwelt manipuliert. Die funktionell metabolischen Veränderungen sind daher wie die damit verbundenen Verhaltensunterschiede der Degus auf diesen frühkindlichen Stress zurückzuführen. Es ist daher zu vermuten, dass auch eine negative frühkindliche Umwelt zu derartigen funktionell metabolischen Effekten führen kann. Das Tiermodell Degu ist damit geeignet, diesen Einfluss negativer frühkindlicher Umwelteinwirkungen auf den sich entwickelnden Organismus auf funktionell metabolischer Ebene zu untersuchen.

### **6.3 Akute Methylphenidatbehandlung im Tiermodell Degu**

Wie bereits im Einleitungsteil (Kapitel 1.6.1) beschrieben, führt Methylphenidat (MP, Ritalin®), eines der am häufigsten benutzten Medikamente zur Behandlung von ADHD, u.a. durch eine effektive Blockade des Dopamintransporters zu einer Besserung der Verhaltenssymptome des ADHD-Syndroms (Kuczenski & Segal, 1997). Die Ähnlichkeit der durch frühkindlichen Stress hervorgerufenen Änderungen des Verhaltens sowie der verringerten metabolischen Gehirnaktivität juveniler frühkindlich gestresster Degus mit den Symptomen des ADHD-Syndroms, führte zu der Frage, ob eine Behandlung der verhaltensauffälligen, frühkindlich gestressten Degus mit MP zu einer Normalisierung des Verhaltens und der Hirnaktivität führt. Da ein noch nicht ausgereiftes, kindliches bzw. jugendliches Gehirn anders als ein erwachsenes Gehirn auf eine derartige Medikamentenbehandlung reagiert (Spear & Brake, 1983; Laviola et al., 1995; Andersen et al., 2002), war eines der Hauptziele dieser Studie, zu klären, welche Effekte die MP-Behandlung in den Jungtieren auslöst. Zur Klärung dieser Fragestellungen wurden frühkindlich gestresste Degus sowie ungestresste Kontrolltiere am PND 22, d.h. im direkten Anschluss an die Stressphase, mit einer akuten MP-Injektion behandelt und anschließend das Verhalten im OF-Test sowie die metabolische Gehirnaktivität untersucht.

#### **6.3.1 Eine akute Behandlung ungestresster Tiere führt zu dosisabhängiger Erhöhung sowohl der motorischen Aktivität als auch der metabolischen Aktivität präfrontaler Gehirngebiete**

Bei ungestressten Tieren führte eine akute Injektion von 1 bzw. 5mg/kg MP zu einem dosisabhängigen Anstieg der Lauf- und Zentrumsaktivität im Vergleich zu den salinebehandelten Tieren. Auch bei anderen Verhaltensparametern, wie der vertikalen Exploration zeigten sich von den Aufzuchtbedingungen unabhängige, dosisabhängige Effekte der akuten MP-Behandlung. Im normalen (Abb. 17) und modifizierten (Abb. 19) OF wurden z.B. bei beiden mit 5mg/kg MP behandelten Gruppen signifikant weniger vertikale Explorationsbewegungen als in den mit 1mg/kg MP behandelten Gruppen festgestellt. Dies kann als deutliches Zeichen einer Überdosierung gedeutet werden, da die Behandlung mit 5 mg/kg MP zu ungerichteter motorischer (Lauf-) Aktivität führt (siehe oben), gerichtete Bewegungen wie das Aufrichten am OF-Rand zur Orientierung jedoch nicht mehr im vergleichbaren Maße vollzogen werden können. Ein signifikanter Effekt der akuten MP-Behandlung auf das Putzverhalten, die Defäkationsrate oder die Anzahl der Vokalisationen war hingegen nicht erkennbar.



Trotz einer dosisabhängigen Erhöhung der metabolischen Aktivität des ACd infolge der MP-akuten Injektion in 2-FDG-Versuch (ausgehend vom normalen präfrontalen Aktivitätslevel der Kontrolltiere) zeigen die im modifizierten OF getesteten, ungestressten Tiere eine tendenziell entgegengesetzte Entwicklung der Laufstrecke und Aufenthaltsdauer im Tonquadrant des OF. Hierbei kann angemerkt werden, dass zu hohe Dopaminlevel ebenfalls zu einer Reduktion präfrontaler Funktionalität führen können (Murphy et al., 1996). Es muss also beachtet werden, dass beide, zu niedrige (s.o.) und zu hohe DA-Konzentrationen zu schlechterer Verhaltensperformance führen können. Dass mit 5mg/kg MP behandelte Tiere signifikant häufiger in den Tonquadranten eintraten als salinebehandelte Tiere, ist dabei als ein zusätzlicher, von den Aufzuchtbedingungen unabhängiger Effekt der MP-Behandlung im modifizierten OF, anzusehen. Da sich mit die 5mg/kg MP behandelten Tiere aber insgesamt nicht länger im Tonquadrant aufhielten als Saline- oder mit 1mg/kg MP behandelte Tiere und dort auch nicht mehr Wegstrecke zurücklegten, zeigt sich in diesen Daten vor allem die Änderung des Aktivitätsmusters hin zum OF-Zentrum (Tendenz zu stereotyper Zirkulation im OF-Zentrum, vgl. auch Abb. 18B,C).

Die Untersuchungen der metabolischen Gehirnaktivität der Kontrolltiere ergaben eine dosisabhängige Erhöhung der Aktivität vor allem der dopaminerg innervierten Gehirngebiete, wie z.B. des Striatums. Im Präfrontalcortex trat der dosisabhängige Anstieg der metabolischen Aktivität jedoch interessanterweise nur im ACd auf. Der IL und PL zeigten trotz ihrer dopaminergen Inervation (Braun et al., 2000; Poeggel et al., 2003b) keine signifikanten Effekte der MP-Behandlung. Der Anstieg der metabolischen Aktivität in der Kontrollregion somatosensorischer Cortex kann mit den erhöhten sensorischen Eingängen durch die gestiegene motorische Aktivität unter der Wirkung von MP erklärt werden. Der auditorische Cortex als zweite Kontrollregion zeigte hingegen keine signifikanten Änderungen, was durch die unveränderte Lautumgebung (gleicher Testraum, keine signifikanten Änderungen der Vokalisationsrate der Geschwistertiere) plausibel scheint.

In klinischen Studien wurde nachgewiesen, dass MP die höchsten DAT-Bindungsraten im Striatum zeigt (Volkow et al., 2002, Jucaite et al., 2005), also in dem Gehirngebiet, das auch die Schlüsselfunktion in der Steuerung der motorischen Aktivität ausübt. Es wiesen jedoch auch andere Gebiete des dopaminergen Systems, wie z.B. der VTA nach akuter Behandlung mit MP eine gesteigerte metabolische Aktivität auf. Auch der ACd, der durch die Innervationen des mesocorticolimbischen Systems eng an die VTA-Aktivität gekoppelt ist (Onn & Wang, 2005), zeigte einen entsprechend ausgerichteten Aktivitätsanstieg.

Die im vorangegangenen Kapitel beschriebene Hypothese der Veränderungen des motorischen Schaltkreises lässt sich auch auf die MP-Wirkung in den Kontrolltieren anwenden. Die Basalganglien sollten aufgrund der akuten MP-Behandlung höhere Transmitterausschüttungen an den efferenten Fasern der aktivierten Mittelhirngebiete erhalten. Dies führt zu einem erhöhten dopaminergen Basaltonus im Striatum, der nun durch die MP-Wirkung (Bindung des DAT) dosisabhängig weiter verstärkt wird. Die damit verbundene erhöhte Bindung präsynaptischer striataler Autorezeptoren kann dieser stark erhöhten extrazellulären DA-Konzentration jedoch nicht mehr ausreichend entgegenwirken, so dass es insgesamt zu einer Steigerung der synaptischen Aktivität striataler Neurone unter der akuten Wirkung von MP kommt. So wie bei Parkinson-Patienten eine zu geringe Aktivität des Striatums zu einer Überaktivität des indirekten Weges führt (Wichmann & DeLong, 1996; Trepel, 1999; Kandel et al., 2000), könnte die MP-induzierte erhöhte striatale Aktivität damit zu einer Art "entgegengesetztem Morbus Parkinson" (Solanto, 2002), d.h. einer Unteraktivität des indirekten Weges führen. Durch die verstärkte Hemmung des internalen Segments des Pallidums und der damit fehlenden Hemmung des Thalamus könnte dies zu der im OF gezeigten erhöhten motorischen Aktivität führen.

### **6.3.2 Eine akute Behandlung frühkindlich gestresster Tiere mit 1mg/kg Methylphenidat führt zu einer Verminderung der Hyperaktivität und einer Erhöhung der metabolischen Aktivität präfrontaler Gehirngebiete**

Bei den frühkindlich gestressten Degus zeigt sich hingegen ein anderes Bild: Eine Behandlung dieser Tiere mit einer akuten Dosis von 1 mg/kg MP führt im Standard-OF zu einer signifikanten und im modifizierten OF zu einer tendenziellen Verminderung der Laufaktivität im Vergleich zu den salinebehandelten frühkindlich gestressten Kontrolltieren. Eine Behandlung mit 5 mg/kg MP führt hingegen zu einem Anstieg der Laufaktivität im Vergleich zu den salinebehandelten Tieren und damit zu einem entgegengesetzten Effekt als bei MP1-behandelten Tieren. Dieses Ergebnis steht damit im Gegensatz zu pharmakologischen Studien, die an Standardlabortieren durchgeführt wurden, die eine derartige dosisabhängige Verminderung der Hyperaktivität infolge einer MP-Behandlung nicht zeigen konnten (Gaytan et al., 1997; Amini et al., 2004). Nach einer Behandlung mit 1 mg/kg MP wurde im modifizierten OF zudem eine tendenzielle Verbesserung der Aufmerksamkeit/Reaktivität frühkindlich gestresster Tiere gegenüber dem eingespielten Geschwistertern nachgewiesen. Die schlechtere Performance beim Test der Aufmerksamkeit beider Aufzuchtgruppen nach 5 mg/kg MP im modifizierten OF kann durch potentielle

Überdosierungseffekten (s.o.) oder durch die stark reduzierte Verarbeitung akustischer Reize nach hohen MP-Dosen erklärt werden (Yang et al., 2006).

Beim Parameter vertikale Exploration waren nur von den Aufzuchtbedingungen unabhängige, dosisabhängige Effekte der akuten MP-Behandlung erkennbar. Frühkindlich gestresste Tiere zeigten hingegen unabhängig von der pharmakologischen Behandlung vermehrtes Putzverhalten und höhere Defäkationsraten.

Zwischen den frühkindlich gestressten und ungestressten Gruppen ergaben sich auch auf der Untersuchungsebene der metabolischen Gehirnaktivität unterschiedliche dosisabhängige MP-Effekte. In der vorliegenden Studie führt eine Behandlung der frühkindlich gestressten Tiere mit 1 mg/kg MP in präfrontalen Gehirnbereichen, wie dem ACd, IL und PL zu einer signifikanten Erhöhung der metabolischen Gehirnaktivität auf das Aktivitätsniveau der salinebehandelten Kontrolltiere. Im PL und IL reagierten die frühkindlich gestressten Tiere damit anders auf die 1mg/kg MP-Injektion als die Kontrolltiere, denn bei letzteren fehlte ein entsprechender Aktivitätsanstieg (siehe 6.3.1). Die stärkste Angleichung erfolgte dabei im IL, einem Gehirnbereich, der für eine stress-spezifische Regulation bekannt und vor allem an der Regulation von Angstverhalten beteiligt ist (Inoue et al., 1996; Balaban, 2002).

Eine Behandlung frühkindlich gestresster Tiere mit 5 mg/kg MP führte im Gegensatz zu der 1 mg/kg-Dosis zu keinem Anstieg der metabolischen Aktivität dieser Gehirnregionen. Im OFC konnten hingegen derartige aufzuchtsspezifische Aktivitätsänderungen nicht festgestellt werden, denn akut 1 und 5 mg/kg MP injizierte Tiere zeigten unabhängig von der Aufzuchtform eine höhere metabolische Gehirnaktivität als SAL-behandelte Tiere.

Im Striatum und SSC zeigten sich interessanterweise bei den frühkindlich gestressten Gruppen überhaupt keine signifikanten Gruppenunterschiede. Die Mittelhirnareale VTA und SN wiesen hingegen einen vergleichbaren Anstieg der metabolischen Gehirnaktivität bei einer Behandlung mit MP1 und MP5 auf. Alle anderen Gehirngebiete konnten aufgrund fehlender Interaktionen der Faktoren AUFZUCHT und PHARM nur unabhängig von der Aufzuchtform betrachtet werden. Hier zeigen Bereiche des Hippocampus (DG, CA3) einen signifikanten Anstieg der metabolischen Aktivität nach 1 mg/kg MP, sowie Bereiche der Amygdala (BLA), des Thalamus (MD) sowie das Mediale Geniculatum einen Anstieg nach 1 und 5 mg/kg MP.

In den dopaminergen Ursprungsgebieten VTA und SN wurde in den frühkindlich gestressten Tieren ein dosisabhängiger Anstieg der metabolischen Aktivität nachgewiesen. Eine moderate Erhöhung der Aktivität dieser Gebiete müsste auf Grundlage der oben

beschriebenen neuronalen Kreisläufe wie bei den Kontrolltieren zu einer gesteigerten Aktivität des „indirekten Weges“ des nigrostriatalen Schaltkreises im Bereich der Basalganglien führen. Theoretisch müsste sich dies in einer erhöhten Aktivität des Striatums im 2-FDG-Experiment niederschlagen, die jedoch nur tendenziell vorhanden ist. Hierfür könnten jedoch, durch die gesteigerte PFC-Aktivität verstärkte, hemmende Feedbackmechanismen des PFC auf die Basalganglien verantwortlich sein (Taber & Fibiger, 1995).

Zu betonen ist an dieser Stelle jedenfalls, dass sowohl die metabolische Aktivität der Präfrontalcortexbereiche, als auch (tendentiell) die Performance der frühkindlich elternseparierten Tiere im Aufmerksamkeitstest (modifiziertes OF) durch eine Behandlung mit 1 mg/kg MP erhöht wird, was in der Literatur z.B. durch eine Verbesserung der Filterung von Signalen (Minderung von Hintergrund-oder Störsignalen im Vergleich zur Stärke der Haupttransmission) bei erhöhter präfrontaler Aktivität erklärt wird (Volkow et al., 2001). In ADHD-Patienten führt dies zu einer aufgabenspezifischen Erhöhung der Aufmerksamkeit und einer Verminderung der Ablenkbarkeit (Volkow et al., 2001). Dieser Effekt wurde auch in fMRI-Studien an ADHD-Patienten, bei denen eine MP-Behandlung eine Erhöhung der metabolischen Aktivität der Präfrontalcortexbereiche bzw. der Performance in präfrontalcortexspezifischen Verhaltenstests von ADHD-Patienten bewirkte, nachgewiesen (Vaidya et al., 1998; Brodeur & Pond, 2001). Eine MP-induzierte Verbesserung der selektiven Aufmerksamkeit bei niedrigen MP-Dosen wurde in Rattenstudien in dem speziell für die Analyse dieses Parameters entwickelten „Five-choice serial reaction time task“ (5-CSRTT, siehe 6.2) beschrieben. Hier wurden Ratten mit schlechten Ergebnissen im 5-CSRTT-Test ausgewählt und ihr Verhalten vor und nach einer MP-Gabe mit der von Standardtieren mit besserer 5-CSRTT-Performance verglichen. Eine Verbesserung der Testergebnisse zeigte sich nur in der Gruppe mit der vorher schlechteren 5-CSRTT-Performance. In Studien, in der impulsive und weniger impulsive Ratten einander gegenübergestellt wurden, bewirkte eine MP-Behandlung eine Verminderung des impulsiven Verhaltens der impulsiveren Gruppe (Adriani & Laviola, 2004). In anderen Studien wurden zusätzlich dosisabhängige Effekte (umgedrehtes „U“, d.h. mit verbesserter Performance bei niedrigen MP-Dosen und erhöhter Fehlerrate bei höheren MP-Dosen im „Delayed-Alternation-Task“) festgestellt (Arnsten & Dudley, 2005). Bei den genannten Studien zeigte sich ein positiver Effekt der MP-Behandlung also nur in den vorher „verhaltensauffälligen“ Gruppen (schlechtes 5-CSRTT-Ergebnis, höhere Impulsivität, Hyperaktivität in der vorliegenden Elternseparationsstudie). Die Ergebnisse dieser Studien

sowie die unter 6.3.1 beschriebenen Effekte der MP-Behandlung in den Kontrollgruppen zeigt deutlich, dass eine Untersuchung zu Effekten einer MP-Behandlung auf derartige Parameter in Standardlabortieren weniger sinnvoll ist.

Auch bei der allgemeinen Diskussion der zu verwendenden MP-Dosis muss die „Vorgeschichte“ des Tieres beachtet werden. Zum Zeitpunkt der Planung der vorliegenden Studie waren MP-Konzentrationen um 5 mg/kg MP in tierexperimentellen Studien allgemein als vergleichbar zu klinischen Studien angesehen, da pharmakologische Effekte in Tierstudien aufgrund des höheren Stoffumsatzes vieler Tierarten häufig höhere Konzentrationen der pharmakologischen Substanz benötigen (Gerasimov et al., 2000; Yang et al., 2003). Jedoch häuften sich in letzter Zeit die Literaturhinweise, dass auch in Tierstudien weitaus niedrigere MP-Dosen als 5 mg/kg MP angewandt werden sollten, da bereits die orale Gabe von 2 mg/kg MP sowie intraperitoneale Dosen von 0.25-1 mg/kg zu klinisch relevanten Blutplasmaleveln und zu einer Erhöhung der PFC-gebundenen Aufmerksamkeit führt, hingegen bereits 1 mg/kg MP eine zusätzliche Erhöhung der motorischen Aktivität auslöst (Berridge et al., 2006). Allerdings wurden in der genannten Studie normale Standardratten benutzt, die somit bei den Haltungsbedingungen der Kontrollgruppe der vorliegenden Studie ähnelt. In der vorliegenden Studie wurde in dieser Gruppe der Effekt der erhöhten motorischen Aktivität nachgewiesen, hingegen war bei den frühkindlich gestressten Tieren gerade diese MP-Dosis pharmakologisch wirksam (Reduktion der Laufaktivität). Es muss bei der Diskussion um das Erreichen positiver pharmakologischer Effekte also nicht nur die einzusetzende pharmakologische Dosis, sondern auch die „Performance“ der Versuchstiere, d.h. Verwendung von „verhaltensauffälligen“ Gruppen (schlechtes 5-CSRTT-Ergebnis, höhere Impulsivität, Hyperaktivität, siehe oben) diskutiert werden.

Zusammenfassend kann damit gesagt werden, dass die vorliegende Studie die durch den frühkindlichen Trennungsstress induzierten regionsabhängigen Veränderungen der 2-FDG-Aktivität und die begleitenden, an das ADHD-Syndrom erinnernde Änderungen des Verhaltens (Hyperaktivität, verminderte Aufmerksamkeit) teilweise durch eine Behandlung mit 1 mg/kg MP normalisiert werden können.

#### **6.4 Chronische Methylphenidatbehandlung im Tiermodell Degu**

Neben der eben beschriebenen Analyse der Akutwirkung des dopaminergen Pharmakons Methylphenidat sollte nun weiterhin geklärt werden, welche Effekte eine chronische MP-Behandlung während der Präpubertät auf das Verhalten frühkindlich gestresster und

ungestresster Degus hat und ob es Unterschiede zur Akutwirkung am PND 22 gibt. Aufgrund finanzieller Einschränkungen war ein funktionelles Imaging bei 45-tägigen Degus nicht möglich, da die sehr teure, in der 2-FDG-Methode angewendete, radioaktive Substanz gewichtsbezogen verabreicht wird und bei den, im Vergleich zu den untersuchten juvenilen Degus doppelt so schweren, adoleszenten Tieren sehr hohe 2-FDG-Dosen erfordert hätte.

An Tieren dieses Alters wurden jedoch histologische Untersuchungen durchgeführt. Die angewandte Golgi-Cox Methode diente dabei zur Abschätzung von Veränderungen der synaptischen Vernetzung der untersuchten Gehirngebiete und sollte die Arbeitshypothese überprüfen, dass die in den Verhaltensuntersuchungen der vorliegenden Dissertation und in Braun et al., 2003 im Tiermodell Degu festgestellte Verringerung der Aufmerksamkeit gegenüber emotional positiven Stimuli (artspezifischen Vokalisationen), möglicherweise auf strukturelle Veränderungen des Präfrontalcortex, zurückzuführen ist. Wie im Einleitungsteil ausführlich dargelegt, wurde der ACd aufgrund seiner Bedeutung bei der Steuerung von Aufmerksamkeit und exekutiven Funktionen (Devinsky et al., 1995; Casey et al., 1997; Carter et al., 1999) sowie der veränderten metabolischen Aktivität des ACd beim klinischen ADHD (Bush et al., 1999; Rubia et al., 1999; Durston, 2003) und im vorliegenden Tiermodell (vgl. Kapitel 4.2.2.2) als Untersuchungsgebiet für eine genauere morphologische Analyse von Pyramidenzellen dieses Gehirngebietes ausgewählt.

#### **6.4.1 Chronische Methylphenidatbehandlung führt zu einer dosisabhängigen Erhöhung der dendritischen Länge und Komplexität sowie bei gestressten Tieren zu einer Normalisierung der Spinedichte apikaler Dendriten**

Die durchgeführte Analyse der dendritischen Morphologie der Pyramidenzellen der Schicht II/III des ACd von frühkindlich gestressten und ungestressten Degus mittels Golgi-Cox-Färbung ergab, dass eine chronische MP-Behandlung unabhängig von der Aufzuchtform zu längeren und komplexeren Dendriten führt (vgl. Kapitel 5.6.1). Die Analysen der Spinefrequenz der Pyramidenzellen der Schicht II/III des ACd zeigten hingegen unterschiedliche Wirkungen des frühkindlichen Stresses und der anschließenden chronischen MP-Behandlung auf die Spinefrequenzen der untersuchten Neurone (vgl. Kapitel 5.6.3). Innerhalb der salinebehandelten Kontrollgruppen führte frühkindlicher Stress zu einer Erhöhung der Spinefrequenzen apikaler und basaler Dendriten. Wurden frühkindlich gestresste und ungestresst aufgewachsene Tiere jedoch zwischen PND 22 und 45 mit MP behandelt, zeigte sich ein anderer Effekt, da frühkindlich gestresste, mit 1 mg/kg MP behandelte Tiere signifikant geringere apikale Spinefrequenzen aufwiesen, als

frühkindlich gestresste, mit Saline behandelte Tiere. Die elternseparationstress-induzierte Erhöhung der Spinefrequenz konnte also durch eine chronische Behandlung mit 1 mg/kg MP von PND 22-45 „normalisiert“ werden. Hingegen zeigten sich zwischen saline- und MP1-behandelten Kontrolltieren keine signifikanten Unterschiede. Eine Behandlung mit 5 mg/kg MP führte in Kontrolltieren zum entgegengesetzten Effekt, d.h. einer Erhöhung der Spinefrequenz. Es kann daher eine kombinierte Wirkung aus frühkindlicher Stresserfahrung und der chronischen MP-Wirkung angenommen werden. Eine Wirkung des Injektionsstresses per se ist hingegen ausgeschlossen, da alle experimentellen Gruppen täglich injiziert und damit vergleichbar behandelt wurden.

Interessanterweise führte in der vorliegenden Studie die niedrigere MP-Konzentration (1 mg/kg MP) zu längeren und komplexeren Dendriten als die höhere MP-Dosis (5 mg/kg MP). Unter der Annahme einer Korrelation der Stärke der dopaminergen Stimulation mit der induzierten Verlängerung der Dendriten scheint die tägliche MP-Applikation demnach vor allem bei einer Dosis von 1mg/kg MP zu einer Erhöhung der dopaminergen Afferenzen des ACd geführt zu haben. Da eine derartige dosisabhängige umgekehrt u-förmige Aktivität präfrontaler Gebiete in der vorliegenden Studie bereits bei der 2-FDG-Untersuchung frühkindlich gestresster akut MP-behandelter Tiere beschrieben wurde, kann angenommen werden, dass die MP-induzierte Aktivierung der präfrontalen Bereiche des mesocorticolimbischen Systems (vgl. 6.3.2) über den Zeitraum der chronischen MP-Behandlung zu der eben beschriebenen Dendritenverlängerung führte. Das Ergebnis der durch die MP-Behandlung induzierten Verlängerung der Dendriten ist damit vergleichbar mit Studien an Ratten, die zeigten, dass die chronische Behandlung mit dopaminergen Stimulanzien (hier Kokain und Amphetamin) verlängerte und stärker verzweigte Dendriten in adulten und juvenilen Ratten induziert (Robinson & Kolb, 1999; Diaz-Heijtz et al., 2003; Crombag et al., 2005).

Die in der vorliegenden Studie durchgeführte differenzierte räumliche Betrachtung der Shollanalyse der Schnittpunkte mit den Einzelshollsphären (vgl. Abb. 51) verdeutlichte zudem, dass die chronische Behandlung mit 1 mg/kg (aber nicht 5 mg/kg) MP in frühkindlich gestressten und ungestressten Tieren zu einer Erhöhung der Komplexität vor allem in den proximalen Apikaldendritenabschnitten führt. In den distaleren Apikaldendritenabschnitten ergeben sich hingegen keine signifikanten Gruppenunterschiede. In den Basaldendriten zeigt sich in proximalen und distalen Dendritenabschnitten eine Tendenz (Signifikanz bei 90 µm) zur erhöhten Komplexität nach einer Behandlung mit 1 mg/kg MP. Es kann daher angenommen werden, dass vor allem die



in der frühen Phase der Neuronenentwicklung ausgebildeten, proximalen Verzweigungen (untere Verzweigungsordnungen) besonders vulnerabel auf die potentiell erhöhte synaptische Aktivität reagieren.

Neben der eben beschriebenen Analyse der Trennungsstress- und MP-induzierten Veränderungen der Dendritenlänge und -komplexität wurden in der vorliegenden Untersuchung auch Analysen der Spinefrequenz der Pyramidenzellen der Schicht II/III des ACd durchgeführt (vgl. Kapitel 5.6.3). Schon in früheren Degustudien, jedoch unter Verwendung eines leicht veränderten Stressparadigmas wurden bereits an 21-tägigen Degus signifikant erhöhte Spinefrequenzen nach frühkindlichem wiederholten Trennungsstress gezeigt (Poeggel et al., 2003a). Dieser stressinduzierte Effekt bleibt bis zum Zeitraum der Adoleszenz (PND 45) nachweisbar (Helmeke et al., 2001a; Helmeke et al., 2001b), auch eine tägliche Behandlung mit Saline von PND 22 und 45 führt zu keiner Änderung dieser Tendenz (vorliegende Dissertation). Dieses Ergebnis scheint auf den ersten Blick Literaturangaben zu widersprechen, die eine Verringerung von Spinedichten nach Stresserfahrungen beschreiben (Radley et al., 2006). Doch wie schon beim stressinduzierten Glukokortikoid-Anstieg diskutiert (vgl. 6.1), scheint auch bei der Induktion von Spinefrequenzveränderungen die Stärke und Art der Stresserfahrung entscheidend zu sein. Es wurde im Kapitel 6.1 bereits auf den entgegengesetzten Effekt verschiedener Längen (und damit unterschiedlicher Intensität) des frühkindlichen Trennungsstress auf die Stressreaktion bei wiederholten Stresserfahrungen hingewiesen. So scheint es auch bei den Effekten des Stress auf die Spinefrequenz zu unterschiedlichen Effekten in Abhängigkeit der Stressform- und Intensität zu kommen. Der vergleichsweise kurze Stress einer einstündigen Separation könnte daher zu ähnlichen Effekten führen, wie die Haltung von Versuchstieren unter "enriched environment"-Bedingungen (in größeren Käfigen mit zusätzlichen Röhren, Spielzeug, Klettermaterial zur Exploration etc.). Bei Tieren, die unter diesen Bedingungen gehalten wurden, konnten ähnlich wie in der vorliegenden Studie im Vergleich zu in Standardkäfigen gehaltenen Tieren Steigerungen der Spinefrequenzen in verschiedenen Gehirngebiete nachgewiesen werden (Kolb et al., 2003, Markham & Greenough, 2004, Globus et al., 1973). Es kann hier nur spekuliert werden, inwieweit direkte MP-Effekte im ACd oder indirekte Wirkungen aufgrund veränderter Afferenzen des PFC aus anderen stark dopaminerg innervierten Gebieten, wie den Basalganglien und dem Mittelhirn zu diesem Effekt führen.

Somit scheint der MP-induzierte Anstieg der extrazellulären Dopaminkonzentration nicht nur zu einer Simulation des Längenwachstums zu führen, sondern auch an der

Feinabstimmung der synaptischen Kontakte beteiligt zu sein. Dopamin könnte dabei sowohl die synaptische Proliferation als auch das nachfolgende Pruning (den lern- und entwicklungsbedingten selektiven Um- und Abbau) von Neuronen beeinflussen, also Prozessen, die durch Netzwerkaktivität gesteuert werden (Yuste & Bonhoeffer, 2001; Segal, 2005; Holtmaat et al., 2005). Die damit verbundenen morphologische Plastizität der Neuronen, wie die Änderungen von Spinezahl sowie -form oder -größe (Harris et al., 1992) wird auch in Verbindung mit Prozessen der Lang-Zeit-Potenzierung (LTP) diskutiert (Trommald et al., 1996). So führte eine LTP-Induktion im sensorimotorischen Cortex von Ratten zu Veränderungen der Dendritenmorphologie und Spinedichte von Schicht-III Pyramidenzellen (Ivanco et al., 2000). Derartige Veränderungen des Neuronennetzwerkes werden allgemein als zelluläre Basis für Lern- und Gedächtnisprozesse angesehen (Horner, 1993). Beispielsweise führt räumliches Lernen im Hippocampus (Moser et al., 1994) oder die akustische Filialprägung von Haushühnküken (Wallhauser & Scheich, 1987; Bock & Braun, 1998) in lernrelevanten Vorderhirnarealen zu Veränderungen der Spinedichte. Interessanterweise führt frühkindlicher Stress im vorliegenden Tiermodell zwar zu verringerten Faserdichten im mPFC (Braun et al., 2000) und geringerer metabolischer Gehirnaktivität im ACd, was bedeuten würde, dass sich die Spinefrequenzen der untersuchten Neurone dieses Gebietes trotz verminderter afferenter Eingänge erhöhen. Möglicherweise ist dieser Prozess daher als eine ausgleichende Gegenregulation der zu niedrigen dopaminergen Eingänge bei frühkindlich gestressten Tieren anzusehen. Ebenso könnte ein durch die veränderte Innervation gestörtes Pruning zu den höheren Spinefrequenzen führen. Werden frühkindlich gestresste Tiere nun chronisch mit der MP-Dosis behandelt, die im akuten Experiment am PND 22 zu einer Erhöhung der metabolischen Aktivität führt (1 mg/kg MP), scheint die Feinabstimmung der synaptischen Kontakte hinsichtlich der Spinedichten wieder auf das Niveau der salinebehandelten Kontrolltiere herunterreguliert zu werden. Es kann an dieser Stelle nur vermutet werden, welche intrazellulären Kaskaden an der dopaminergen Modulation der neuronalen Morphologie und der synaptischen Vernetzung beteiligt sind. Mögliche Signalwege könnten z.B. über die Aktivierung oder Deaktivierung von Transkriptionsfaktoren und IEGs (immediate-early genes), wie Homer 1A und Zif 268 (Yano & Steiner, 2005), Arc (activity-regulated cytoskeleton associated protein, Tan et al., 2000), c-fos (Chase et al., 2005) und CREB (Nestler, 2001) moduliert werden, da bei ihnen eine veränderte Expression nach einer Behandlung mit dopaminerg wirkenden Stimulantien, wie Amphetamin und MP beschrieben wurde.

Dies lässt darauf schließen, dass im präadoleszenten Alter die dendritischen Strukturen noch plastisch sind und dass eine chronisch erhöhte Dopaminaktivität (ausgelöst durch MP) diese Wachstumsvorgänge stimuliert. Diese Ergebnisse verdeutlichen ausserdem, dass Prozesse der neuromorphologischen Plastizität des ACd, wie die synaptische Reorganisation sowie das Dendritenwachstum im präadoleszenten Alter vorhanden sind.

Da die untersuchten Dendritenbäume strukturelle Elemente der Neuronen zur Aufnahme und Verarbeitung excitatorischer und inhibitorischer Signaleingänge darstellen, sollte die erhöhte Dendritenlänge und –komplexität ein Kennzeichen für eine komplexere Vernetzung der Zelle im kortikalen Netzwerk darstellen. Nicht geklärt ist dabei jedoch, in welcher Art und Weise dieser angenommene Anstieg der synaptischen Eingänge an Spine- und eine potentiell mögliche Veränderung der Schaftsynapsendichte, wie bei frühkindlichem Stress (Helmeke et al., 2001a) die sozio-emotionale oder kognitive Kompetenz der MP-behandelten Jungtiere im Hinblick auf ihre weitere Entwicklung zum erwachsenen Tier beeinflusst.

#### **6.4.2 Nach chronischer Saline- und Methylphenidatbehandlung zeigen sich im Open Field keine deutlichen Effekte des frühkindlichen Stresses mehr**

Ist die veränderte dendritische und synaptische Morphologie der Schicht II/III Pyramidenzellen des ACd frühkindlich gestresster, MP-behandelter Tiere am PND46 nun mit den Ergebnissen der Verhaltenstest in diesem Altersstadium korrelierbar? Bei der Analyse der Ergebnisse des Verhaltenstests #3 (d.h. vor der letzten MP Injektion) wird deutlich, dass nach mehr als dreiwöchiger pharmakologischer Behandlung im Gegensatz zu den Ergebnissen der OF-Tests im juvenilen Tieralter (PND 22, Test #1+2) nur wenige aufzuchtabhängige Verhaltenseffekte zu verzeichnen sind. Salinebehandelte frühkindlich gestresste Tiere zeigen im Gegensatz zu den Versuchen am PND 22 weder eine erhöhte motorische Aktivität (Abb. 21A) im Standard-OF, noch eine verringerte Aufmerksamkeit gegenüber den im modifizierten OF eingespielten Geschwistervokalisationen (Abb. 25). Letzteres war hinsichtlich der oben beschriebenen strukturellen Veränderungen des ACd nicht zu erwarten.

Signifikant vermehrte Putzbewegungen (Abb. 22B) im Standard-OF, eine tendenziell erhöhte Anzahl vertikaler Explorationsbewegungen (Abb. 24A) und eine signifikant erhöhte Anzahl von Eintritten in den Tonquadranten frühkindlich gestresster Tiere (Abb. 25C) im modifizierten OF am PND 45 erinnert jedoch noch an das separationsbedingt veränderte Verhalten der elternseparierten Tiere am PND 22. Für das „Verschwinden“ der sonstigen

trennungsstressbedingten Verhaltensauffälligkeiten könnten einerseits methodische Ursachen verantwortlich sein. Das wiederholte Exponieren eines Versuchstieres in eine gleichbleibende Testsituation kann zu einem Gewöhnungseffekt führen, der möglicherweise zu einer Abnahme der wahrscheinlich stressinduzierten Verhaltensmerkmale (Novelty-Effekt bei Platzierung in der Testarena) führt. Dieser Effekt wurde bereits für mehrmals kurz hintereinander wiederholt in einer OF-Arena getestete Ratten beschrieben, bei denen sich die Unbekanntheit der Testarena als ein entscheidendes Testkriterium herausstellte, da die Tiere im ersten OF-Test andere Verhaltensweisen zeigten als in den nachfolgenden Tests (Colorado et al., 2006). Einschränkend kann hier gesagt werden, dass durch das vorliegende experimentelle Design eine zeitliche Lücke von 23 Tagen zwischen Test #1/2 und #3/4 lag. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass sich das Tier auch nach dieser relativ langen Zeit an die ersten beiden Tests am PND 22 erinnert. Auf der anderen Seite könnte auch das Alter der Versuchstiere zu den gezeigten Unterschieden führen, denn am PND 22 (juvenile Phase, Test #1/2) sind möglicherweise andere Reaktionen auf eine neue Umgebung und die eingespielten Geschwistertöne charakteristisch, als am PND 45 (prä-adoleszente Phase, Test #3/4). Auch könnte die Phase zwischen PND 22 und 45, in der die frühkindlich gestressten Tiere zwar (wie die Kontrolltiere) täglich injiziert wurden, aber keinen weiteren Trennungsstress erfuhren und damit mehr oder weniger ungestört im Familienverband lebten, ausgleichend auf Folgen der frühkindlichen Stresserfahrungen wirken. Diese „Regeneration“ zeigt sich möglicherweise auch bei den Körpergewichten der untersuchten Tiere, denn hier waren am PND 45 im Gegensatz zum PND 22 keine tendenziellen Unterschiede mehr zwischen beiden Aufzuchtgruppen nachweisbar.

Die Ergebnisse des Test #4 sprechen jedoch eher dafür, dass es im Test #3 zu einer „Überdeckung“ der Gruppenunterschiede im OF-Verhalten kommt, denn beim Test nach der erneuten Saline- bzw. MP-Injektion (Test #4), ergab sich ein differenzierteres Bild, bei dem unter dem Einfluss der erneuten Injektion weitere aufzuchtbedingte Gruppenunterschiede hervortraten. Im Test #4 im Standard-OF explorierten salinebehandelte frühkindlich gestresste Tiere z.B. signifikant mehr im OF-Zentrum als die salinebehandelten Kontrolltiere (Abb. 26B). Unabhängig von der pharmakologischen Behandlung zeigten frühkindlich gestresste Tiere zudem insgesamt mehr vertikale Explorationsbewegungen als Kontrolltiere (Abb. 27A). Im modifizierten OF zeigten sich aufzuchtbedingte Unterschiede der motorischen Aktivität, da frühkindlich gestresste Tiere unabhängig von der pharmakologischen Behandlung eine höhere horizontale Exploration im OF zurücklegten als Kontrolltiere. Auch im direkten Vergleich der beiden salinebehandelten Kontrollgruppen

zeigten frühkindlich gestresste Tiere eine höhere motorische Aktivität und zusätzlich tendenziell eine verringerte Tonquadrant-Aktivität als die Kontrolltiere. Diese tendenziell verminderte Laufstrecke frühkindlich gestresster salinebehandelter Kontrolltiere im Tonquadrant wurde durch eine Applikation von 1 mg/kg MP signifikant erhöht. Da dieser Effekt nur im Test #4, jedoch nicht im Test #3 auftrat, d.h. erst nach der erneuten MP-Injektion, ist demnach trotz MP-induzierter Reorganisation der dendritischen Struktur der an der Steuerung dieses Verhaltens beteiligten Gehirnregion, eine direkte Wirkung des Pharmakons Methylphenidat zur Verbesserung der Aufmerksamkeitsleistung unter den genannten Testbedingungen notwendig.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass in der vorliegenden Dissertation gezeigt wurde, dass frühkindliche emotionale Erfahrungen, wie der angewandte Trennungstress zu signifikanten Veränderungen des Verhaltens und des dopaminergen Systems auf funktionell metabolischer und struktureller Ebene führt. Es kann daher geschlussfolgert werden, dass die Entwicklung und Ausreifung des dopaminergen Systems in Abhängigkeit von ungestressten und emotionalen Erfahrungen während der Kindheit modifiziert wird.

Im Unterschied zu etablierten Tiermodellen des Krankheitsbildes ADHD, die meist genetische Ursachen des Symptombildes abbilden (Sagvolden, 2000; Gainetdinov & Caron, 2001; Davids et al., 2003), zielt das in der vorliegenden Studie verwendete Tiermodell des frühkindlich gestressten Degus damit mehr auf die Bedeutung der Umgebung des sich entwickelnden Tieres. Stresserfahrungen führen dabei zu der Entstehung von Veränderungen bestimmter neuroanatomischer Merkmale sowie des Verhaltens, die Symptomen des ADHD ähneln. Die im Tiermodell Degu abgebildeten negativen Umwelteinflüsse der frühen Kindheitsphase können dabei unter den Rahmenbedingungen der standardisierten Haltung der Tiere im Labor kontrolliert untersucht werden.

Aufgrund der in der vorliegenden Dissertation gezeigten physiologischen und verhaltensbiologischen Ähnlichkeit des frühkindlich gestressten Degus mit Schlüsselmerkmalen des Krankheitsbildes ADHD wurde nun verifiziert, dass der Degu ein geeignetes Tiermodell zur Untersuchung der Effekte frühkindlicher Umwelteinflüsse bei der Entwicklung von Sozial- und Verhaltensstörungen darstellt. Auf der Grundlage der hier dargestellten Ergebnisse können zukünftig weitere Erkenntnisse zum Verständnis ursächlicher zellulärer und neurochemischer Mechanismen des Krankheitsbildes ADHD sowie zu Langzeitfolgen pharmakologischer Behandlungen in der frühen Kindheit erlangt werden.

## Zusammenfassung

In der vorliegenden Dissertation konnte gezeigt werden, dass bei Jungtieren der Nagetierart *Octodon degus*, die in den ersten drei Lebenswochen wiederholt (täglich 1h) von den Eltern getrennt wurden, Verhaltensänderungen, wie z.B. eine verminderte Aufmerksamkeit gegenüber einem emotional positiven Stimulus und motorische Hyperaktivität ausgelöst werden. Diese Verhaltensänderungen werden von diversen neuromorphologischen Modifikationen, wie z.B. der Veränderung der neuronalen Vernetzung (erhöhte Spinedichte von Pyramidenzellen der Schicht II/III des dorsalen anterior cingulären Cortex (ACd) sowie einer Verringerung der metabolischen Gehirnaktivität präfrontaler und limbischer Gehirngebiete begleitet. Da die stressinduzierten Verhaltensänderungen an die Schlüsselsymptome des Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitätssyndroms (ADHD) erinnern, sollte mithilfe des genannten Stressparadigmas ein Tiermodell dieses Krankheitsbildes entwickelt und validiert werden.

Patienten mit ADHD werden sehr häufig mit Methylphenidat (MP), einem Hemmer des Dopamintransporters behandelt, was dort zu einer Minderung des hyperaktiven Verhaltens, einer Besserung der selektiven Aufmerksamkeit sowie einer Korrektur der krankheitsbedingt veränderten metabolischen Gehirnaktivität präfrontaler Gehirngebiete führt. Um die Wirkung dieses Pharmakons im Tiermodell Degu zu testen, wurden mit frühkindlich gestressten und ungestressten Tieren Open Field-Tests und (<sup>14</sup>C)-2-Fluoro-Deoxyglukose-Autoradiographie-Experimente (funktionelles Imaging) durchgeführt. Es zeigte sich dabei, dass eine akute Behandlung frühkindlich gestresster Tiere mit 1mg/kg MP am Postnataltag (PND) 22 das hyperaktive Verhalten signifikant reduziert sowie die Aufmerksamkeit gegenüber den emotionalen Stimuli tendenziell erhöht und dass dieselbe MP-Dosis eine Erhöhung der metabolischen Aktivität des ACd sowie weiterer präfrontaler und mesocorticolimbischer Gebiete frühkindlich gestresster Tiere bewirkt. Hingegen führte eine Behandlung frühkindlich gestresster Tiere mit 5 mg/kg MP weder zu einer Verhaltensverbesserung noch zu einer vergleichbaren Erhöhung der metabolischen Gehirnaktivität der genannten Gebiete. Zusammengefasst bedeutet dies, dass die in der vorliegenden Studie durch den frühkindlichen Trennungsstress hervorgerufenen regionspezifischen Änderungen der metabolischen Aktivität und des Verhaltens teilweise durch eine Behandlung mit MP positiv beeinflusst werden können.

Im zweiten Teil der vorliegenden Studie wurde am gleichen Tiermodell untersucht, ob eine chronische MP-Applikationen während der Präpubertät die dendritische und synaptische Entwicklung des ACd beeinflusst. Der ACd wurde dabei aufgrund seiner Bedeutung die

Steuerung von Aufmerksamkeit und exekutiven Funktionen sowie seiner veränderten metabolischen Aktivität beim klinischen ADHD und im vorliegenden Tiermodell als Untersuchungsgebiet für eine genauere morphologische Analyse von Pyramidenzellen dieses Gehirngbietes ausgewählt. Die Analyse der dendritischen Morphologie der Pyramidenzellen der Schicht II/III des ACd von frühkindlich gestressten und ungestressten Degus mittels Golgi-Cox-Färbung ergab dabei unter anderem, dass eine chronische MP-Behandlung unabhängig von der Aufzuchtform zu längeren und komplexeren Dendriten führt. Hingegen scheint die Entwicklung der Spinefrequenzen von der frühkindlichen Stresserfahrung abhängig zu sein, da die Behandlung frühkindlich gestresster Tiere mit 1 mg/kg MP zu einer Normalisierung der Spinefrequenz der Apikaldendriten von ACd-Pyramidenzellen führt, aber nicht die Behandlung ungestresster Degus mit derselben MP-Konzentration. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass Prozesse der neuromorphologischen Plastizität des ACd, wie die synaptische Reorganisation sowie das Dendritenwachstum bis zur Phase der Pubertät vorhanden sind und durch eine Behandlung mit MP behandelbar sind.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass frühkindliche emotionale Erfahrungen, wie der angewandte Trennungsstress zu signifikanten Veränderungen des Verhaltens und der metabolischen Gehirnfunktion sowie der dendritischen Morphologie präfrontaler Gehirnggebiete führen. Die Entwicklung und Ausreifung des dopaminergen Systems wird dabei in Abhängigkeit von emotionalen Erfahrungen während der Kindheit modifiziert. Das in der vorliegenden Studie verwendete Tiermodell des frühkindlich gestressten Degus verdeutlicht im Unterschied zu anderen Tiermodellen des Krankheitsbildes ADHD (die alleinig die genetischen Ursachen des Symptombildes abbilden), die Bedeutung der Umgebung des sich entwickelnden Tieres für die Entstehung von Verhaltensveränderungen und deren potentiellen neuroanatomischen und -funktionellen Ursachen. Aufgrund der physiologischen und entwicklungsbiologischen Ähnlichkeit des Degus mit dem Krankheitsbild ADHD stellt der Degu ein geeignetes Tiermodell zur Untersuchung der Effekte frühkindlicher Umwelteinflüsse bei der Entwicklung von Sozial- und Verhaltensstörungen dar.



## Summary

In the present study it could be shown that exposing pups of the rodent species *Octodon degus* to periodic separation stress during the first three postnatal weeks leads to behavioral alterations, which include reduced attention towards an emotional stimulus and motoric hyperactivity and that these alterations are paralleled by synaptic changes in the dorsal anterior cingulate cortex (ACd), a limbic cortex region which plays a key role in the modulation of attentional and executive functions. The behavioral changes shown in the animal model are reminiscent of symptoms of Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD).

Since in patients ADHD is typically treated with Methylphenidate (MP), where it can partly normalize hyperactivity and reduced attention, as well as altered brain metabolic activity in prefrontal and other brain areas, in the present study Open Field-Tests and ( $^{14}\text{C}$ )-2-fluoro-deoxyglucose-autoradiography (2-FDG) experiments were used to assess the effect of acute MP-treatment on early separation stress dependent alterations of behavior (e.g. hyperactivity) and brain metabolic activity, which was shown to be reduced in many limbic and basal brain areas. On the behavioral level acute treatment with 1 mg/kg MP on postnatal day (PND) 22 normalized hyperactive behavior. The same MP-dose increased the metabolic brain activity in the dorsal anterior cingulate, the prelimbic, infralimbic and orbitofrontal cortex in the early stressed animals, where as 5 mg/kg MP did not increase the 2-FDG-uptake. Taken together our study revealed that stress-induced altered behavior and which is paralleled by region specific alterations of 2-FDG activity can be partly reversed by acute MP-treatment.

Since the effect of chronic MP-treatment on neuronal and synaptic maturation in the developing brain was still unknown, the Golgi-Cox staining technique was applied to test in which way chronic MP-treatment interferes with dendritic and synaptic development in the ACd and whether this treatment can restore the stress-induced changes of neuronal connectivity. We found that chronic treatment with 1mg/kg MP recovers stress-induced changes of spine densities in the ACd. Furthermore, MP-treatment resulted in increased dendritic length and complexity in both, stressed as well as unstressed control animals. These results indicate that synaptic reorganization as well as dendritic growth in the prefrontal cortex continue into prepuberty and are modulated by MP-treatment. The present results reveal that early social experience and emotional challenges such as separation stress induce significant changes on behavior and on the dopaminergic system. In contrast to other established animal models for ADHD, which are mainly focussed on the genetic background of ADHD, the degu model is more related to the contribution of environmental factors to the development of

ADHD. In conclusion, the early stressed degu as animal model can provide new insights into the aetiology of ADHD in particular the underlying cellular and molecular neuronal mechanisms, a more detailed knowledge about the long-term neuronal, neurochemical and behavioral consequences of drug therapy in childhood and prepuberty.

## Literatur

- Adriani W., Caprioli A., Granstrem O., Carli M. & Laviola G. (2003): The spontaneously hypertensive-rat as an animal model of ADHD: evidence for impulsive and non-impulsive subpopulations. In: *Neurosci.Biobehav.Rev.* 27, S. 639-651.
- Adriani W. & Laviola G. (2004): Windows of vulnerability to psychopathology and therapeutic strategy in the adolescent rodent model. In: *Behav.Pharmacol.* 15, S. 341-352.
- Ago Y., Sakaue M., Baba A. & Matsuda T. (2002): Selective reduction by isolation rearing of 5-HT1A receptor-mediated dopamine release in vivo in the frontal cortex of mice. In: *J.Neurochem.* 83, S. 353-359.
- American Psychiatric Association (2000): The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. Text Revision. Washington, DC: American Psychiatric Association. 4th edition.
- Amini B., Yang P.B., Swann A.C. & Dafny N. (2004): Differential locomotor responses in male rats from three strains to acute methylphenidate. In: *Int.J.Neurosci.* 114, S. 1063-1084.
- Andersen S.L., Arvanitogiannis A., Pliakas A.M., LeBlanc C. & Carlezon W.A., Jr. (2002): Altered responsiveness to cocaine in rats exposed to methylphenidate during development. In: *Nat.Neurosci.* 5, S. 13-14.
- Anisman H., Zaharia M.D., Meaney M.J. & Merali Z. (1998): Do early-life events permanently alter behavioral and hormonal responses to stressors? In: *Int.J.Dev.Neurosci.* 16, S. 149-164.
- Arnsten A.F. & Dudley A.G. (2005): Methylphenidate improves prefrontal cortical cognitive function through alpha2 adrenoceptor and dopamine D1 receptor actions: Relevance to therapeutic effects in Attention Deficit Hyperactivity Disorder. In: *Behav.Brain Funct.* 1, S. 2.
- Arnsten A.F. & Li B.M. (2005): Neurobiology of executive functions: catecholamine influences on prefrontal cortical functions. In: *Biol.Psychiatry* 57, S. 1377-1384.
- Aron A.R., Dowson J.H., Sahakian B.J. & Robbins T.W. (2003): Methylphenidate improves response inhibition in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder. In: *Biol.Psychiatry* 54, S. 1465-1468.
- Balaban C.D. (2002): Neural substrates linking balance control and anxiety. In: *Physiol Behav.* 77, S. 469-475.
- Barbelivien A., Ruotsalainen S. & Sirvio J. (2001): Metabolic alterations in the prefrontal and cingulate cortices are related to behavioral deficits in a rodent model of attention-deficit hyperactivity disorder. In: *Cereb.Cortex* 11, S. 1056-1063.
- Barkley R.A. (1977): The effects of methylphenidate on various types of activity level and attention in hyperkinetic children. In: *J.Abnorm.Child Psychol.* 5, S. 351-369.
- Barros L.F., Porrás O.H. & Bittner C.X. (2005): Why glucose transport in the brain matters for PET. In: *Trends Neurosci.* 28, S. 117-119.
- Becker K., Abraham A., Kindler J., Helmeke C. & Braun K. (2007): Exposure to neonatal separation stress alters exploratory behavior and corticotropin releasing factor expression in neurons in the amygdala and hippocampus. In: *Dev.Neurobiol.* 67, S. 617-629.
- Berridge C.W., Devilbiss D.M., Andrzejewski M.E., Arnsten A.F., Kelley A.E., Schmeichel B., Hamilton C. & Spencer R.C. (2006): Methylphenidate preferentially increases catecholamine neurotransmission within the prefrontal cortex at low doses that enhance cognitive function. In: *Biol.Psychiatry* 60, S. 1111-1120.
- Biederman J. & Faraone S.V. (2005): Attention-deficit hyperactivity disorder. In: *Lancet* 366, S. 237-248.
- Biederman J., Milberger S., Faraone S.V., Kiely K., Guite J., Mick E., Ablon S., Warburton R. & Reed E. (1995): Family-environment risk factors for attention-deficit hyperactivity disorder. A test of Rutter's indicators of adversity. In: *Arch.Gen.Psychiatry* 52, S. 464-470.
- Birbaumer N. & Schmidt R. (2003): Biologische Psychologie. Berlin; Heidelberg; New York: Springer Verlag. 5. Auflage.
- Bock J. (1998): Lerninduzierte synaptische Veränderungen in assoziativen Vorderhirnarealen des Haushuhnükens (*Gallus gallus domesticus*). Dissertationsschrift. Department of Zoology / Developmental Neurobiology, Otto-von Guericke-University Magdeburg, Germany.
- Bock J. & Braun K. (1998): Differential emotional experience leads to pruning of dendritic spines in the forebrain of domestic chicks. In: *Neural Plast.* 6, S. 17-27.
- Bock J. & Braun K. (1999a): Blockade of N-methyl-D-aspartate receptor activation suppresses learning-induced synaptic elimination. In: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 96, S. 2485-2490.
- Bock J. & Braun K. (1999b): Filial imprinting in domestic chicks is associated with spine pruning in the associative area, dorsocaudal neostriatum. In: *Eur.J.Neurosci.* 11, S. 2566-2570.
- Bock J., Schnabel R. & Braun K. (1997): Role of the dorso-caudal neostriatum in filial imprinting of the domestic chick: a pharmacological and autoradiographical approach focused on the involvement of NMDA-receptors. In: *Eur.J.Neurosci.* 9, S. 1262-1272.
- Bock J., Wolf A. & Braun K. (1996): Influence of the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist DL-2-amino-5-phosphonovaleric acid on auditory filial imprinting in the domestic chick. In: *Neurobiol.Learn.Mem.* 65, S. 177-188.

- Bolanos C.A., Barrot M., Berton O., Wallace-Black D. & Nestler E.J. (2003): Methylphenidate treatment during pre- and periadolescence alters behavioral responses to emotional stimuli at adulthood. In: *Biol.Psychiatry* 54, S. 1317-1329.
- Brake W.G., Zhang T.Y., Diorio J., Meaney M.J. & Gratton A. (2004): Influence of early postnatal rearing conditions on mesocorticolimbic dopamine and behavioural responses to psychostimulants and stressors in adult rats. In: *Eur.J.Neurosci.* 19, S. 1863-1874.
- Braun K., Kremz P., Wetzel W., Wagner T. & Poeggel G. (2003): Influence of parental deprivation on the behavioral development in *Octodon degus*: modulation by maternal vocalizations. In: *Dev.Psychobiol.* 42, S. 237-245.
- 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*. In: *Neuroscience* 95, S. 309-318.
- Braun K. & Poeggel G. (2001): Recognition of Mother's voice evokes metabolic activation in the medial prefrontal cortex and lateral thalamus of *Octodon degus* pups. In: *Neuroscience* 103, S. 861-864.
- Braun S. (1992): Verhaltensrelevanz artspezifischer Vokalisationen und ihr 14C-2Deoxyglucosemuster im Cortex des Degu (*Octodon degus*, Rodentia). Dissertationsschrift. Fachbereich Biologie der Technischen Hochschule Darmstadt.
- Brodeur D.A. & Pond M. (2001): The development of selective attention in children with attention deficit hyperactivity disorder. In: *J.Abnorm.Child Psychol.* 29, S. 229-239.
- Browder S., German D.C. & Shore P.A. (1981): Midbrain dopamine neurons: differential responses to amphetamine isomers. In: *Brain Res.* 207, S. 333-342.
- Bunney B.S., Aghajanian G.K. & Roth R.H. (1973): Comparison of effects of L-dopa, amphetamine and apomorphine on firing rate of rat dopaminergic neurones. In: *Nat.New Biol.* 245, S. 123-125.
- 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*). In: *J.Neural Transm.* 111, S. 451-463.
- Bush G., Frazier J.A., Rauch S.L., Seidman L.J., Whalen P.J., Jenike M.A., Rosen B.R. & Biederman J. (1999): Anterior cingulate cortex dysfunction in attention-deficit/hyperactivity disorder revealed by fMRI and the Counting Stroop. In: *Biol.Psychiatry* 45, S. 1542-1552.
- Bush G., Valera E.M. & Seidman L.J. (2005): Functional neuroimaging of attention-deficit/hyperactivity disorder: a review and suggested future directions. In: *Biol.Psychiatry* 57, S. 1273-1284.
- Caldji C., Diorio J. & Meaney M.J. (2000): Variations in maternal care in infancy regulate the development of stress reactivity. In: *Biol.Psychiatry* 48, S. 1164-1174.
- Carter C.S., Botvinick M.M. & Cohen J.D. (1999): The contribution of the anterior cingulate cortex to executive processes in cognition. In: *Rev.Neurosci.* 10, S. 49-57.
- Casey B.J., Castellanos F.X., Giedd J.N., Marsh W.L., Hamburger S.D., Schubert A.B., Vauss Y.C., Vaituzis A.C., Dickstein D.P., Sarfatti S.E. & Rapoport J.L. (1997): Implication of right frontostriatal circuitry in response inhibition and attention-deficit/hyperactivity disorder. In: *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 36, S. 374-383.
- Castellanos F.X. (2001): Neural substrates of attention-deficit hyperactivity disorder. In: *Adv.Neurol.* 85, S. 197-206.
- Castellanos F.X., Sonuga-Barke E.J., Milham M.P. & Tannock R. (2006): Characterizing cognition in ADHD: beyond executive dysfunction. In: *Trends Cogn Sci.* 10, S. 117-123.
- Chase T.D., Carrey N., Brown R.E. & Wilkinson M. (2005): Methylphenidate regulates c-fos and fosB expression in multiple regions of the immature rat brain. In: *Brain Res.Dev.Brain Res.* 156, S. 1-12.
- Clement Y. & Chapouthier G. (1998): Biological bases of anxiety. In: *Neurosci.Biobehav.Rev.* 22, S. 623-633.
- 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. In: *Behav.Processes* 71, S. 51-58.
- Counts C.A., Nigg J.T., Stawicki J.A., Rappley M.D. & von E.A. (2005): Family adversity in DSM-IV ADHD combined and inattentive subtypes and associated disruptive behavior problems. In: *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 44, S. 690-698.
- Crombag H.S., Gorny G., Li Y., Kolb B. & Robinson T.E. (2005): Opposite effects of amphetamine self-administration experience on dendritic spines in the medial and orbital prefrontal cortex. In: *Cereb.Cortex* 15, S. 341-348.
- Davids E., Zhang K., Tarazi F.I. & Baldessarini R.J. (2003): Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder. In: *Brain Res.Brain Res.Rev.* 42, S. 1-21.
- Davidson R.J., Putnam K.M. & Larson C.L. (2000): Dysfunction in the neural circuitry of emotion regulation--a possible prelude to violence. In: *Science* 289, S. 591-594.

- Dawirs R.R., Teuchert-Noodt G. & Czaniera R. (1993): Maturation of the dopamine innervation during postnatal development of the prefrontal cortex in gerbils (*Meriones unguiculatus*). A quantitative immunocytochemical study. In: *J.Hirnforsch.* 34, S. 281-290.
- de Bruin J.P., Feenstra M.G., Broersen L.M., Van Leeuwen M. & De Fries S. (2000): Role of the prefrontal cortex of the rat in learning and decision making: effects of transient inactivation. In: *Cognition, emotion and autonomic responses: the integrative role of the prefrontal cortex and limbic structures*. (Uylings HB, van Eden CG, de Bruin JP, Feenstra MG, Pennartz CMA, eds), pp 103-113. Amsterdam. Elsevier.
- de Haes J.I., Maguire R.P., Jager P.L., Paans A.M. & den Boer J.A. (2007): Methylphenidate-induced activation of the anterior cingulate but not the striatum: a [<sup>15</sup>O]H<sub>2</sub>O PET study in healthy volunteers. In: *Hum.Brain Mapp.* 28, S. 625-635.
- Devinsky O., Morrell M.J. & Vogt B.A. (1995): Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour. In: *Brain* 118, S. 279-306.
- Diaz-Heijtj R., Kolb B. & Forssberg H. (2003): Can a therapeutic dose of amphetamine during pre-adolescence modify the pattern of synaptic organization in the brain? In: *Eur.J.Neurosci.* 18, S. 3394-3399.
- Dinn W.M., Robbins N.C. & Harris C.L. (2001): Adult attention-deficit/hyperactivity disorder: neuropsychological correlates and clinical presentation. In: *Brain Cogn* 46, S. 114-121.
- Durstun S. (2003): A review of the biological bases of ADHD: what have we learned from imaging studies? In: *Ment.Retard.Dev.Disabil.Res.Rev.* 9, S. 184-195.
- Durstun S., Tottenham N.T., Thomas K.M., Davidson M.C., Eigsti I.M., Yang Y., Ulug A.M. & Casey B.J. (2003): Differential patterns of striatal activation in young children with and without ADHD. In: *Biol.Psychiatry* 53, S. 871-878.
- Epstein J.N., Conners C.K., Erhardt D., Arnold L.E., Hechtman L., Hinshaw S.P., Hoza B., Newcorn J.H., Swanson J.M. & Vitiello B. (2000): Familial aggregation of ADHD characteristics. In: *J.Abnorm.Child Psychol.* 28, S. 585-594.
- Escorihuela R.M., Fernandez-Teruel A., Gil L., Aguilar R., Tobena A. & Driscoll P. (1999): Inbred Roman high- and low-avoidance rats: differences in anxiety, novelty-seeking, and shuttlebox behaviors. In: *Physiol Behav.* 67, S. 19-26.
- Feenstra M.G. (2000): Dopamine and noradrenaline release in the prefrontal cortex in relation to unconditioned and conditioned stress and reward. In: *Prog.Brain Res.* 126, S. 133-163.
- Feldman M.L. & Peters A. (1979): A technique for estimating total spine numbers on Golgi-impregnated dendrites. In: *J.Comp Neurol.* 188, S. 527-542.
- Furman L. (2005): What is attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD)? In: *J.Child Neurol.* 20, S. 994-1002.
- Fuster J.M. (2000): Executive frontal functions. In: *Exp.Brain Res* 133, S. 66-70.
- Gainetdinov R.R. & Caron M.G. (2000): An animal model of attention deficit hyperactivity disorder. In: *Mol.Med.Today* 6, S. 43-44.
- Gainetdinov R.R. & Caron M.G. (2001): Genetics of childhood disorders: XXIV. ADHD, part 8: hyperdopaminergic mice as an animal model of ADHD. In: *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 40, S. 380-382.
- Gaytan O., Ghelani D., Martin S., Swann A. & Dafny N. (1996): Dose response characteristics of methylphenidate on different indices of rats' locomotor activity at the beginning of the dark cycle. In: *Brain Res.* 727, S. 13-21.
- Gaytan O., Ghelani D., Martin S., Swann A. & Dafny N. (1997): Methylphenidate: diurnal effects on locomotor and stereotypic behavior in the rat. In: *Brain Res.* 777, S. 1-12.
- Gerasimov M.R., Franceschi M., Volkow N.D., Gifford A., Gatley S.J., Marsteller D., Molina P.E. & Dewey S.L. (2000): Comparison between intraperitoneal and oral methylphenidate administration: A microdialysis and locomotor activity study. In: *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 295, S. 51-57.
- Glaser E.M. & Van der Loos H. (1981): Analysis of thick brain sections by obverse-reverse computer microscopy: application of a new, high clarity Golgi-Nissl stain. In: *J.Neurosci.Methods* 4, S. 117-125.
- Globus A., Rosenzweig M.R., Bennett E.L. & Diamond M.C. (1973): Effects of differential experience on dendritic spine counts in rat cerebral cortex. In: *J.Comp Physiol Psychol.* 82, S. 175-181.
- Goldman-Rakic P.S. (1987): Motor control function of the prefrontal cortex. In: *Ciba Found.Symp.* 132, S. 187-200.
- Gonzalez-Lima F. (1992): Brain imaging of auditory learning functions in rats: Studies with fluorodeoxyglucose autoradiography and cytochrome oxidase histochemistry. In: *Advances in Metabolic Mapping Techniques for Brain Imaging of Behavioral and Learning Functions* (Gonzalez-Lima F, Finkenstädt T, Scheich H, eds), pp 39-109. Kluwer Academic Publishers.
- 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. In: *Neuroscience* 140, S. 811-821.

- Gray J.D., Punsoni M., Tabori N.E., Melton J.T., Fanslow V., Ward M.J., Zupan B., Menzer D., Rice J., Drake C.T., Romeo R.D., Brake W.G., Torres-Reveron A. & Milner T.A. (2007): Methylphenidate administration to juvenile rats alters brain areas involved in cognition, motivated behaviors, appetite, and stress. In: *J.Neurosci.* 27, S. 7196-7207.
- Groenewegen H.J. (1988): Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. In: *Neuroscience* 24, S. 379-431.
- Grund T., Lehmann K., Bock N., Rothenberger A. & Teuchert-Noodt G. (2006): Influence of methylphenidate on brain development - an update of recent animal experiments. In: *Behav.Brain Funct.* 2, S. 2.
- Gruss M., Westphal S., Luley C. & Braun K. (2006): Endocrine and behavioural plasticity in response to juvenile stress in the semi-precocial rodent *Octodon degus*. In: *Psychoneuroendocrinology* 31, S. 361-372.
- Hall F.S., Huang S., Fong G.W., Sundstrom J.M. & Pert A. (2000): Differential basis of strain and rearing effects on open-field behavior in Fawn Hooded and Wistar rats. In: *Physiol Behav.* 71, S. 525-532.
- Hall F.S., Wilkinson L.S., Humby T., Inglis W., Kendall D.A., Marsden C.A. & Robbins T.W. (1998): Isolation rearing in rats: pre- and postsynaptic changes in striatal dopaminergic systems. In: *Pharmacol.Biochem.Behav.* 59, S. 859-872.
- Hall F.S., Wilkinson L.S., Humby T. & Robbins T.W. (1999): Maternal deprivation of neonatal rats produces enduring changes in dopamine function. In: *Synapse* 32, S. 37-43.
- Harris K.M., Jensen F.E. & Tsao B. (1992): Three-dimensional structure of dendritic spines and synapses in rat hippocampus (CA1) at postnatal day 15 and adult ages: implications for the maturation of synaptic physiology and long-term potentiation. In: *J.Neurosci.* 12, S. 2685-2705.
- Harvey A.T., Moore H., Lucot J.B. & Hennessy M.B. (1994): Monoamine activity in anterior hypothalamus of guinea pig pups separated from their mothers. In: *Behav.Neurosci.* 108, S. 171-176.
- Heidbreder C.A. & Groenewegen H.J. (2003): The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. In: *Neurosci.Biobehav.Rev.* 27, S. 555-579.
- Heim C. & Nemeroff C.B. (2001): The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. In: *Biol.Psychiatry* 49, S. 1023-1039.
- Helmeke C. (2003): Einfluss frühkindlicher Sozialerfahrung auf die funktionelle Reifung des anterioren cingulären Cortex der Strauchratte (*Octodon degus*). Dissertationsschrift. Department of Zoology / Developmental Neurobiology, Otto-von Guericke-University Magdeburg, Germany.
- Helmeke C., Ovtscharoff W., Jr., Poeggel G. & Braun K. (2001a): Juvenile emotional experience alters synaptic inputs on pyramidal neurons in the anterior cingulate cortex. In: *Cereb.Cortex* 11, S. 717-727.
- Helmeke C., Poeggel G. & Braun K. (2001b): Differential emotional experience induces elevated spine densities on basal dendrites of pyramidal neurons in the anterior cingulate cortex of *Octodon degus*. In: *Neuroscience* 104, S. 927-931.
- Heysler C.J., Pelletier M. & Ferris J.S. (2004): The effects of methylphenidate on novel object exploration in weanling and periadolescent rats. In: *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 1021, S. 465-469.
- Holtmaat A.J., Trachtenberg J.T., Wilbrecht L., Shepherd G.M., Zhang X., Knott G.W. & Svoboda K. (2005): Transient and persistent dendritic spines in the neocortex in vivo. In: *Neuron* 45, S. 279-291.
- 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. In: *Brain* 126, S. 1691-1712.
- Horner C.H. (1993): Plasticity of the dendritic spine. In: *Prog.Neurobiol.* 41, S. 281-321.
- Horner C.H. & Arbuthnott E. (1991): Methods of estimation of spine density--are spines evenly distributed throughout the dendritic field? In: *J.Anat.* 177, S. 179-184.
- Inoue T., Tsuchiya K. & Koyama T. (1996): Serotonergic activation reduces defensive freezing in the conditioned fear paradigm. In: *Pharmacol.Biochem.Behav.* 53, S. 825-831.
- Ivanco T.L., Racine R.J. & Kolb B. (2000): Morphology of layer III pyramidal neurons is altered following induction of LTP in sensorimotor cortex of the freely moving rat. In: *Synapse* 37, S. 16-22.
- Jester J.M., Nigg J.T., Adams K., Fitzgerald H.E., Puttler L.I., Wong M.M. & Zucker R.A. (2005): Inattention/hyperactivity and aggression from early childhood to adolescence: heterogeneity of trajectories and differential influence of family environment characteristics. In: *Dev.Psychopathol.* 17, S. 99-125.
- Jeziarski G., Zehle S., Bock J., Braun K. & Gruss M. (2007): Early stress and chronic methylphenidate cross-sensitize dopaminergic responses in the adolescent medial prefrontal cortex and nucleus accumbens. In: *J Neurochem.* 103, S. 2234-2244.
- Jucaite A., Fernell E., Halldin C., Forsberg H. & Farde L. (2005): Reduced midbrain dopamine transporter binding in male adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder: association between striatal dopamine markers and motor hyperactivity. In: *Biol.Psychiatry* 57, S. 229-238.
- Kafkafi N. & Elmer G.I. (2005): Activity density in the open field: a measure for differentiating the effect of psychostimulants. In: *Pharmacol.Biochem.Behav.* 80, S. 239-249.

- Kalsbeek A., de Bruin J.P., Feenstra M.G., Matthijssen M.A. & Uylings H.B. (1988): Neonatal thermal lesions of the mesolimbocortical dopaminergic projection decrease food-hoarding behavior. In: *Brain Res* 475, S. 80-90.
- Kalsbeek A., de Bruin J.P., Feenstra M.G. & Uylings H.B. (1990): Age-dependent effects of lesioning the mesocortical dopamine system upon prefrontal cortex morphometry and PFC-related behaviors. In: *Prog.Brain Res* 85, S. 257-282.
- Kandel E.R., Schwartz J.H. & Jessell T.M. (2000): Principles of Neural Science. New York: McGraw-Hill. 4th edition.
- Kehoe P., Shoemaker W.J., Triano L., Hoffman J. & Arons C. (1996): Repeated isolation in the neonatal rat produces alterations in behavior and ventral striatal dopamine release in the juvenile after amphetamine challenge. In: *Behav.Neurosci.* 110, S. 1435-1444.
- Kenagy G.J., Place N.J. & Veloso C. (1999): Relation of glucocorticosteroids and testosterone to the annual cycle of free-living degus in semiarid central Chile. In: *Gen.Comp Endocrinol.* 115, S. 236-243.
- Keown L.J. & Woodward L.J. (2002): Early parent-child relations and family functioning of preschool boys with pervasive hyperactivity. In: *J.Abnorm.Child Psychol.* 30, S. 541-553.
- Kim B.N., Lee J.S., Cho S.C. & Lee D.S. (2001): Methylphenidate increased regional cerebral blood flow in subjects with attention deficit/hyperactivity disorder. In: *Yonsei Med.J.* 42, S. 19-29.
- Kolb B. (1984): Functions of the frontal cortex of the rat: a comparative review. In: *Brain Res* 320, S. 65-98.
- Kolb B., Gorny G., Li Y., Samaha A.N. & Robinson T.E. (2003): Amphetamine or cocaine limits the ability of later experience to promote structural plasticity in the neocortex and nucleus accumbens. In: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 100, S. 10523-10528.
- Kolb B., Pellis S. & Robinson T.E. (2004): Plasticity and functions of the orbital frontal cortex. In: *Brain Cogn* 55, S. 104-115.
- Kraemer G.W., Ebert M.H., Lake C.R. & McKinney W.T. (1984): Hypersensitivity to d-amphetamine several years after early social deprivation in rhesus monkeys. In: *Psychopharmacology (Berl)* 82, S. 266-271.
- Krauel K., Duezel E., Hinrichs H., Santel S., Rellum T. & Baving L. (2007): Impact of Emotional Salience on Episodic Memory in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Functional Magnetic Resonance Imaging Study. In: *Biol.Psychiatry*.
- Krause K.H., Dresel S.H., Krause J., Kung H.F. & Tatsch K. (2000): Increased striatal dopamine transporter in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder: effects of methylphenidate as measured by single photon emission computed tomography. In: *Neurosci.Lett.* 285, S. 107-110.
- Krettek J.E. & Price J.L. (1977): The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. In: *J.Comp Neurol.* 171, S. 157-191.
- Kuczenski R. & Segal D.S. (1997): Effects of methylphenidate on extracellular dopamine, serotonin, and norepinephrine: comparison with amphetamine. In: *J.Neurochem.* 68, S. 2032-2037.
- Laviola G., Wood R.D., Kuhn C., Francis R. & Spear L.P. (1995): Cocaine sensitization in periadolescent and adult rats. In: *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 275, S. 345-357.
- Lehmann J. & Feldon J. (2000): Long-term biobehavioral effects of maternal separation in the rat: consistent or confusing? In: *Rev.Neurosci.* 11, S. 383-408.
- Lehmann K., Teuchert-Noodt G. & Dawirs R.R. (2002): Postnatal rearing conditions influence ontogeny of adult dopamine transporter (DAT) immunoreactivity of the striatum in gerbils. In: *J.Neural Transm.* 109, S. 1129-1137.
- Levine S., CHEVALIER J.A. & KORCHIN S.J. (1956): The effects of early shock and handling on later avoidance learning. In: *J.Pers.* 24, S. 475-493.
- Lindvall O., Bjorklund A. & Divac I. (1978): Organization of catecholamine neurons projecting to the frontal cortex in the rat. In: *Brain Res* 142, S. 1-24.
- Lipkind D., Sakov A., Kafkafi N., Elmer G.I., Benjamini Y. & Golani I. (2004): New replicable anxiety-related measures of wall vs center behavior of mice in the open field. In: *J.Appl.Physiol* 97, S. 347-359.
- Liu D., Caldji C., Sharma S., Plotsky P.M. & Meaney M.J. (2000): Influence of neonatal rearing conditions on stress-induced adrenocorticotropin responses and norepinephrine release in the hypothalamic paraventricular nucleus. In: *J.Neuroendocrinol.* 12, S. 5-12.
- Lou H.C., Henriksen L. & Bruhn P. (1984): Focal cerebral hypoperfusion in children with dysphasia and/or attention deficit disorder. In: *Arch.Neurol.* 41, S. 825-829.
- Lou H.C., Henriksen L., Bruhn P., Borner H. & Nielsen J.B. (1989): Striatal dysfunction in attention deficit and hyperkinetic disorder. In: *Arch.Neurol.* 46, S. 48-52.
- Macri S. & Wurbel H. (2006): Developmental plasticity of HPA and fear responses in rats: a critical review of the maternal mediation hypothesis. In: *Horm.Behav.* 50, S. 667-680.
- Magistretti P.J. & Pellerin L. (1999): Cellular mechanisms of brain energy metabolism and their relevance to functional brain imaging. In: *Philos.Trans.R.Soc.Lond B Biol.Sci.* 354, S. 1155-1163.
- Markham J.A. & Greenough W.T. (2004): Experience-driven brain plasticity: beyond the synapse. In: *Neuron Glia Biol.* 1, S. 351-363.

- Matthews K., Dalley J.W., Matthews C., Tsai T.H. & Robbins T.W. (2001): Periodic maternal separation of neonatal rats produces region- and gender-specific effects on biogenic amine content in postmortem adult brain. In: *Synapse* 40, S. 1-10.
- Meaney M.J. (2001): Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. In: *Annu.Rev.Neurosci.* 24, S. 1161-1192.
- Meaney M.J., Brake W. & Gratton A. (2002): Environmental regulation of the development of mesolimbic dopamine systems: a neurobiological mechanism for vulnerability to drug abuse? In: *Psychoneuroendocrinology* 27, S. 127-138.
- Moll G.H., Mehnert C., Wicker M., Bock N., Rothenberger A., Ruther E. & Huether G. (2000): Age-associated changes in the densities of presynaptic monoamine transporters in different regions of the rat brain from early juvenile life to late adulthood. In: *Brain Res.Dev.Brain Res.* 119, S. 251-257.
- Montgomery A.J., Asselin M.C., Farde L. & Grasby P.M. (2007): Measurement of methylphenidate-induced change in extrastriatal dopamine concentration using [11C]FLB 457 PET. In: *J.Cereb.Blood Flow Metab* 27, S. 369-377.
- Moser M.B., Trommald M. & Andersen P. (1994): An increase in dendritic spine density on hippocampal CA1 pyramidal cells following spatial learning in adult rats suggests the formation of new synapses. In: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 91, S. 12673-12675.
- Muir J.L., Everitt B.J. & Robbins T.W. (1996): The cerebral cortex of the rat and visual attentional function: dissociable effects of mediofrontal, cingulate, anterior dorsolateral, and parietal cortex lesions on a five-choice serial reaction time task. In: *Cereb.Cortex* 6, S. 470-481.
- Murphy B.L., Arnsten A.F., Goldman-Rakic P.S. & Roth R.H. (1996): Increased dopamine turnover in the prefrontal cortex impairs spatial working memory performance in rats and monkeys. In: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 93, S. 1325-1329.
- Nestler E.J. (2001): Molecular neurobiology of addiction. In: *Am.J.Addict.* 10, S. 201-217.
- Onn S.P. & Wang X.B. (2005): Differential modulation of anterior cingulate cortical activity by afferents from ventral tegmental area and mediodorsal thalamus. In: *Eur.J.Neurosci.* 21, S. 2975-2992.
- Ovtscharoff W., Jr. & Braun K. (2001): Maternal separation and social isolation modulate the postnatal development of synaptic composition in the infralimbic cortex of Octodon degus. In: *Neuroscience* 104, S. 33-40.
- Papez J.W. (1937): A proposed mechanism of emotion. In: *Arch.Neurol.Psychiatry* 38, S. 725-743.
- Pasini A., Paloscia C., Alessandrelli R., Porfìrio M.C. & Curatolo P. (2007): Attention and executive functions profile in drug naive ADHD subtypes. In: *Brain Dev.*
- Paxinos G. & Watson C. (1998): The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego, CA.: Academic Press.
- Pellerin L., Pellegrini G., Martin J.L. & Magistretti P.J. (1998): Expression of monocarboxylate transporter mRNAs in mouse brain: support for a distinct role of lactate as an energy substrate for the neonatal vs. adult brain. In: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 95, S. 3990-3995.
- 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. In: *Behav.Neurosci.* 120, S. 72-84.
- Poeggel G. & Braun K. (1996): Early auditory filial learning in degus (Octodon degus): behavioral and autoradiographic studies. In: *Brain Res.* 743, S. 162-170.
- Poeggel G., Helmeke C., Abraham A., Schwabe T., Friedrich P. & Braun K. (2003a): Juvenile emotional experience alters synaptic composition in the rodent cortex, hippocampus, and lateral amygdala. In: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 100, S. 16137-16142.
- Poeggel G., Nowicki L. & Braun K. (2003b): Early social deprivation alters monoaminergic afferents in the orbital prefrontal cortex of Octodon degus. In: *Neuroscience* 116, S. 617-620.
- Porrino L.J. (1993): Functional consequences of acute cocaine treatment depend on route of administration. In: *Psychopharmacology (Berl)* 112, S. 343-351.
- Povinelli D.J. & Preuss T.M. (1995): Theory of mind: evolutionary history of a cognitive specialization. In: *Trends Neurosci.* 18, S. 418-424.
- Pryce C.R., Bettschen D. & Feldon J. (2001): Comparison of the effects of early handling and early deprivation on maternal care in the rat. In: *Dev.Psychobiol.* 38, S. 239-251.
- Pryce C.R. & Feldon J. (2003): Long-term neurobehavioural impact of the postnatal environment in rats: manipulations, effects and mediating mechanisms. In: *Neurosci.Biobehav.Rev.* 27, S. 57-71.
- Puumala T., Ruotsalainen S., Jakala P., Koivisto E., Riekkinen P., Jr. & Sirvio J. (1996): Behavioral and pharmacological studies on the validation of a new animal model for attention deficit hyperactivity disorder. In: *Neurobiol.Learn.Mem.* 66, S. 198-211.
- Radley J.J., Rocher A.B., Miller M., Janssen W.G., Liston C., Hof P.R., McEwen B.S. & Morrison J.H. (2006): Repeated stress induces dendritic spine loss in the rat medial prefrontal cortex. In: *Cereb.Cortex* 16, S. 313-320.
- Remschmidt H. (2005): Global consensus on ADHD/HKD. In: *Eur.Child Adolesc.Psychiatry* 14, S. 127-137.



- Rilling J.K., Winslow J.T., O'Brien D., Gutman D.A., Hoffman J.M. & Kilts C.D. (2001): Neural correlates of maternal separation in rhesus monkeys. In: *Biol.Psychiatry* 49, S. 146-157.
- Robbins T.W. (2002): The 5-choice serial reaction time task: behavioural pharmacology and functional neurochemistry. In: *Psychopharmacology (Berl)* 163, S. 362-380.
- Robinson T.E. & Kolb B. (1999): Alterations in the morphology of dendrites and dendritic spines in the nucleus accumbens and prefrontal cortex following repeated treatment with amphetamine or cocaine. In: *Eur.J.Neurosci.* 11, S. 1598-1604.
- Rolls E.T. (2004): The functions of the orbitofrontal cortex. In: *Brain Cogn* 55, S. 11-29.
- Rose J.E. & Woolsey C.N. (1948): The orbitofrontal cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep and cat. In: *Res Publ Assoc Nerv Ment Dis* 27, S. 210-232.
- Rosenberg D.R. & Lewis D.A. (1994): Changes in the dopaminergic innervation of monkey prefrontal cortex during late postnatal development: a tyrosine hydroxylase immunohistochemical study. In: *Biol.Psychiatry* 36, S. 272-277.
- Roth G. (2001): Fühlen, Denken, Handeln. Wie das Gehirn unser Verhalten steuert. Frankfurt: Suhrkamp.
- Roy P., Rutter M. & Pickles A. (2000): Institutional care: risk from family background or pattern of rearing? In: *J.Child Psychol.Psychiatry* 41, S. 139-149.
- Rubia K., Overmeyer S., Taylor E., Brammer M., Williams S.C., Simmons A. & Bullmore E.T. (1999): Hypofrontality in attention deficit hyperactivity disorder during higher-order motor control: a study with functional MRI. In: *Am.J.Psychiatry* 156, S. 891-896.
- Sagvolden T. (2000): Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD). In: *Neurosci.Biobehav.Rev.* 24, S. 31-39.
- Sanchez M.M., Aguado F., Sanchez-Toscano F. & Saphier D. (1998): Neuroendocrine and immunocytochemical demonstrations of decreased hypothalamo-pituitary-adrenal axis responsiveness to restraint stress after long-term social isolation. In: *Endocrinology* 139, S. 579-587.
- Schulte-Markwort M. & Warnke A. (2004): Methylphenidat. Georg Thieme Verlag.
- Seeman P. & Madras B. (2002): Methylphenidate elevates resting dopamine which lowers the impulse-triggered release of dopamine: a hypothesis. In: *Behav.Brain Res.* 130, S. 79-83.
- Segal M. (2005): Dendritic spines and long-term plasticity. In: *Nat.Rev.Neurosci.* 6, S. 277-284.
- Seidman L.J., Valera E.M. & Makris N. (2005): Structural brain imaging of attention-deficit/hyperactivity disorder. In: *Biol.Psychiatry* 57, S. 1263-1272.
- Sholl D.A. (1953): Dendritic organization in the neurons of the visual and motor cortices of the cat. In: *J.Anat.* 87, S. 387-406.
- Sokoloff L. (1999): Energetics of functional activation in neural tissues. In: *Neurochem.Res.* 24, S. 321-329.
- Sokoloff L., Reivich M., Kennedy C., Des Rosiers M.H., Patlak C.S., Pettigrew K.D., Sakurada O. & Shinohara M. (1977): The [<sup>14</sup>C]deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. In: *J.Neurochem.* 28, S. 897-916.
- Solanto M.V. (2002): Dopamine dysfunction in AD/HD: integrating clinical and basic neuroscience research. In: *Behav.Brain Res.* 130, S. 65-71.
- Spear L.P. & Brake S.C. (1983): Periadolescence: age-dependent behavior and psychopharmacological responsivity in rats. In: *Dev.Psychobiol.* 16, S. 83-109.
- Sproson E.J., Chantrey J., Hollis C., Marsden C.A. & Fonel K.C. (2001): Effect of repeated methylphenidate administration on presynaptic dopamine and behaviour in young adult rats. In: *J.Psychopharmacol.* 15, S. 67-75.
- Swanson J.M., Flodman P., Kennedy J., Spence M.A., Moyzis R., Schuck S., Murias M., Moriarity J., Barr C., Smith M. & Posner M. (2000): Dopamine genes and ADHD. In: *Neurosci.Biobehav.Rev.* 24, S. 21-25.
- Swanson J.M., Sunohara G.A., Kennedy J.L., Regino R., Fineberg E., Wigal T., Lerner M., Williams L., LaHoste G.J. & Wigal S. (1998): Association of the dopamine receptor D4 (DRD4) gene with a refined phenotype of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): a family-based approach. In: *Mol.Psychiatry* 3, S. 38-41.
- Taber M.T. & Fibiger H.C. (1995): Electrical stimulation of the prefrontal cortex increases dopamine release in the nucleus accumbens of the rat: modulation by metabotropic glutamate receptors. In: *J.Neurosci.* 15, S. 3896-3904.
- Tamm L., Menon V., Ringel J. & Reiss A.L. (2004): Event-related fMRI evidence of frontotemporal involvement in aberrant response inhibition and task switching in attention-deficit/hyperactivity disorder. In: *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 43, S. 1430-1440.
- Tan A., Moratalla R., Lyford G.L., Worley P. & Graybiel A.M. (2000): The activity-regulated cytoskeletal-associated protein arc is expressed in different striosome-matrix patterns following exposure to amphetamine and cocaine. In: *J.Neurochem.* 74, S. 2074-2078.
- Tarazi F.I., Tomasini E.C. & Baldessarini R.J. (1998): Postnatal development of dopamine and serotonin transporters in rat caudate-putamen and nucleus accumbens septi. In: *Neurosci.Lett.* 254, S. 21-24.

- Thanos P.K., Michaelides M., Benveniste H., Wang G.J. & Volkow N.D. (2007): Effects of chronic oral methylphenidate on cocaine self-administration and striatal dopamine D2 receptors in rodents. In: *Pharmacol.Biochem.Behav.*
- Todd R.D. & Botteron K.N. (2001): Is attention-deficit/hyperactivity disorder an energy deficiency syndrome? In: *Biol.Psychiatry* 50, S. 151-158.
- Trepel M. (1999): Neuroanatomie. Struktur und Funktion. München; Stuttgart; Jena; Lübeck; Ulm: Urban & Fischer. 2. Auflage.
- Trommald M., Hulleberg G. & Andersen P. (1996): Long-term potentiation is associated with new excitatory spine synapses on rat dentate granule cells. In: *Learn.Mem.* 3, S. 218-228.
- Uno M., Abe J., Sawai C., Sakaue Y., Nishitani A., Yasuda Y., Tsuzuki K., Takano T., Ohno M., Maruyama T. & Takeuchi Y. (2006): Effect of additional auditory and visual stimuli on continuous performance test (noise-generated CPT) in AD/HD children -- usefulness of noise-generated CPT. In: *Brain Dev.* 28, S. 162-169.
- Uylings H.B., Groenewegen H.J. & Kolb B. (2003): Do rats have a prefrontal cortex? In: *Behav.Brain Res.* 146, S. 3-17.
- Uylings H.B. & van Eden C.G. (1990): Qualitative and quantitative comparison of the prefrontal cortex in rat and in primates, including humans. In: *Prog.Brain Res* 85, S. 31-62.
- Vaidya C.J., Austin G., Kirkorian G., Ridlehuber H.W., Desmond J.E., Glover G.H. & Gabrieli J.D. (1998): Selective effects of methylphenidate in attention deficit hyperactivity disorder: a functional magnetic resonance study. In: *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 95, S. 14494-14499.
- van Eden C.G. & Uylings H.B. (1985): Postnatal volumetric development of the prefrontal cortex in the rat. In: *J.Comp Neurol.* 241, S. 268-274.
- Viggiano D., Vallone D., Ruocco L.A. & Sadile A.G. (2003): Behavioural, pharmacological, morpho-functional molecular studies reveal a hyperfunctioning mesocortical dopamine system in an animal model of attention deficit and hyperactivity disorder. In: *Neurosci.Biobehav.Rev.* 27, S. 683-689.
- Volkow N.D., Wang G., Fowler J.S., Logan J., Gerasimov M., Maynard L., Ding Y., Gatley S.J., Gifford A. & Franceschi D. (2001): Therapeutic doses of oral methylphenidate significantly increase extracellular dopamine in the human brain. In: *J.Neurosci.* 21, S. RC121.
- Volkow N.D., Wang G.J., Fowler J.S., Logan J., Angrist B., Hitzemann R., Lieberman J. & Pappas N. (1997): Effects of methylphenidate on regional brain glucose metabolism in humans: relationship to dopamine D2 receptors. In: *Am.J.Psychiatry* 154, S. 50-55.
- Volkow N.D., Wang G.J., Fowler J.S., Logan J., Franceschi D., Maynard L., Ding Y.S., Gatley S.J., Gifford A., Zhu W. & Swanson J.M. (2002): Relationship between blockade of dopamine transporters by oral methylphenidate and the increases in extracellular dopamine: therapeutic implications. In: *Synapse* 43, S. 181-187.
- Wallhauser E. & Scheich H. (1987): Auditory imprinting leads to differential 2-deoxyglucose uptake and dendritic spine loss in the chick rostral forebrain. In: *Brain Res.* 428, S. 29-44.
- Walsh R.N. & Cummins R.A. (1976): The Open-Field Test: A Critical Review. In: *Psychol.Bull.* 83, S. 482-504.
- Wheeler T.L., Eppolito A.K., Smith L.N., Huff T.B. & Smith R.F. (2006): A novel method for oral stimulant administration in the neonate rat and similar species. In: *J.Neurosci.Methods.*
- Wichmann T. & DeLong M.R. (1996): Functional and pathophysiological models of the basal ganglia. In: *Curr.Opin.Neurobiol.* 6, S. 751-758.
- Wilson S.C. (1982): Contact-promoting behavior, social development, and relationship with parents in sibling juvenile degus (*Octodon degus*). In: *Dev.Psychobiol.* 15, S. 257-268.
- Wohlberg G.W. & Kornetsky C. (1973): Sustained attention in remitted schizophrenics. In: *Arch.Gen.Psychiatry* 28, S. 533-537.
- Woods CA & Boraker DK. (1975): *Octodon degus*. In: *Am SocMamm Mamm Spec* 67, S. 1-4.
- Wright J.W. & Kern M.D. (1992): Stereotaxic atlas of the brain of *Octodon degus*. In: *J.Morphol.* 214, S. 299-320.
- Yang P.B., Amini B., Swann A.C. & Dafny N. (2003): Strain differences in the behavioral responses of male rats to chronically administered methylphenidate. In: *Brain Res.* 971, S. 139-152.
- Yang P.B., Swann A.C. & Dafny N. (2006): Sensory-evoked potentials recordings from the ventral tegmental area, nucleus accumbens, prefrontal cortex, and caudate nucleus and locomotor activity are modulated in dose-response characteristics by methylphenidate. In: *Brain Res* 1073-1074, S. 164-174.
- Yano M. & Steiner H. (2005): Methylphenidate (Ritalin) induces Homer 1a and zif 268 expression in specific corticostriatal circuits. In: *Neuroscience* 132, S. 855-865.
- Yuste R. & Bonhoeffer T. (2001): Morphological changes in dendritic spines associated with long-term synaptic plasticity. In: *Annu.Rev.Neurosci.* 24, S. 1071-1089.
- Zametkin A.J., Nordahl T.E., Gross M., King A.C., Semple W.E., Rumsey J., Hamburger S. & Cohen R.M. (1990): Cerebral glucose metabolism in adults with hyperactivity of childhood onset. In: *N.Engl.J.Med.* 323, S. 1361-1366.

- 
- Zehle S., Bock J., Jezierski G., Gruss M. & Braun K. (2007): Methylphenidate treatment recovers stress-induced elevated dendritic spine densities in the rodent dorsal anterior cingulate cortex. In: *Dev Neurobiol* 67, S. 1891-1900.
- Zeise M.L., Espinoza S., Gonzalez A., Cerda F.S., Nacarate J., Yanez C.G. & Morales B. (2007): Methylphenidate improves cue navigation in the Morris water maze in rats. In: *Neuroreport* 18, S. 1059-1062.
- Ziabreva I., Schnabel R. & Braun K. (2000): Parental deprivation induces N-methyl-D-aspartate-receptor upregulation in limbic brain areas of Octodon degus: protective role of the maternal call. In: *Neural Plast.* 7, S. 233-244.
- Ziabreva I., Schnabel R., Poeggel G. & Braun K. (2003): Mother's voice "buffers" separation-induced receptor changes in the prefrontal cortex of octodon degus. In: *Neuroscience* 119, S. 433-441.
- Zilles K.W.A. (1995): Cortex: areal and laminar structure. In: *The rat nervous system* (Paxinos G, ed), pp 649-685. San Diego. Academic Press.

# Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Tiermodell Degu: (A) 2 Tage alte Jungtiere, (B) Muttertier im Heimkäfig (Voliere) .....	3
Abb. 2: Schematische Darstellung eines Frontalschnittes des PFC mit ausgewählten Subregionen: .....	6
Abb. 3: Zeitlicher Verlauf der Reifung mesopräfrontaler dopaminerger Bahnen des Degus (Schicht II/III): .....	8
Abb. 4: Das dopaminerge System .....	9
Abb. 5: Methylphenidat, chemische Formel .....	14
Abb. 6: Degufamilie mit Jungtieren in ihrer Voliere, .....	21
Abb. 7: Aufzuchtgruppen .....	22
Abb. 8: Open Field-Test .....	27
Abb. 9: Sonagramm des im Open Field eingesetzten artspezifischen Geschwistertons .....	27
Abb. 10: Open Field-Test #1: Untersuchungen zu Effekten des frühkindlichen Trennungsstressses .....	29
Abb. 11: Verhaltensexperiment #2-4 zu Effekten akuter und chronischer MP-Behandlung .....	31
Abb. 12: Open Field-Test #1 (PND 22) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I) ♂ .....	32
Abb. 13: Open Field-Test #1 (PND 22) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II) ♂ .....	33
Abb. 14: Open Field-Test #1 (PND 22) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I) ♂ .....	34
Abb. 15: Open Field-Test #1 (PND 22) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II + Tonquadrant-Aktivität) ♂ .....	35
Abb. 16: Open Field-Test #2 (PND 22) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I) ♂ .....	38
Abb. 17: Open Field-Test #2 (PND 22) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II) ♂ .....	39
Abb. 18: Open Field-Test #2 (PND 22) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I) ♂ .....	41
Abb. 19: Open Field-Test #2 (PND 22) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II) ♂ .....	42
Abb. 20: Open Field-Test #2 (PND 22) im modifizierten OF (Tonquadrant-Aktivität) ♂ .....	43
Abb. 21: Open Field-Test #3 (PND 45) im Standard-OF (Gesamtaktivität, Teil I) ♂ .....	45
Abb. 22: Open Field-Test #3 (PND 45) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II) ♂ .....	46
Abb. 23: Open Field-Test #3 (PND 45) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I) ♂ .....	48
Abb. 24: Open Field-Test #3 (PND 45) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II) ♂ .....	49
Abb. 25: Open Field-Test #3 (PND 45) im modifizierten OF (Tonquadrant-Aktivität) ♂ .....	49
Abb. 26: Open Field-Test #4 (PND 45) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I) ♂ .....	51
Abb. 27: Open Field-Test #4 (PND 45) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II) ♂ .....	52
Abb. 28: Open Field-Test #4 (PND 45) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I) ♂ .....	54
Abb. 29: Open Field-Test #4 (PND 45) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II) ♂ .....	55
Abb. 30: Open Field-Test #4 (PND 45) im modifizierten OF (Tonquadrant-Aktivität) ♂ .....	56
Abb. 31: Frontalschnitt eines 2-FDG-markierten Degugehirns (metabolische Aktivität verschiedener Gehirngebiete): .....	58
Abb. 32: Glukose, 2-Fluoro-Deoxyglukose und 14C-2-Fluoro-Deoxyglukose, chem. Formeln .....	59
Abb. 33: Modell der Abhängigkeit der synaptischer Aktivität von astrozytischen Glukoseaufnahmeprozessen .....	60
Abb. 34: 2-FDG-Experiment: Versuchsaufbau und experimentelle Gruppen .....	61
Abb. 35: 2-FDG-Experiment: Analyisierte Gehirngebiete in Frontalschnitten 2-FDG-markierter Degugehirne (PND 22): .....	63
Abb. 36: Frontalschnitte 22tägiger Degus: Repräsentative 2-FDG-Markierungen der 6 experimentellen Gruppen .....	65
Abb. 37: Metabolische Aktivität (2-FDG) des ventralen und lateralen orbitofrontalen Cortex .....	71
Abb. 38: Metabolische Aktivität (2-FDG) des anterior cingulären, prä- und infralimbischen Cortex .....	72
Abb. 39: Metabolische Aktivität (2-FDG) der Basalganglien Nacc und CPu .....	73
Abb. 40: Metabolische Aktivität (2-FDG) des mediodorsalen Kerns des Thalamus + der lateralen und basolateralen Amygdala .....	74
Abb. 41: Metabolische Aktivität (2-FDG) des Gyrus dentatus (DG), sowie der Cornu Ammonis Region1 (CA1) und Region3 (CA3) des Hippocampus .....	75
Abb. 42: Metabolische Aktivität (2-FDG) des somatosensorischen und auditorischen Cortex .....	76
Abb. 43: Metabolische Aktivität (2-FDG) der Substantia nigra .....	76
Abb. 44: Metabolische Aktivität (2-FDG) des Medialen Geniculatums, des ventralen tegmentalaren Arealis sowie der Mammillarkörper .....	77
Abb. 45: Golgi-Cox-Untersuchung: Versuchsaufbau .....	79
Abb. 46: Histologische Untersuchung (Golgi-Cox-Methode) .....	80
Abb. 47: Analyse und Auswertung Golgi – Cox gefärbter Neurone .....	81
Abb. 48: Effekte des frühkindlichen Trennungsstressses und MP-Behandlung auf die Dendritenlängen .....	83
Abb. 49: Neurolucida-Zeichnungen repräsentativer Pyramidenzellen .....	84
Abb. 50: Effekte des frühkindlichen Trennungsstressses und MP-Behandlung auf die Zellkomplexität .....	85

<i>Abb. 51: Effekte des frühkindlichen Trennungsstressses und MP-Behandlung auf die Zellkomplexität (Schnittpunkte mit Einzelshollsphären) .....</i>	<i>87</i>
<i>Abb. 52: Effekte des frühkindlichen Trennungsstressses und MP-Behandlung auf die Spinefrequenz .....</i>	<i>88</i>
<i>Abb. 53: Repräsentative Segmente von Apikaldendriten .....</i>	<i>89</i>
<i>Abb. 54: Hypothese zu Veränderungen des nigostriatalen Systems und motorischen Schaltkreises nach frühkindlicher Elternseparation.....</i>	<i>96</i>
<i>Abb. 55: Hypothese zu Veränderungen des mesocorticolimbischen Schaltkreises nach frühkindlicher Elternseparation .....</i>	<i>98</i>
<i>Abb. 56: Open Field-Test #1 (PND 22) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I ♀).....</i>	<i>149</i>
<i>Abb. 57: Open Field-Test #1 (PND 22) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II ♀) .....</i>	<i>150</i>
<i>Abb. 58: Open Field-Test #1 (PND 22) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I ♀).....</i>	<i>151</i>
<i>Abb. 59: Open Field-Test #1 (PND 22) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II + Tonquadrant-Aktivität ♀) .....</i>	<i>152</i>
<i>Abb. 60: Open Field-Test #2 (PND 22) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I ♀).....</i>	<i>153</i>
<i>Abb. 61: Open Field-Test #2 (PND 22) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II ♀) .....</i>	<i>154</i>
<i>Abb. 62: Open Field-Test #2 (PND 22) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I ♀).....</i>	<i>155</i>
<i>Abb. 63: Open Field-Test #2 (PND 22) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II ♀) .....</i>	<i>156</i>
<i>Abb. 64: Open Field-Test #2 (PND 22) im modifizierten OF (Tonquadrant-Aktivität ♀).....</i>	<i>156</i>
<i>Abb. 65: Open Field-Test #3 (PND 45) im Standard-OF (Gesamtaktivität, Teil I ♀).....</i>	<i>157</i>
<i>Abb. 66: Open Field-Test #3 (PND 45) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II ♀) .....</i>	<i>158</i>
<i>Abb. 67: Open Field-Test #3 (PND 45) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I ♀).....</i>	<i>159</i>
<i>Abb. 68: Open Field-Test #3 (PND 45) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II ♀) .....</i>	<i>160</i>
<i>Abb. 69: Open Field-Test #3 (PND 45) im modifizierten OF (Tonquadrant-Aktivität ♀).....</i>	<i>160</i>
<i>Abb. 70: Open Field-Test #4 (PND 45) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I ♀).....</i>	<i>161</i>
<i>Abb. 71: Open Field-Test #4 (PND 45) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II ♀) .....</i>	<i>162</i>
<i>Abb. 72: Open Field-Test #4 (PND 45) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I ♀).....</i>	<i>163</i>
<i>Abb. 73: Open Field-Test #4 (PND 45) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II ♀) .....</i>	<i>164</i>
<i>Abb. 74: Open Field-Test #4 (PND 45) im modifizierten OF (Tonquadrant-Aktivität ♀).....</i>	<i>164</i>

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Open Field-Test #2-4 (Standard-OF) – Experimentelle Gruppen, Tierzahl ♂	30
Tabelle 2: Open Field-Test #2-4 (modifiziertes OF)– Experimentelle Gruppen, Tierzahl ♂	30
Tabelle 3: 2-FDG-Studie – Experimentelle Gruppen, Tierzahl	61
Tabelle 4: Metabolische Aktivität (2-FDG): Hauptfaktoreffekte + Interaktionen der Einzelfaktoren:	66
Tabelle 5: Metabolische Aktivität (2-FDG): Haupteffekte des Faktors AUFZUCHT	67
Tabelle 6: Metabolische Aktivität (2-FDG): Haupteffekte des Faktors PHARM	68
Tabelle 7: Metabolische Aktivität (2-FDG): Ergebnisse des Post hoc tukey Test für Interaktionen	69
Tabelle 8: Golgi-Cox-Staining - Experimentelle Gruppen ♂	79
Tabelle 9 : Körpergewicht Open Field-Test #1: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik: t-test) ♂	131
Tabelle 10 : Körpergewicht Open Field-Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM) ♂	131
Tabelle 11 : Körpergewicht Open Field-Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 2Wege-ANOVA) ♂	131
Tabelle 12 : OF-Aktivität (5 min gesamt) Test #1: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik t-test) ♂	131
Tabelle 13 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #1: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM) ♂	132
Tabelle 14 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #1: Standard-OF (Statistik: 2Wege-ANOVA) ♂	132
Tabelle 15 : OF-Aktivität Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM) ♂	133
Tabelle 16 : OF-Aktivität (Vertikale Exploration, Putzverhalten) Test #2- #4: Standard-OF(Statistik: 2Wege-ANOVA) ♂	133
Tabelle 17 : OF-Aktivität (Defäkationen, Vokalisationen) Test #2- #4: Standard-OF ( Statistik: 2Wege-ANOVA) ♂	134
Tabelle 18: OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM) ♂	134
Tabelle 19 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 3Wege-ANOVA) ♂	135
Tabelle 20 : Körpergewicht Open Field-Test #1: Modifiziertes OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik t-test)	136
Tabelle 21 : Körpergewicht Open Field-Test #2- #4: Modifiziertes OF (Mittelwerte ± SEM)	136
Tabelle 22 : Körpergewicht Open Field-Test #2, PND 22 + #3- #4, PND 45, Statistik: 2Wege-ANOVA	136
Tabelle 23 : Gesamt-OF-Aktivität (5 min gesamt) Test #1: Modifiziertes OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik t-test)	136
Tabelle 24 : Tonquadrant-Aktivität (5 min gesamt) Test #1: Modifiziertes OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik t-test) ♂	136
Tabelle 25 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #1: Modifiziertes OF (Mittelwerte ± SEM) ♂	137
Tabelle 26 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #1: Modifiziertes OF (Statistik: 2Wege-ANOVA) ♂	137
Tabelle 27 : OF-Aktivität (Vertikale Exploration, Putzverhalten) Test #2- #4: Modifiziertes OF (Mittelwerte ± SEM) ♂	138
Tabelle 28 : OF-Aktivität (Vertikale Exploration, Putzverhalten) Test #2- #4: Modifiziertes OF ( Statistik: 2Wege-ANOVA) ♂	138
Tabelle 29 : OF-Aktivität (Defäkationen, Vokalisationen) Test #2- #4: Modifiziertes OF ( Statistik: 2Wege-ANOVA) ♂	139
Tabelle 30 : Tonquadrant-Aktivität Test #2- #4: Modifiziertes OF (Mittelwerte ± SEM) ♂	139
Tabelle 31 : Tonquadrant-Aktivität Test #2- #4: Modifiziertes OF ( Statistik: 2Wege-ANOVA) ♂	140
Tabelle 32: Gesamt-OF-Aktivität: Horizontale Exploration, Zentrumsexploration (Einzelminuten) : Modifiziertes OF (Mittelwerte ± SEM) ♂	141
Tabelle 33 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) : Modifiziertes OF (Statistik: 3Wege-ANOVA) ♂	142
Tabelle 34 : Körpergewicht 2-FDG-Experiment (Mittelwerte ± SEM, Statistik: t-test) ♂	143
Tabelle 35 : Körpergewicht 2-FDG-Experiment (Mittelwerte ± SEM, Statistik: 2Wege-ANOVA) ♂	143
Tabelle 36 : Metabolische Aktivität (2-FDG): Mittlere photometrische Dichte (Mittelwerte ± SEM) ♂	143
Tabelle 37 : Metabolische Aktivität (vOFC, IOFC, ACd, Pl, IL): Mittlere photometrische Dichte (Statistik: 3Wege ANOVA) ♂	144
Tabelle 38: Metabolische Aktivität (Nacc, Cpu, DG, CA1, CA3): Mittlere photometrische Dichte (Statistik: 3Wege ANOVA) ♂	145
Tabelle 39: Metabolische Aktivität (BLA, LA, TH, SN, VTA): Mittlere photometrische Dichte (Statistik: 3Wege ANOVA) ♂	146

Tabelle 40 : Metabolische Aktivität (MM, MG, Aud, SSC): Mittlere photometrische Dichte (Statistik: 3Wege ANOVA (* 2Wege ANOVA) ♂	147
Tabelle 41 : Körpergewicht Open Field-Test #1: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik: t-test) ♀	165
Tabelle 42 : Körpergewicht Open Field-Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM) ♀	165
Tabelle 43 : Körpergewicht Open Field-Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 2Wege-ANOVA) ♀	165
Tabelle 44 : OF-Aktivität (5 min gesamt) Test #1: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik t-test) ♀	165
Tabelle 45 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #1: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik: 2Wege-ANOVA) ♀	166
Tabelle 46 : OF-Aktivität Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM) ♀	166
Tabelle 47 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration) Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 2Wege ANOVA) ♀	167
Tabelle 48 : OF-Aktivität (Vertikale Exploration, Putzverhalten) Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 2Wege-ANOVA) ♀	167
Tabelle 49 : OF-Aktivität (Defäkation, Vokalisationen) Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 2Wege-ANOVA) ♀	167
Tabelle 50 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM) ♀	168
Tabelle 51 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 3Wege-ANOVA) ♀	169
Tabelle 52 : Körpergewicht Open Field-Test #1: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik: t-test) ♀	170
Tabelle 53 : Körpergewicht Open Field-Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM) ♀	170
Tabelle 54 : Körpergewicht Open Field-Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 2Wege-ANOVA) ♀	170
Tabelle 55 : OF-Aktivität (5 min gesamt) Test #1: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik t-test) ♀	170
Tabelle 56 : Tonquadrant-Aktivität (5 min gesamt) Test #1: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik t-test) ♀	170
Tabelle 57 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #1: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik: 2Wege-ANOVA) ♀	171
Tabelle 58 : OF-Aktivität Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM) ♀	171
Tabelle 59 : OF-Aktivität (Vertikale Exploration, Putzverhalten) Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 2Wege-ANOVA) ♀	172
Tabelle 60 : OF-Aktivität (Defäkation, Vokalisationen) Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 2Wege-ANOVA) ♀	172
Tabelle 61 : Tonquadrant-Aktivität Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM) ♀	173
Tabelle 62 : Tonquadrant-Aktivität Test #2- #4: Modifiziertes OF (Statistik: 2Wege-ANOVA) ♀	174
Tabelle 63 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM) ♀	174
Tabelle 64 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 3Wege-ANOVA) ♀	175

## Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
%	Prozent (von hundert)
2-FDG	2-Fluoro-Deoxyglukose
5-HT <sub>1A</sub> -Rezeptor	Serotonin-Rezeptor 1A
<sup>14</sup> C	radioaktiv markierter Kohlenstoff
ADHD	Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitäts-Syndrom (Attention-Deficit-Hyperactivity-Disorder)
ANOVA	Varianzanalyse (Analysis of variance)
ACd	dorsaler anteriorer cingulärer Cortex
Aud	auditorischer Cortex
Aqua dest.	Aqua destillata (destilliertes Wasser)
BLA	basolateraler amygdaloider Komplex
CA	Cornu ammonis (Ammonshorn) des Hippocampus
CA1	Cornu ammonis-Region 1
CA3	Cornu ammonis-Region 3
cm	Zentimeter
CPu	Caudatum + Putamen, dorsales Striatum
CRF	Corticotropin-releasing Factor
DA	Dopamin
D1-Rezeptor	Dopamin-Rezeptor 1
D2-Rezeptor	Dopamin-Rezeptor 2
DG	Gyrus dentatus des Hippocampus
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
g	Gramm
GABA	γ-Aminino-Buttersäure (γ-aminobutyric acid)
Hipp	Hippocampus
IL	infralimbische Cortex
LA	laterale Amygdala
IOFC	lateraler orbitofrontaler Cortex
MD	Nucleus mediodorsalis des Thalamus
MGV	mediales Geniculatum
ml	Milliliter
MM	Mammilarkörper
MP	Methylphenidat
mPFC	medialer präfrontaler Cortex
mRNA	Boten-Ribonukelinsäure (messenger ribonucleic acid)
n	Zahl der Versuchstiere bzw. Versuchselemente
Nacc	Nucleus accumbens, ventrales Striatum
NaCl	Natriumchlorid
NIH	National Institutes of Health (USA)
NOR	Noradrenalinrezeptor
n.s.	nicht signifikant
OF	Open Field
OFC	orbitofrontaler Cortex
PET	(Fluorodeoxy-Glukose-) Positron-Emission-Tomographie
PFC	präfrontaler Cortex
PL	prälimbischer Cortex
PND	postnataler Tag (postnatal day)
SEM	Standardfehler (standard error of the mean)
SHR	Spontaneous hypertensive rat (animal model for ADHD)
SN	Substantia nigra
SSC	somatosensorischer Cortex
TH	Tyrosinhydroxylase
vOFC	ventromedialer orbitofrontaler Cortex
VTA	ventrales tegmentales Areal



## Anhang A (Daten Männchen)

Tabellenanhang über die in der vorliegenden Dissertation dargestellten Daten

### A.1 Tabellenanhang: Standard - Open Field, männliche Tiere (♂)

Tabelle 9 : Körpergewicht Open Field-Test #1: Standard-OF (Mittelwerte  $\pm$  SEM, Statistik: t-test) ♂

	Test	S	ES	t-test (*u-test)	Test #1
Körpergewicht (in g)	# 1	52.3 $\pm$ 1.8	48.8 $\pm$ 1.6	Parameter:	<i>P</i>
				Körpergewicht P 22	0.107

Tabelle 10 : Körpergewicht Open Field-Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte  $\pm$  SEM) ♂

	Test	SAL-S	SAL-ES	MP1-S	MP1-ES	MP5-S	MP5-ES
Körpergewicht (in g)	# 2	51.7 $\pm$ 2.5	49.7 $\pm$ 2.3	55.3 $\pm$ 2.2	45.0 $\pm$ 3.6	50.3 $\pm$ 4.1	50.1 $\pm$ 2.2
	# 3-4	100.2 $\pm$ 4.1	105.1 $\pm$ 4.9	96.6 $\pm$ 5.9	97.8 $\pm$ 7.8	102.8 $\pm$ 6.6	102.0 $\pm$ 4.8

Tabelle 11 : Körpergewicht Open Field-Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 2Wege-ANOVA) ♂

Zwei-Wege-ANOVA:	PND 22 Test #2		PND 45 Test #3 + #4	
	Körpergewicht			
Faktoren	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
AUFZUCHT	2.9	0.097	0.1	0.708
PHARM	0.0	0.975	0.6	0.572
AUFZUCHT x PHARM	1.5	0.230	0.1	0.874

Tabelle 12 : OF-Aktivität (5 min gesamt) Test #1: Standard-OF (Mittelwerte  $\pm$  SEM, Statistik t-test) ♂

5 Minuten gesamt		Test	S	ES	t-test (*u-test)	Test #1
Gesamt-OF-Aktivität	Gesamtlaufstrecke (in m)	# 1	24.0 $\pm$ 1.1	28.3 $\pm$ 1.5	Parameter:	<i>P</i>
	Zentrumsaktivität (in %)		19.8 $\pm$ 1.5	27.3 $\pm$ 2.0	Vertikale Exploration	<b>0.011</b>
	Vertikale Exploration (Anzahl)		26.6 $\pm$ 1.7	29.7 $\pm$ 2.2	Putzverhalten*	<b>0.014</b>
	Defekationen (Anzahl)		0.1 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.2	Defekationen*	<b>0.033</b>
	Vokalisationen (Anzahl)		0.1 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.7	Vokalisationen*	0.632
	Putzverhalten (Anzahl)		2.1 $\pm$ 0.7	2.6 $\pm$ 0.6		

Tabelle 13 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #1: Standard-OF (Mittelwerte  $\pm$  SEM) ♂

Minutenabschnitte		Test	min	S	ES
Gesamt-OF-Aktivität	Gesamtlaufstrecke (in m)	# 1	1	6.2 $\pm$ 0.3	8.1 $\pm$ 0.5
			2	5.7 $\pm$ 0.4	7.3 $\pm$ 0.5
			3	4.9 $\pm$ 0.4	6.2 $\pm$ 0.4
			4	4.5 $\pm$ 0.5	6.1 $\pm$ 0.4
			5	3.3 $\pm$ 0.5	6.0 $\pm$ 0.4
	Zentrumsaktivität (in %)	# 1	1	9.6 $\pm$ 1.9	17.1 $\pm$ 3.1
			2	14.7 $\pm$ 2.3	18.4 $\pm$ 2.2
			3	11.9 $\pm$ 2.7	24.4 $\pm$ 3.6
			4	10.9 $\pm$ 2.2	23.0 $\pm$ 3.1
			5	16.0 $\pm$ 3.2	22.8 $\pm$ 2.7

Tabelle 14 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #1: Standard-OF (Statistik: 2Wege-ANOVA) ♂

Zwei-Wege-ANOVA:				
	Test #1			
	Gesamtlaufstrecke		Zentrumsexploration	
Faktoren	F	P	F	P
AUFZUCHT	7.940	0.005	11.634	<0.001
ZEIT	10.105	<0.001	5.506	<0.001
AUFZUCHT x ZEIT	0.130	0.971	0.694	0.597
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte				
Faktor AUFZUCHT	q	P	q	P
S vs. ES	3.985	0.005	4.824	<0.001
Faktor ZEIT	q	P	q	P
1 vs. 2	0.006	1.000	3.332	0.128
1 vs. 3	3.857	0.050	5.206	0.002
1 vs. 4	4.724	0.007	5.334	0.002
1 vs. 5	7.342	<0.001	5.553	<0.001
2 vs. 3	3.863	0.050	1.874	0.676
2 vs. 4	4.729	0.007	2.002	0.618
2 vs. 5	7.347	<0.001	2.221	0.516
3 vs. 4	0.867	0.973	0.128	1.000
3 vs. 5	3.485	0.099	0.348	0.999
4 vs. 5	2.618	0.344	0.219	1.000

Tabelle 15 : OF-Aktivität Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM) ♂

Minutenabschnitte	Test	min	SAL-S	SAL-ES	MP1-S	MP1-ES	MP5-S	MP5-ES
Gesamtlaufstrecke (in m)	# 2	1	7.2 ± 0.9	9.9 ± 1.1	6.9 ± 0.8	7.3 ± 1.0	11.7 ± 2.4	11.7 ± 3.1
		2	5.0 ± 0.9	7.2 ± 0.7	5.7 ± 0.5	6.0 ± 0.9	9.1 ± 2.4	12.2 ± 3.9
		3	3.7 ± 0.8	6.2 ± 1.5	4.8 ± 0.4	5.2 ± 0.7	9.0 ± 2.4	12.5 ± 3.9
		4	4.0 ± 0.9	6.6 ± 1.4	4.8 ± 0.4	4.8 ± 1.1	8.5 ± 2.2	12.6 ± 4.1
		5	3.6 ± 1.1	5.5 ± 1.4	4.9 ± 0.9	5.3 ± 1.1	8.6 ± 2.1	13.0 ± 4.0
	# 3	1	9.3 ± 0.8	10.5 ± 1.1	11.7 ± 1.6	10.2 ± 1.1	9.2 ± 0.8	11.1 ± 1.0
		2	6.4 ± 0.8	9.4 ± 1.5	9.6 ± 1.7	8.0 ± 0.9	7.4 ± 0.7	9.0 ± 1.0
		3	6.1 ± 1.9	5.7 ± 0.7	7.7 ± 2.2	6.9 ± 1.2	6.5 ± 1.3	9.1 ± 0.9
		4	5.4 ± 1.0	5.6 ± 0.9	7.7 ± 2.4	5.9 ± 0.9	5.0 ± 0.9	8.7 ± 1.2
		5	6.3 ± 1.1	6.7 ± 0.6	7.5 ± 2.3	6.2 ± 0.9	5.0 ± 0.9	8.5 ± 1.1
	# 4	1	6.1 ± 0.9	9.1 ± 1.2	8.5 ± 0.8	9.2 ± 2.1	7.7 ± 2.0	9.3 ± 1.4
		2	5.9 ± 0.9	7.5 ± 0.9	8.2 ± 1.4	8.7 ± 1.1	5.8 ± 1.7	8.2 ± 1.2
		3	5.3 ± 0.7	7.1 ± 1.1	8.1 ± 1.1	8.4 ± 1.5	5.4 ± 1.7	8.9 ± 1.4
		4	4.8 ± 0.7	6.7 ± 1.6	8.0 ± 1.4	7.3 ± 1.5	5.7 ± 1.7	9.9 ± 1.8
		5	4.6 ± 0.9	6.9 ± 1.6	5.6 ± 1.0	6.9 ± 1.2	5.4 ± 1.6	8.9 ± 2.2
Zentrumaktivität (in %)	# 2	1	21.8 ± 4.5	28.9 ± 6.6	18.3 ± 3.7	27.9 ± 5.2	23.9 ± 7.4	37.1 ± 11.7
		2	20.9 ± 6.0	26.8 ± 6.5	22.6 ± 5.4	38.4 ± 7.1	22.3 ± 8.8	33.5 ± 12.3
		3	17.6 ± 6.0	23.7 ± 4.7	24.5 ± 4.0	29.8 ± 5.3	29.6 ± 10.8	30.1 ± 7.9
		4	18.3 ± 6.1	22.9 ± 4.2	24.8 ± 5.5	34.5 ± 8.7	24.6 ± 11.4	27.1 ± 9.2
		5	22.2 ± 5.6	22.0 ± 3.4	16.9 ± 3.6	34.5 ± 5.1	30.5 ± 9.8	32.2 ± 6.6
	# 3	1	20.2 ± 4.0	22.8 ± 3.7	21.2 ± 4.1	17.4 ± 3.7	19.0 ± 4.8	26.4 ± 5.7
		2	19.2 ± 3.7	25.3 ± 4.6	26.3 ± 3.7	24.5 ± 6.3	23.3 ± 3.3	28.0 ± 4.0
		3	18.0 ± 5.6	19.5 ± 4.4	25.4 ± 5.5	21.0 ± 6.9	22.8 ± 3.9	29.7 ± 3.5
		4	14.4 ± 5.8	15.8 ± 5.3	25.9 ± 4.5	20.6 ± 3.5	28.9 ± 7.0	35.0 ± 4.0
		5	20.2 ± 5.3	24.8 ± 4.6	22.5 ± 5.4	29.9 ± 5.9	32.7 ± 6.0	35.8 ± 5.5
	# 4	1	25.7 ± 6.2	30.5 ± 6.9	30.9 ± 5.1	23.7 ± 7.2	44.9 ± 10.2	45.0 ± 4.1
		2	24.4 ± 4.0	27.7 ± 4.9	25.2 ± 3.9	23.4 ± 6.3	39.4 ± 11.4	41.7 ± 5.2
		3	25.1 ± 6.5	31.2 ± 4.9	22.0 ± 6.9	17.9 ± 5.3	41.3 ± 13.0	38.0 ± 7.7
		4	22.6 ± 5.8	33.2 ± 4.7	24.1 ± 4.5	20.9 ± 5.4	26.4 ± 7.7	39.8 ± 7.8
		5	19.6 ± 4.4	31.6 ± 6.1	34.7 ± 9.0	20.3 ± 4.4	27.6 ± 9.0	48.9 ± 3.8

Tabelle 16 : OF-Aktivität (Vertikale Exploration, Putzverhalten) Test #2- #4: Standard-OF(Statistik: 2Wege-ANOVA)♂

Zwei-Wege-ANOVA:												
	Test #2				Test #3				Test #4			
	vertikale Exploration		Putz-Verhalten		vertikale Exploration		Putz-Verhalten		vertikale Exploration		Putz-Verhalten	
Faktoren	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
AUFZUCHT	0.105	0.748	<b>7.244</b>	<b>0.009</b>	2.736	0.104	<b>6.506</b>	<b>0.014</b>	<b>4.160</b>	<b>0.046</b>	1.264	0.266
PHARM	<b>6.023</b>	<b>0.004</b>	1.651	0.202	0.149	0.862	0.360	0.700	1.412	0.253	1.042	0.360
AUFZUCHT x PHARM	0.099	0.906	3.093	0.054	2.172	0.124	0.746	0.479	0.700	0.501	0.883	0.419
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte												
Faktor AUFZUCHT	q	P	q	P	q	P	q	P	q	P	q	P
\$ vs. ES			<b>3.806</b>	<b>0.010</b>			<b>3.607</b>	<b>0.014</b>	<b>2.884</b>	<b>0.047</b>		
Faktor PHARM	q	P	q	P	q	P	q	P	q	P	q	P
SAL vs. MP1	2.639	0.159										
SAL vs. MP5	2.642	0.158										
MP1 vs. MP5	<b>4.908</b>	<b>0.003</b>										

Tabelle 17 : OF-Aktivität (Defäkationen, Vokalisationen) Test #2- #4: Standard-OF ( Statistik: 2Wege-ANOVA) ♂

Zwei-Wege-ANOVA:												
	Test #2				Test #3				Test #4			
	Defekationen		Vokalisationen		Defekationen		Vokalisationen		Defekationen		Vokalisationen	
Faktoren	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
AUFZUCHT	<b>7.258</b>	<b>0.009</b>	2.197	0.144	1.216	0.275	2.341	0.132	2.882	0.096	0.000	1.000
PHARM	2.455	0.096	1.513	0.230	0.028	0.972	2.216	0.119	<b>3.899</b>	<b>0.026</b>	0.000	1.000
AUFZUCHT x PHARM	2.168	0.124	1.513	0.230	0.502	0.608	2.216	0.119	0.771	0.468		
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte												
Faktor AUFZUCHT	q	P	q	P	q	P	q	P	q	P	q	P
S vs. ES	<b>3.810</b>	<b>0.010</b>										

Tabelle 18: OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM) ♂

Minutenabschnitte	Test	min	SAL-S	SAL-ES	MP1-S	MP1-ES	MP5-S	MP5-ES
Gesamtlaufstrecke (in m)	# 2	1	5.4 ± 0.6	6.9 ± 0.9	7.9 ± 1.2	4.3 ± 0.6	11.5 ± 0.9	8.1 ± 1.3
		2	4.2 ± 0.6	5.0 ± 0.6	6.6 ± 0.4	4.3 ± 0.5	10.3 ± 0.9	8.0 ± 1.2
		3	3.9 ± 0.6	3.9 ± 0.6	6.0 ± 0.3	4.6 ± 0.7	9.2 ± 1.0	8.2 ± 1.1
		4	3.5 ± 0.6	4.6 ± 0.6	5.7 ± 0.4	4.3 ± 0.7	7.6 ± 1.0	7.4 ± 1.0
		5	3.5 ± 0.7	4.0 ± 0.7	4.4 ± 1.0	4.6 ± 0.5	8.6 ± 1.1	8.2 ± 1.0
	# 3	1	9.2 ± 0.5	8.7 ± 0.6	8.3 ± 0.8	8.7 ± 0.6	9.0 ± 0.8	9.1 ± 0.5
		2	6.9 ± 0.4	6.6 ± 0.5	4.9 ± 0.9	6.6 ± 0.7	5.8 ± 0.6	7.3 ± 0.5
		3	6.3 ± 0.7	5.9 ± 0.5	4.3 ± 1.2	6.4 ± 0.8	5.2 ± 1.2	5.0 ± 0.8
		4	5.9 ± 0.5	5.5 ± 0.7	4.7 ± 1.2	5.4 ± 1.1	3.7 ± 1.0	5.5 ± 0.6
		5	5.4 ± 0.5	5.5 ± 0.6	3.9 ± 1.0	5.8 ± 0.9	3.4 ± 1.2	4.6 ± 0.6
	# 4	1	5.1 ± 0.8	5.8 ± 0.9	7.2 ± 0.9	8.3 ± 1.1	9.2 ± 1.2	7.4 ± 0.9
		2	4.0 ± 0.7	4.6 ± 0.5	7.2 ± 0.9	7.2 ± 1.4	6.7 ± 1.1	7.6 ± 0.9
		3	3.9 ± 0.8	4.1 ± 0.7	6.6 ± 0.6	7.1 ± 1.0	7.9 ± 1.6	7.7 ± 1.2
		4	3.3 ± 0.8	3.8 ± 0.8	6.0 ± 1.2	6.4 ± 0.9	6.9 ± 1.3	8.1 ± 0.7
		5	3.3 ± 0.8	3.8 ± 0.7	5.1 ± 1.3	6.2 ± 1.1	6.4 ± 1.1	6.0 ± 1.3
Zentrumssaktivität (in %)	# 2	1	28.5 ± 4.7	41.0 ± 7.4	39.5 ± 5.8	49.4 ± 5.6	35.4 ± 5.4	52.9 ± 7.0
		2	18.2 ± 5.2	33.3 ± 7.0	33.4 ± 3.2	33.1 ± 6.6	41.9 ± 3.2	52.2 ± 5.9
		3	21.6 ± 3.9	36.3 ± 8.7	47.1 ± 6.4	23.1 ± 4.7	52.6 ± 7.3	57.0 ± 4.4
		4	15.1 ± 3.9	31.6 ± 8.1	34.7 ± 4.1	29.7 ± 3.0	56.2 ± 6.3	60.7 ± 3.3
		5	18.5 ± 4.8	42.1 ± 6.4	29.3 ± 6.9	35.2 ± 6.0	42.3 ± 5.9	52.2 ± 4.0
	# 3	1	31.6 ± 3.7	29.5 ± 3.6	34.3 ± 2.9	27.5 ± 4.6	36.7 ± 4.1	25.7 ± 4.4
		2	26.8 ± 3.3	28.0 ± 3.9	15.1 ± 4.3	21.8 ± 4.8	23.0 ± 2.5	22.0 ± 4.2
		3	25.5 ± 3.8	34.3 ± 4.0	27.3 ± 8.2	19.9 ± 4.1	16.9 ± 6.4	35.6 ± 7.3
		4	32.6 ± 3.6	40.7 ± 5.9	31.2 ± 8.2	24.0 ± 7.2	26.3 ± 6.8	28.2 ± 3.7
		5	30.2 ± 2.8	41.5 ± 6.8	37.3 ± 13.7	24.7 ± 5.9	22.4 ± 9.1	39.6 ± 5.2
	# 4	1	37.5 ± 5.1	49.7 ± 5.5	54.5 ± 5.7	36.7 ± 4.7	50.8 ± 5.0	48.9 ± 7.3
		2	24.4 ± 5.4	37.2 ± 5.6	33.9 ± 5.0	28.1 ± 6.6	53.8 ± 6.2	41.3 ± 6.4
		3	20.4 ± 5.0	37.6 ± 7.6	44.1 ± 9.7	35.2 ± 6.2	48.7 ± 9.4	46.7 ± 7.6
		4	18.2 ± 6.3	37.7 ± 9.1	62.1 ± 9.0	31.7 ± 6.0	55.9 ± 9.7	46.9 ± 7.0
		5	14.7 ± 5.3	47.1 ± 9.1	62.4 ± 14.0	38.7 ± 4.1	51.0 ± 10.0	50.5 ± 9.3

Tabelle 19 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 3Wege-ANOVA) ♂

Drei-Wege-ANOVA:												
	Test #2				Test #3				Test #4			
	Gesamt-Laufstrecke		Zentrums-exploration		Gesamt-Laufstrecke		Zentrums-exploration		Gesamt-Laufstrecke		Zentrums-exploration	
Faktoren	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
AUFZUCHT	<b>7.107</b>	<b>0.008</b>	<b>12.849</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>5.583</b>	<b>0.019</b>	0.722	0.396	0.961	0.328	0.214	0.644
PHARM	<b>77.226</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>37.038</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>3.276</b>	<b>0.039</b>	3.238	0.051	<b>31.837</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>14.975</b>	<b>&lt;0.001</b>
ZEIT	<b>5.305</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.923	0.451	<b>28.725</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>3.130</b>	<b>0.015</b>	<b>3.349</b>	<b>0.011</b>	1.804	0.128
AUFZUCHT x PHARM	<b>7.674</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>6.915</b>	<b>0.001</b>	<b>3.643</b>	<b>0.028</b>	<b>3.075</b>	<b>0.048</b>	0.319	0.727	<b>17.056</b>	<b>&lt;0.001</b>
AUFZUCHT x ZEIT	1.362	0.248	1.672	0.157	0.504	0.733	1.359	0.249	0.110	0.979	0.407	0.804
PHARM x ZEIT	0.510	0.849	1.858	0.067	0.537	0.828	0.372	0.935	0.240	0.983	1.062	0.390
AUFZUCHT x PHARM x ZEIT	0.900	0.517	0.776	0.624	0.383	0.929	1.267	0.261	0.329	0.955	0.734	0.662
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte												
Faktor AUFZUCHT	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>						
S vs. ES	<b>3.770</b>	<b>0.008</b>	<b>5.069</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>3.341</b>	<b>0.018</b>						
Faktor PHARM	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1	3.096	0.073	<b>3.731</b>	<b>0.023</b>	2.942	0.094	<b>3.356</b>	<b>0.046</b>	<b>8.214</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>4.549</b>	<b>0.004</b>
SAL vs. MP5	<b>16.995</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>12.079</b>	<b>&lt;0.001</b>	3.177	0.064	2.628	0.151	<b>10.537</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>7.612</b>	<b>&lt;0.001</b>
MP1 vs. MP5	<b>12.788</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>7.657</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.182	0.991	0.723	0.866	2.064	0.311	2.791	0.119
Faktor ZEIT	<i>q</i>	<i>P</i>			<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>		
1 vs. 2	2.787	0.280			<b>8.191</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>3.617</b>	<b>0.078</b>	2.297	0.482		
1 vs. 3	<b>4.123</b>	<b>0.029</b>			<b>10.998</b>	<b>&lt;0.001</b>	1.922	0.654	2.346	0.460		
1 vs. 4	<b>5.556</b>	<b>&lt;0.001</b>			<b>12.149</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.175	1.000	3.475	0.101		
1 vs. 5	<b>5.471</b>	<b>0.001</b>			<b>13.399</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.772	0.983	<b>4.991</b>	<b>0.004</b>		
2 vs. 3	1.336	0.879			2.807	0.273	1.695	0.752	0.048	1.000		
2 vs. 4	2.770	0.287			<b>3.957</b>	<b>0.041</b>	3.442	0.106	1.177	0.921		
2 vs. 5	2.684	0.318			<b>5.208</b>	<b>0.002</b>	<b>4.389</b>	<b>0.016</b>	2.694	0.315		
3 vs. 4	1.434	0.849			1.151	0.927	1.747	0.731	1.129	0.931		
3 vs. 5	1.348	0.876			2.401	0.435	2.694	0.315	2.646	0.333		
4 vs. 5	0.086	1.000			1.250	0.903	0.947	0.963	1.517	0.821		
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Interaktionen												
PHARM innerhalb S	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>			<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1	<b>14.947</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>9.811</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>4.126</b>	<b>0.010</b>	1.789	0.415			<b>9.183</b>	<b>&lt;0.001</b>
SAL vs. MP5	<b>12.079</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>5.500</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.537	0.924	2.494	0.182			<b>3.600</b>	<b>0.029</b>
MP1 vs. MP5	<b>13.004</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>4.165</b>	<b>0.009</b>	<b>3.336</b>	<b>0.048</b>	0.572	0.914			<b>5.226</b>	<b>&lt;0.001</b>
PHARM innerhalb ES	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>			<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1	<b>3.380</b>	<b>0.044</b>	0.029	1.000	<b>3.495</b>	<b>0.036</b>	2.267	0.244			2.869	0.105
SAL vs. MP5	<b>4.986</b>	<b>0.001</b>	<b>6.695</b>	<b>&lt;0.001</b>	3.157	0.066	0.450	0.946			1.360	0.601
MP1 vs. MP5	<b>9.007</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>7.237</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.359</b>	<b>0.965</b>	1.928	0.360			1.584	0.501
AUFZUCHT innerhalb	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>			<i>q</i>	<i>P</i>
SAL	<b>5.640</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>6.354</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>4.690</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.113	0.936			<b>8.989</b>	<b>&lt;0.001</b>
MP1	<b>12.380</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>3.314</b>	<b>0.019</b>	<b>2.961</b>	<b>0.036</b>	<b>3.855</b>	<b>0.006</b>			<b>3.053</b>	<b>0.031</b>
MP5	<b>9.798</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>7.935</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.821	0.562	<b>2.708</b>	<b>0.056</b>			1.912	0.126



## A.2 Tabellenanhang: Modifiziertes Open Field, männliche Tiere (♂)

Tabelle 20 : Körpergewicht Open Field-Test #1: Modifiziertes OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik t-test)

	Test	S	ES	t-test (*u-test)	Test #1
Körpergewicht (in g)	# 1	52.3 ± 1.5	49.9 ± 1.3	Parameter:	P
				Körpergewicht P 22*	0.563

Tabelle 21 : Körpergewicht Open Field-Test #2- #4: Modifiziertes OF (Mittelwerte ± SEM)

	Test	SAL-S	SAL-ES	MP1-S	MP1-ES	MP5-S	MP5-ES
Körpergewicht (in g)	# 2	50.6 ± 2.1	48.0 ± 1.8	51.2 ± 2.2	53.6 ± 2.8	52.5 ± 3.0	50.5 ± 2.6
	# 3-4	104.1 ± 3.6	108.8 ± 8.0	114.8 ± 5.6	104.5 ± 6.8	111.8 ± 6.3	116.5 ± 7.8

Tabelle 22 : Körpergewicht Open Field-Test #2, PND 22 + #3- #4, PND 45, Statistik: 2Wege-ANOVA

Zwei-Wege-ANOVA:	PND 22		PND 45	
	Test #2		Test #3 + #4	
	Körpergewicht			
Faktoren	F	P	F	P
AUFZUCHT	1.2	0.271	1.6	0.218
PHARM	0.3	0.766	0.0	0.984
AUFZUCHT x PHARM	0.5	0.599	0.8	0.448

Tabelle 23 : Gesamt-OF-Aktivität (5 min gesamt) Test #1: Modifiziertes OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik t-test)

5 Minuten gesamt		Test	S	ES	t-test (*u-test)	Test #1
Gesamt-OF-Aktivität	Gesamtlaufstrecke (in m)	# 1	25.2 ± 2.3	31.6 ± 2.0	Parameter: Gesamt-OF	P
	Zentrumsaktivität (in %)		12.8 ± 1.7	22.8 ± 2.3	Vertikale Exploration	0.042
	Vertikale Exploration (Anzahl)		24.8 ± 2.9	31.7 ± 2.3	Putzverhalten*	<0.001
	Defekationen (Anzahl)		0.0 ± 0.0	0.4 ± 0.2	Defekationen*	0.037
	Vokalisationen (Anzahl)		0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	Vokalisationen*	0.732
	Putzverhalten (Anzahl)		0.2 ± 0.1	1.9 ± 0.5		

Tabelle 24 : Tonquadrant-Aktivität (5 min gesamt) Test #1: Modifiziertes OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik t-test)

5 Minuten gesamt		Test	S	ES	t-test (*u-test)	Test #1
Tonquadrant	Laufstrecke (in %)	# 1	28.2 ± 1.8	22.2 ± 1.2	Parameter: Tonquadrant	P
	Eintritte (Anzahl)		9.4 ± 1.1	10.0 ± 0.7	Laufstrecke*	0.030
	Verweildauer (in sec)		78.6 ± 4.7	62.2 ± 4.2	Eintritte*	0.470
						Verweildauer

Tabelle 25 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #1: Modifiziertes OF (Mittelwerte  $\pm$  SEM) ♂

Minutenabschnitte		Test	min	S	ES
Gesamt-OF-Aktivität	Gesamtlaufstrecke (in m)	# 1	1	6.2 $\pm$ 0.3	8.1 $\pm$ 0.5
			2	5.7 $\pm$ 0.4	7.3 $\pm$ 0.5
			3	4.9 $\pm$ 0.4	6.2 $\pm$ 0.4
			4	4.5 $\pm$ 0.5	6.1 $\pm$ 0.4
			5	3.3 $\pm$ 0.5	6.0 $\pm$ 0.4
	Zentrumsaktivität (in %)	# 1	1	9.6 $\pm$ 1.9	17.1 $\pm$ 3.1
			2	14.7 $\pm$ 2.3	18.4 $\pm$ 2.2
			3	11.9 $\pm$ 2.7	24.4 $\pm$ 3.6
			4	10.9 $\pm$ 2.2	23.0 $\pm$ 3.1
			5	16.0 $\pm$ 3.2	22.8 $\pm$ 2.7

Tabelle 26 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #1: Modifiziertes OF (Statistik: 2Wege-ANOVA) ♂

Zwei-Wege-ANOVA:				
	Test #1			
	Gesamtlaufstrecke		Zentrumsexploration	
Faktoren	F	P	F	P
AUFZUCHT	43.635	<0.001	24.246	<0.001
ZEIT	10.328	<0.001	1.376	0.243
AUFZUCHT x ZEIT	0.773	0.544	0.937	0.443
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte				
Faktor AUFZUCHT	q	P	q	P
S vs. ES	9.342	<0.001	6.964	<0.001
Faktor ZEIT	q	P		
1 vs. 2	2.047	0.597		
1 vs. 3	5.204	0.002		
1 vs. 4	6.071	<0.001		
1 vs. 5	8.015	<0.001		
2 vs. 3	3.156	0.168		
2 vs. 4	4.024	0.036		
2 vs. 5	5.968	<0.001		
3 vs. 4	0.867	0.973		
3 vs. 5	2.811	0.272		
4 vs. 5	1.944	0.644		

Tabelle 27 : OF-Aktivität (Vertikale Exploration, Putzverhalten) Test #2- #4: Modifiziertes OF (Mittelwerte ± SEM) ♂

5 Minuten gesamt		Test	SAL-S	SAL-ES	MP1-S	MP1-ES	MP5-S	MP5-ES
Gesamt-laufstrecke (in m)	# 2	18.4 ± 2.0	24.3 ± 3.1	30.5 ± 1.9	20.4 ± 1.6	47.2 ± 4.2	36.9 ± 4.0	
	# 3	33.8 ± 2.0	34.1 ± 2.3	26.1 ± 4.6	32.9 ± 3.3	27.0 ± 3.6	31.6 ± 2.2	
	# 4	19.6 ± 3.5	22.1 ± 2.6	32.0 ± 4.5	35.2 ± 4.7	37.1 ± 5.9	36.8 ± 4.2	
Zentrumsaktivität (in %)	# 2	24.6 ± 2.5	40.3 ± 4.6	38.8 ± 3.2	32.6 ± 3.3	44.3 ± 4.2	54.2 ± 3.5	
	# 3	27.5 ± 2.6	32.9 ± 2.6	32.4 ± 3.3	23.9 ± 4.5	31.0 ± 2.3	28.8 ± 2.4	
	# 4	25.2 ± 3.5	41.1 ± 3.9	48.4 ± 5.1	33.4 ± 4.0	54.1 ± 5.0	49.2 ± 6.6	
Vertikale Exploration (Anzahl)	# 2	18.7 ± 3.3	18.7 ± 5.3	27.0 ± 5.2	27.0 ± 5.5	8.8 ± 3.3	12.3 ± 3.9	
	# 3	37.2 ± 3.6	32.7 ± 4.9	28.6 ± 6.8	38.3 ± 4.8	23.3 ± 5.8	40.8 ± 7.6	
	# 4	16.4 ± 3.9	18.7 ± 5.6	18.4 ± 6.5	33.4 ± 6.8	11.8 ± 5.5	22.8 ± 6.0	
Putzverhalten (Anzahl)	# 2	1.2 ± 0.3	2.3 ± 0.7	0.0 ± 0.0	4.8 ± 2.2	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.4	
	# 3	1.5 ± 0.6	6.8 ± 1.7	3.6 ± 1.1	7.1 ± 2.2	3.4 ± 2.4	4.8 ± 1.5	
	# 4	1.5 ± 0.7	3.7 ± 1.5	2.9 ± 1.2	5.6 ± 2.5	2.6 ± 1.8	1.7 ± 0.6	
Defekationen (Anzahl)	# 2	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.2	0.1 ± 0.1	1.1 ± 0.4	
	# 3	2.2 ± 0.8	2.0 ± 0.5	1.4 ± 0.6	2.4 ± 0.7	1.5 ± 1.1	2.6 ± 0.6	
	# 4	0.4 ± 0.2	0.4 ± 0.3	1.1 ± 0.5	2.2 ± 0.7	1.1 ± 0.5	2.4 ± 1.0	
Vokalisationen (Anzahl)	# 2	0.0 ± 0.0	0.6 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	
	# 3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	
	# 4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	

Tabelle 28 : OF-Aktivität (Vertikale Exploration, Putzverhalten) Test #2- #4: Modifiziertes OF ( Statistik: 2Wege-ANOVA) ♂

Zwei-Wege-ANOVA:												
	Test #2				Test #3				Test #4			
	vertikale Exploration		Putz-Verhalten		vertikale Exploration		Putz-Verhalten		vertikale Exploration		Putz-Verhalten	
Faktoren	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
AUFZUCHT	8.476	0.006	6.302	0.016	3.313	0.076	1.368	0.249	0.700	0.407	1.246	0.271
PHARM	17.524	<0.001	7.918	0.001	0.116	0.891	0.187	0.831	3.525	0.038	2.698	0.079
AUFZUCHT x PHARM	0.033	0.968	3.288	0.047	0.295	0.746	0.402	0.672	0.311	0.734	0.612	0.547
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte												
Faktor AUFZUCHT	q	P	q	P	q	P	q	P	q	P	q	P
\$ vs. ES	4.117	0.006	3.550	0.016								
Faktor PHARM	q	P	q	P	q	P	q	P	q	P	q	P
SAL vs. MP1	3.716	0.031	3.451	0.049					1.683	0.465		
SAL vs. MP5	4.582	0.007	5.582	<0.001					2.039	0.329		
MP1 vs. MP5	8.363	<0.001	2.210	0.273					3.752	0.030		
Post hoc Tukey Test: Innerfaktor-Effekte												
PHARM innerhalb \$	q	P	q	P								
SAL vs. MP1			1.493	0.546								
SAL vs. MP5			0.561	0.917								
MP1 vs. MP5			0.976	0.771								
PHARM innerhalb ES	q	P	q	P								
SAL vs. MP1			6.400	<0.001								
SAL vs. MP5			4.267	0.012								
MP1 vs. MP5			2.133	0.297								
AUFZUCHT innerhalb	q	P	q	P								
SAL			4.907	0.001								
MP1			1.220	0.393								
MP5			0.000	1.000								



Tabelle 29 : OF-Aktivität (Defäkationen, Vokalisationen) Test #2- #4: Modifiziertes OF ( Statistikk: 2Wege-ANOVA)♂

Zwei-Wege-ANOVA:												
	Test #2				Test #3				Test #4			
	Defekationen		Vokalisationen		Defekationen		Vokalisationen		Defekationen		Vokalisationen	
Faktoren	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
AUFZUCHT	1.884	0.177	0.797	0.377	1.810	0.186	0.200	0.657	2.758	0.104	0.000	1.000
PHARM	2.326	0.110	0.992	0.379	2.165	0.127	0.600	0.553	1.828	0.173	0.000	1.000
AUFZUCHT x PHARM	<b>3.349</b>	<b>0.045</b>	1.115	0.337	0.610	0.548	1.400	0.258	0.457	0.636		
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte												
Faktor AUFZUCHT												
S vs. ES												
Faktor PHARM												
SAL vs. MP1												
SAL vs. MP5												
MP1 vs. MP5												
Post hoc Tukey Test: Innerfaktor-Effekte												
PHARM innerhalb S	q	P										
SAL vs. MP1	0.374	0.962										
SAL vs. MP5	0.000	1.000										
MP1 vs. MP5	0.374	0.962										
PHARM innerhalb ES	q	P										
SAL vs. MP1	<b>4.109</b>	<b>0.016</b>										
SAL vs. MP5	<b>4.109</b>	<b>0.016</b>										
MP1 vs. MP5	0.000	1.000										
AUFZUCHT innerhalb	q	P										
SAL	0.374	0.793										
MP1	<b>4.109</b>	<b>0.006</b>										
MP5	0.374	0.793										

Tabelle 30 : Tonquadrant-Aktivität Test #2- #4: Modifiziertes OF (Mittelwerte ± SEM) ♂

5 Minuten gesamt		Test	SAL-S	SAL-ES	MP1-S	MP1-ES	MP5-S	MP5-ES
Tonquadrant	Laufstrecke (in %)	# 2	29.0 ± 3.1	23.3 ± 1.8	24.2 ± 1.9	29.5 ± 1.8	20.6 ± 2.1	24.3 ± 0.9
		# 3	22.6 ± 2.3	25.0 ± 1.3	24.2 ± 1.8	26.8 ± 1.2	23.4 ± 2.5	23.5 ± 2.3
		# 4	27.8 ± 2.0	21.8 ± 2.4	24.7 ± 1.5	30.8 ± 2.0	32.0 ± 4.5	24.2 ± 1.4
	Eintritte (Anzahl)	# 2	11.1 ± 2.1	9.8 ± 1.4	14.0 ± 2.0	20.9 ± 3.2	21.8 ± 6.3	27.9 ± 7.0
		# 3	15.6 ± 2.4	13.9 ± 1.2	11.8 ± 2.3	16.3 ± 2.8	12.3 ± 1.8	19.6 ± 2.0
		# 4	16.9 ± 1.4	14.3 ± 0.8	16.3 ± 2.7	19.6 ± 3.8	20.5 ± 5.6	20.5 ± 2.5
	Verweildauer (in sec)	# 2	74.1 ± 9.6	56.3 ± 4.7	75.6 ± 9.3	69.3 ± 6.7	61.4 ± 5.2	67.5 ± 6.5
		# 3	72.5 ± 7.8	69.0 ± 5.7	68.1 ± 9.5	76.7 ± 7.6	67.9 ± 8.7	66.1 ± 2.8
		# 4	68.2 ± 2.9	57.8 ± 7.0	69.5 ± 10.8	69.6 ± 6.2	62.4 ± 9.1	65.9 ± 4.3

Tabelle 31 : Tonquadrant-Aktivität Test #2- #4: Modifiziertes OF ( Statistik: 2Wege-ANOVA)♂

Zwei-Wege-ANOVA:																		
Tonquadrant aktivität	Test #2						Test #3						Test #4					
	Lauf- strecke		Eintritte		Verweil- dauer		Lauf- strecke		Eintritte		Verweil- dauer		Lauf- strecke		Eintritte		Verweil- dauer	
Faktoren	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
AUFZUCHT	0.462	0.500	1.941	0.171	1.418	0.240	1.354	0.251	<b>4.139</b>	<b>0.048</b>	0.368	0.547	1.515	0.225	0.006	0.940	0.014	0.905
PHARM	2.584	0.087	<b>5.297</b>	<b>0.009</b>	1.362	0.267	0.421	0.659	0.207	0.814	0.021	0.979	0.986	0.382	1.213	0.307	0.501	0.609
AUFZ. x PHARM	<b>4.161</b>	<b>0.022</b>	0.564	0.573	0.783	0.464	0.339	0.714	0.647	0.528	0.393	0.678	<b>4.518</b>	<b>0.017</b>	1.576	0.218	1.112	0.338
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte																		
Faktor AUFZUCHT								<i>q</i>	<i>P</i>									
S vs. ES								<b>2.877</b>	<b>0.048</b>									
Faktor PHARM			<i>q</i>	<i>P</i>														
SAL vs. MP1			2.307	0.244														
SAL vs. MP5			<b>4.603</b>	<b>0.006</b>														
MP1 vs. MP5			2.361	0.229														
Post hoc Tukey Test: Innerfaktor-Effekte																		
PHARM innerhalb S		<i>q</i>	<i>P</i>									<i>q</i>	<i>P</i>					
SAL vs. MP1		2.336	0.236									1.268	0.645					
SAL vs. MP5		<b>4.054</b>	<b>0.017</b>									1.639	0.484					
MP1 vs. MP5		1.718	0.451									2.907	0.112					
PHARM innerhalb ES		<i>q</i>	<i>P</i>									<i>q</i>	<i>P</i>					
SAL vs. MP1		3.010	0.096									<b>3.544</b>	<b>0.042</b>					
SAL vs. MP5		0.498	0.934									0.924	0.792					
MP1 vs. MP5		2.513	0.190									2.620	0.165					
AUFZ. innerhalb		<i>q</i>	<i>P</i>									<i>q</i>	<i>P</i>					
SAL		2.745	0.059									2.371	0.101					
MP1		2.602	0.073									2.441	0.092					
MP5		1.807	0.208									<b>3.086</b>	<b>0.035</b>					

Tabelle 32: Gesamt-OF-Aktivität: Horizontale Exploration, Zentrumsexploration (Einzelminuten) : Modifiziertes OF (Mittelwerte  $\pm$  SEM) ♂

Minuten- abschnitte	Test	min	SAL-S	SAL-ES	MP1-S	MP1-ES	MP5-S	MP5-ES
Gesamtlaufstrecke (in m)	# 2	1	7.2 $\pm$ 0.9	9.9 $\pm$ 1.1	6.9 $\pm$ 0.8	7.3 $\pm$ 1.0	11.7 $\pm$ 2.4	11.7 $\pm$ 3.1
		2	5.0 $\pm$ 0.9	7.2 $\pm$ 0.7	5.7 $\pm$ 0.5	6.0 $\pm$ 0.9	9.1 $\pm$ 2.4	12.2 $\pm$ 3.9
		3	3.7 $\pm$ 0.8	6.2 $\pm$ 1.5	4.8 $\pm$ 0.4	5.2 $\pm$ 0.7	9.0 $\pm$ 2.4	12.5 $\pm$ 3.9
		4	4.0 $\pm$ 0.9	6.6 $\pm$ 1.4	4.8 $\pm$ 0.4	4.8 $\pm$ 1.1	8.5 $\pm$ 2.2	12.6 $\pm$ 4.1
		5	3.6 $\pm$ 1.1	5.5 $\pm$ 1.4	4.9 $\pm$ 0.9	5.3 $\pm$ 1.1	8.6 $\pm$ 2.1	13.0 $\pm$ 4.0
	# 3	1	9.3 $\pm$ 0.8	10.5 $\pm$ 1.1	11.7 $\pm$ 1.6	10.2 $\pm$ 1.1	9.2 $\pm$ 0.8	11.1 $\pm$ 1.0
		2	6.4 $\pm$ 0.8	9.4 $\pm$ 1.5	9.6 $\pm$ 1.7	8.0 $\pm$ 0.9	7.4 $\pm$ 0.7	9.0 $\pm$ 1.0
		3	6.1 $\pm$ 1.9	5.7 $\pm$ 0.7	7.7 $\pm$ 2.2	6.9 $\pm$ 1.2	6.5 $\pm$ 1.3	9.1 $\pm$ 0.9
		4	5.4 $\pm$ 1.0	5.6 $\pm$ 0.9	7.7 $\pm$ 2.4	5.9 $\pm$ 0.9	5.0 $\pm$ 0.9	8.7 $\pm$ 1.2
		5	6.3 $\pm$ 1.1	6.7 $\pm$ 0.6	7.5 $\pm$ 2.3	6.2 $\pm$ 0.9	5.0 $\pm$ 0.9	8.5 $\pm$ 1.1
	# 4	1	6.1 $\pm$ 0.9	9.1 $\pm$ 1.2	8.5 $\pm$ 0.8	9.2 $\pm$ 2.1	7.7 $\pm$ 2.0	9.3 $\pm$ 1.4
		2	5.9 $\pm$ 0.9	7.5 $\pm$ 0.9	8.2 $\pm$ 1.4	8.7 $\pm$ 1.1	5.8 $\pm$ 1.7	8.2 $\pm$ 1.2
		3	5.3 $\pm$ 0.7	7.1 $\pm$ 1.1	8.1 $\pm$ 1.1	8.4 $\pm$ 1.5	5.4 $\pm$ 1.7	8.9 $\pm$ 1.4
		4	4.8 $\pm$ 0.7	6.7 $\pm$ 1.6	8.0 $\pm$ 1.4	7.3 $\pm$ 1.5	5.7 $\pm$ 1.7	9.9 $\pm$ 1.8
		5	4.6 $\pm$ 0.9	6.9 $\pm$ 1.6	5.6 $\pm$ 1.0	6.9 $\pm$ 1.2	5.4 $\pm$ 1.6	8.9 $\pm$ 2.2
Zentrumsakktivität (in %)	# 2	1	21.8 $\pm$ 4.5	28.9 $\pm$ 6.6	18.3 $\pm$ 3.7	27.9 $\pm$ 5.2	23.9 $\pm$ 7.4	37.1 $\pm$ 11.7
		2	20.9 $\pm$ 6.0	26.8 $\pm$ 6.5	22.6 $\pm$ 5.4	38.4 $\pm$ 7.1	22.3 $\pm$ 8.8	33.5 $\pm$ 12.3
		3	17.6 $\pm$ 6.0	23.7 $\pm$ 4.7	24.5 $\pm$ 4.0	29.8 $\pm$ 5.3	29.6 $\pm$ 10.8	30.1 $\pm$ 7.9
		4	18.3 $\pm$ 6.1	22.9 $\pm$ 4.2	24.8 $\pm$ 5.5	34.5 $\pm$ 8.7	24.6 $\pm$ 11.4	27.1 $\pm$ 9.2
		5	22.2 $\pm$ 5.6	22.0 $\pm$ 3.4	16.9 $\pm$ 3.6	34.5 $\pm$ 5.1	30.5 $\pm$ 9.8	32.2 $\pm$ 6.6
	# 3	1	20.2 $\pm$ 4.0	22.8 $\pm$ 3.7	21.2 $\pm$ 4.1	17.4 $\pm$ 3.7	19.0 $\pm$ 4.8	26.4 $\pm$ 5.7
		2	19.2 $\pm$ 3.7	25.3 $\pm$ 4.6	26.3 $\pm$ 3.7	24.5 $\pm$ 6.3	23.3 $\pm$ 3.3	28.0 $\pm$ 4.0
		3	18.0 $\pm$ 5.6	19.5 $\pm$ 4.4	25.4 $\pm$ 5.5	21.0 $\pm$ 6.9	22.8 $\pm$ 3.9	29.7 $\pm$ 3.5
		4	14.4 $\pm$ 5.8	15.8 $\pm$ 5.3	25.9 $\pm$ 4.5	20.6 $\pm$ 3.5	28.9 $\pm$ 7.0	35.0 $\pm$ 4.0
		5	20.2 $\pm$ 5.3	24.8 $\pm$ 4.6	22.5 $\pm$ 5.4	29.9 $\pm$ 5.9	32.7 $\pm$ 6.0	35.8 $\pm$ 5.5
	# 4	1	25.7 $\pm$ 6.2	30.5 $\pm$ 6.9	30.9 $\pm$ 5.1	23.7 $\pm$ 7.2	44.9 $\pm$ 10.2	45.0 $\pm$ 4.1
		2	24.4 $\pm$ 4.0	27.7 $\pm$ 4.9	25.2 $\pm$ 3.9	23.4 $\pm$ 6.3	39.4 $\pm$ 11.4	41.7 $\pm$ 5.2
		3	25.1 $\pm$ 6.5	31.2 $\pm$ 4.9	22.0 $\pm$ 6.9	17.9 $\pm$ 5.3	41.3 $\pm$ 13.0	38.0 $\pm$ 7.7
		4	22.6 $\pm$ 5.8	33.2 $\pm$ 4.7	24.1 $\pm$ 4.5	20.9 $\pm$ 5.4	26.4 $\pm$ 7.7	39.8 $\pm$ 7.8
		5	19.6 $\pm$ 4.4	31.6 $\pm$ 6.1	34.7 $\pm$ 9.0	20.3 $\pm$ 4.4	27.6 $\pm$ 9.0	48.9 $\pm$ 3.8

Tabelle 33 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) : Modifiziertes OF (Statistik: 3Wege-ANOVA) ♂

Drei-Wege-ANOVA:												
	Test #2				Test #3				Test #4			
	Gesamt-Laufstrecke		Zentrums-exploration		Gesamt-Laufstrecke		Zentrums-exploration		Gesamt-Laufstrecke		Zentrums-exploration	
Faktoren	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
AUFZUCHT	<b>6.897</b>	<b>0.009</b>	<b>7.858</b>	<b>0.006</b>	2.486	0.116	1.861	0.174	<b>13.239</b>	<b>&lt;0.001</b>	1.157	0.283
PHARM	<b>22.377</b>	<b>&lt;0.001</b>	2.216	0.112	1.721	0.181	<b>6.926</b>	<b>0.001</b>	<b>3.055</b>	<b>0.049</b>	<b>13.760</b>	<b>&lt;0.001</b>
ZEIT	1.408	0.232	0.068	0.992	<b>9.708</b>	<b>&lt;0.001</b>	1.447	0.220	1.542	0.191	0.556	0.695
AUFZUCHT x PHARM	<b>3.316</b>	<b>0.047</b>	0.654	0.521	<b>6.332</b>	<b>0.002</b>	1.388	0.252	<b>3.266</b>	<b>0.047</b>	<b>3.161</b>	<b>0.044</b>
AUFZUCHT x ZEIT	0.097	0.983	0.255	0.906	0.053	0.995	0.172	0.952	0.076	0.990	0.440	0.780
PHARM x ZEIT	0.202	0.990	0.317	0.959	0.225	0.986	0.914	0.506	0.295	0.967	0.375	0.933
AUFZUCHT x PHARM x ZEIT	0.153	0.996	0.200	0.991	0.412	0.913	0.264	0.977	0.204	0.990	0.562	0.808
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte												
Faktor AUFZUCHT	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>					<i>q</i>	<i>P</i>		
S vs. ES	<b>3.714</b>	<b>0.009</b>	<b>3.964</b>	<b>0.005</b>					<b>5.146</b>	<b>&lt;0.001</b>		
Faktor PHARM	<i>q</i>	<i>P</i>					<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1	0.500	0.724					2.224	0.116	<b>3.352</b>	<b>0.047</b>	1.341	0.343
SAL vs. MP5	<b>7.932</b>	<b>&lt;0.001</b>					<b>5.244</b>	<b>&lt;0.001</b>	2.535	0.073	<b>5.649</b>	<b>&lt;0.001</b>
MP1 vs. MP5	<b>8.432</b>	<b>&lt;0.001</b>					<b>3.019</b>	<b>0.033</b>	0.818	0.563	<b>6.989</b>	<b>&lt;0.001</b>
Faktor ZEIT				<i>q</i>	<i>P</i>							
1 vs. 2				<b>3.905</b>	<b>0.006</b>							
1 vs. 3				<b>6.426</b>	<b>&lt;0.001</b>							
1 vs. 4				<b>7.590</b>	<b>&lt;0.001</b>							
1 vs. 5				<b>6.973</b>	<b>&lt;0.001</b>							
2 vs. 3				2.521	0.075							
2 vs. 4				3.685	0.045							
2 vs. 5				3.068	0.077							
3 vs. 4				1.164	0.689							
3 vs. 5				0.547	0.699							
4 vs. 5				0.617	0.663							
Post hoc Tukey Test: Innerfaktor-Effekte												
PHARM innerhalb S	<i>q</i>	<i>P</i>		<i>q</i>	<i>P</i>			<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	
SAL vs. MP1	0.825	0.560		<b>3.739</b>	<b>0.008</b>			<b>3.736</b>	<b>0.022</b>	1.281	0.365	
SAL vs. MP5	<b>5.232</b>	<b>&lt;0.001</b>		0.102	0.943			1.060	0.453	<b>4.101</b>	<b>0.010</b>	
MP1 vs. MP5	<b>4.407</b>	<b>0.002</b>		<b>3.841</b>	<b>0.018</b>			2.675	0.059	<b>2.820</b>	<b>0.046</b>	
PHARM innerhalb ES	<i>q</i>	<i>P</i>		<i>q</i>	<i>P</i>			<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	
SAL vs. MP1	1.532	0.279		0.273	0.847			1.005	0.477	3.177	0.025	
SAL vs. MP5	<b>5.985</b>	<b>&lt;0.001</b>		<b>2.983</b>	<b>0.035</b>			2.524	0.175	<b>3.887</b>	<b>0.006</b>	
MP1 vs. MP5	<b>7.517</b>	<b>&lt;0.001</b>		3.257	0.055			1.519	0.283	<b>7.064</b>	<b>&lt;0.001</b>	
AUFZUCHT innerhalb	<i>q</i>	<i>P</i>		<i>q</i>	<i>P</i>			<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	
SAL	<b>2.879</b>	<b>0.048</b>		1.596	0.259			<b>3.393</b>	<b>0.016</b>	2.436	0.085	
MP1	0.322	0.820		2.416	0.088			0.663	0.639	2.022	0.153	
MP5	<b>3.432</b>	<b>0.015</b>		<b>4.681</b>	<b>&lt;0.001</b>			<b>4.857</b>	<b>&lt;0.001</b>	2.222	0.116	

### A.3 Tabellenanhang: Metabolische Aktivität (2-FDG) ♂

Tabelle 34 : Körpergewicht 2-FDG-Experiment (Mittelwerte  $\pm$  SEM, Statistik: t-test) ♂

	S	ES	t-test	
<b>Körpergewicht (in g)</b>	55.3 $\pm$ 1.9	54.3 $\pm$ 1.3	<b>Parameter:</b>	<b>P</b>
			<b>Körpergewicht P 22</b>	0.665

Tabelle 35 : Körpergewicht 2-FDG-Experiment (Mittelwerte  $\pm$  SEM, Statistik: 2Wege-ANOVA) ♂

	SAL-S	SAL-ES	MP1-S	MP1-ES	MP5-S	MP5-ES
<b>Körpergewicht (in g)</b>	56.3 $\pm$ 3.3	55.4 $\pm$ 2.6	55.9 $\pm$ 2.3	53.1 $\pm$ 2.4	53.8 $\pm$ 4.5	54.5 $\pm$ 2.0

Zwei-Wege-ANOVA:	PND 22	
	Körpergewicht	
Faktoren	F	P
AUFZUCHT	0.2	0.684
PHARM	0.2	0.831
AUFZUCHT x PHARM	0.2	0.837

Tabelle 36 : Metabolische Aktivität (2-FDG): Mittlere photometrische Dichte (Mittelwerte  $\pm$  SEM) ♂

Gehirn-gebiet	SAL-S	SAL-ES	MP1-S	MP1-ES	MP5-S	MP5-ES
vOFC	1.58 $\pm$ 0.03	1.21 $\pm$ 0.04	1.74 $\pm$ 0.03	1.28 $\pm$ 0.03	1.75 $\pm$ 0.04	1.30 $\pm$ 0.04
IOFC	1.51 $\pm$ 0.04	1.15 $\pm$ 0.04	1.68 $\pm$ 0.02	1.23 $\pm$ 0.02	1.68 $\pm$ 0.04	1.24 $\pm$ 0.04
Acid	1.43 $\pm$ 0.02	1.23 $\pm$ 0.03	1.54 $\pm$ 0.02	1.36 $\pm$ 0.02	1.56 $\pm$ 0.06	1.25 $\pm$ 0.06
PL	1.38 $\pm$ 0.02	1.17 $\pm$ 0.02	1.42 $\pm$ 0.02	1.29 $\pm$ 0.02	1.44 $\pm$ 0.04	1.18 $\pm$ 0.04
IL	1.20 $\pm$ 0.05	1.03 $\pm$ 0.02	1.20 $\pm$ 0.01	1.16 $\pm$ 0.01	1.25 $\pm$ 0.05	1.05 $\pm$ 0.05
Nacc	1.30 $\pm$ 0.03	1.07 $\pm$ 0.04	1.33 $\pm$ 0.03	1.16 $\pm$ 0.03	1.41 $\pm$ 0.04	1.09 $\pm$ 0.04
Cpu	1.30 $\pm$ 0.03	1.06 $\pm$ 0.04	1.35 $\pm$ 0.02	1.12 $\pm$ 0.02	1.41 $\pm$ 0.02	1.09 $\pm$ 0.02
DG	1.34 $\pm$ 0.07	1.21 $\pm$ 0.06	1.43 $\pm$ 0.03	1.30 $\pm$ 0.03	1.41 $\pm$ 0.03	1.28 $\pm$ 0.03
CA1	1.23 $\pm$ 0.06	1.12 $\pm$ 0.05	1.26 $\pm$ 0.03	1.22 $\pm$ 0.03	1.23 $\pm$ 0.03	1.22 $\pm$ 0.03
CA3	1.16 $\pm$ 0.03	1.13 $\pm$ 0.05	1.23 $\pm$ 0.03	1.20 $\pm$ 0.03	1.24 $\pm$ 0.04	1.20 $\pm$ 0.04
BLA	1.18 $\pm$ 0.04	0.98 $\pm$ 0.05	1.24 $\pm$ 0.05	1.06 $\pm$ 0.05	1.33 $\pm$ 0.05	1.07 $\pm$ 0.05
LA	1.13 $\pm$ 0.05	0.96 $\pm$ 0.04	1.18 $\pm$ 0.04	1.02 $\pm$ 0.04	1.23 $\pm$ 0.05	1.04 $\pm$ 0.05
TH	1.38 $\pm$ 0.08	1.17 $\pm$ 0.04	1.46 $\pm$ 0.03	1.35 $\pm$ 0.03	1.67 $\pm$ 0.05	1.37 $\pm$ 0.05
SN	1.33 $\pm$ 0.03	0.97 $\pm$ 0.03	1.41 $\pm$ 0.03	1.09 $\pm$ 0.03	1.76 $\pm$ 0.06	1.12 $\pm$ 0.06
VTA	1.35 $\pm$ 0.02	1.08 $\pm$ 0.01	1.41 $\pm$ 0.01	1.25 $\pm$ 0.01	1.53 $\pm$ 0.05	1.26 $\pm$ 0.05
MM <sup>+</sup>	1.78 $\pm$ 0.08	1.21 $\pm$ 0.03	1.98 $\pm$ 0.02	1.23 $\pm$ 0.02	1.87 $\pm$ 0.10	1.34 $\pm$ 0.10
MGV	1.58 $\pm$ 0.04	1.20 $\pm$ 0.02	1.66 $\pm$ 0.04	1.32 $\pm$ 0.04	1.79 $\pm$ 0.07	1.35 $\pm$ 0.07
SSC	1.43 $\pm$ 0.05	1.31 $\pm$ 0.06	1.49 $\pm$ 0.05	1.37 $\pm$ 0.05	1.63 $\pm$ 0.03	1.35 $\pm$ 0.03
Aud	1.59 $\pm$ 0.04	1.37 $\pm$ 0.09	1.63 $\pm$ 0.05	1.39 $\pm$ 0.05	1.73 $\pm$ 0.06	1.36 $\pm$ 0.06

Tabelle 37 : Metabolische Aktivität (vOFC, IOFC, ACd, PL, IL): Mittlere photometrische Dichte (Statistik: 3Wege ANOVA) ♂

Drei-Wege-ANOVA:										
Faktoren	vOFC		IOFC		ACd		PL		IL	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
AUFZUCHT	<b>189.492</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>206.988</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>98.265</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>107.729</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>26.967</b>	<b>&lt;0.001</b>
PHARM	<b>6.520</b>	<b>0.003</b>	<b>8.339</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>8.913</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>6.239</b>	<b>0.004</b>	2.962	0.061
HEMI	0.051	0.823	0.266	0.609	0.055	0.815	0.033	0.857	0.065	0.801
AUFZUCHT x PHARM	0.879	0.422	1.134	0.330	<b>3.376</b>	<b>0.042</b>	<b>3.911</b>	<b>0.027</b>	<b>3.200</b>	<b>0.050</b>
AUFZUCHT x HEMI	0.099	0.754	0.104	0.748	0.017	0.896	0.053	0.819	0.059	0.809
PHARM x HEMI	0.001	0.999	0.017	0.983	0.004	0.996	0.098	0.907	0.005	0.995
AUFZUCHT x PHARM x HEMI	0.052	0.949	0.024	0.977	0.123	0.885	0.095	0.910	0.059	0.943
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte										
Faktor AUFZUCHT	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>
S vs. ES	<b>19.468</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>20.346</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>14.019</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>14.678</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>7.344</b>	<b>&lt;0.001</b>
Faktor PHARM	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1	<b>4.072</b>	<b>0.006</b>	<b>4.849</b>	<b>0.001</b>	<b>5.907</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>4.983</b>	<b>0.003</b>	3.404	0.051
SAL vs. MP5	<b>4.705</b>	<b>0.005</b>	<b>5.142</b>	<b>0.002</b>	<b>3.706</b>	<b>0.012</b>	2.189	0.128	2.147	0.136
MP1 vs. MP5	0.633	0.656	0.293	0.837	2.202	0.126	2.794	0.054	1.257	0.379
Faktor HEMI										
li vs. re										
Post hoc Tukey Test: Innerfaktor-Effekte										
PHARM innerhalb S					<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1					<b>3.998</b>	<b>0.007</b>	1.890	0.188	0.764	0.592
SAL vs. MP5					<b>4.776</b>	<b>0.004</b>	2.697	0.148	2.362	0.227
MP1 vs. MP5					0.778	0.585	0.807	0.571	1.599	0.264
PHARM innerhalb ES					<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1					<b>4.357</b>	<b>0.010</b>	<b>5.157</b>	<b>0.002</b>	<b>4.050</b>	<b>0.017</b>
SAL vs. MP5					0.465	0.744	0.399	0.779	0.674	0.636
MP1 vs. MP5					<b>3.892</b>	<b>0.008</b>	<b>4.758</b>	<b>0.002</b>	<b>3.376</b>	<b>0.021</b>
AUFZUCHT innerhalb					<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>
SAL					<b>6.777</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>8.797</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>4.773</b>	<b>0.002</b>
MP1					<b>6.418</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>5.531</b>	<b>&lt;0.001</b>	1.486	0.299
MP5					<b>11.087</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>11.096</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>6.461</b>	<b>&lt;0.001</b>

Tabelle 38: Metabolische Aktivität (Nacc, Cpu, DG, CA1, CA3): Mittlere photometrische Dichte (Statistik: 3Wege ANOVA) ♂

Drei-Wege-ANOVA:										
Faktoren	Nacc		Cpu		DG		CA1		CA3	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
AUFZUCHT	<b>164.244</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>327.320</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>20.193</b>	<b>&lt;0.001</b>	3.589	0.064	1.771	0.190
PHARM	<b>5.680</b>	<b>0.006</b>	<b>7.630</b>	<b>0.001</b>	<b>3.824</b>	<b>0.029</b>	1.822	0.173	<b>3.439</b>	<b>0.040</b>
HEMI	0.006	0.939	0.053	0.818	0.131	0.719	0.087	0.770	0.007	0.936
AUFZUCHT x PHARM	<b>6.126</b>	<b>0.004</b>	<b>3.278</b>	<b>0.046</b>	0.000	1.000	0.865	0.427	0.032	0.969
AUFZUCHT x HEMI	0.432	0.514	0.439	0.511	0.261	0.612	0.006	0.940	0.184	0.670
PHARM x HEMI	0.021	0.979	0.030	0.970	0.026	0.974	0.051	0.951	0.055	0.947
AUFZUCHT x PHARM x HEMI	0.040	0.961	0.091	0.913	0.022	0.978	0.039	0.961	0.025	0.975
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte										
Faktor AUFZUCHT	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>				
S vs. ES	<b>18.124</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>25.586</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>6.355</b>	<b>&lt;0.001</b>				
Faktor PHARM	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>			<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1	<b>3.909</b>	<b>0.008</b>	<b>4.194</b>	<b>0.005</b>	<b>3.759</b>	<b>0.028</b>			<b>3.149</b>	<b>0.031</b>
SAL vs. MP5	<b>4.317</b>	<b>0.010</b>	<b>5.211</b>	<b>0.002</b>	2.815	0.052			3.271	0.064
MP1 vs. MP5	0.407	0.775	1.018	0.475	0.944	0.508			0.122	0.932
Faktor HEMI										
li vs. re										
Post hoc Tukey Test: Innerfaktor-Effekte										
PHARM innerhalb S	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>						
SAL vs. MP1	1.515	0.290	<b>2.936</b>	<b>0.043</b>						
SAL vs. MP5	<b>5.259</b>	<b>0.002</b>	<b>5.888</b>	<b>&lt;0.001</b>						
MP1 vs. MP5	<b>3.745</b>	<b>0.011</b>	<b>2.951</b>	<b>0.042</b>						
PHARM innerhalb ES	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>						
SAL vs. MP1	<b>4.014</b>	<b>0.018</b>	<b>2.994</b>	0.097						
SAL vs. MP5	0.845	0.553	1.482	0.300						
MP1 vs. MP5	<b>3.168</b>	<b>0.030</b>	1.512	0.290						
AUFZUCHT innerhalb	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>						
SAL	<b>9.826</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>13.323</b>	<b>&lt;0.001</b>						
MP1	<b>7.327</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>13.265</b>	<b>&lt;0.001</b>						
MP5	<b>14.240</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>17.728</b>	<b>&lt;0.001</b>						



Tabelle 39: Metabolische Aktivität (BLA, LA, TH, SN, VTA): Mittlere photometrische Dichte (Statistik: 3Wege ANOVA) ♂

Drei-Wege-ANOVA:										
Faktoren	BLA		LA		TH		SN		VTA	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
AUFZUCHT	<b>55.444</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>48.189</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>44.324</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>257.049</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>187.055</b>	<b>&lt;0.001</b>
PHARM	<b>6.360</b>	<b>0.004</b>	<b>4.680</b>	<b>0.014</b>	<b>20.189</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>39.210</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>40.136</b>	<b>&lt;0.001</b>
HEMI	0.045	0.832	0.135	0.715	0.000	0.997	0.381	0.540	0.000	0.985
AUFZUCHT x PHARM	0.933	0.400	0.183	0.833	3.054	0.056	<b>13.406</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>3.811</b>	<b>0.029</b>
AUFZUCHT x HEMI	0.001	0.979	0.126	0.724	0.000	0.994	0.000	0.988	0.051	0.822
PHARM x HEMI	0.085	0.919	0.053	0.949	0.005	0.995	0.062	0.940	0.053	0.948
AUFZUCHT x PHARM x HEMI	0.071	0.932	0.020	0.980	0.001	0.999	0.038	0.963	0.112	0.894
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte										
Faktor AUFZUCHT	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>
S vs. ES	<b>10.530</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>9.817</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>9.415</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>22.674</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>19.342</b>	<b>&lt;0.001</b>
Faktor PHARM	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1	<b>2.867</b>	<b>0.048</b>	2.492	0.085	<b>4.917</b>	<b>0.001</b>	<b>4.290</b>	<b>0.004</b>	<b>7.934</b>	<b>&lt;0.001</b>
SAL vs. MP5	<b>5.027</b>	<b>0.003</b>	<b>4.309</b>	<b>0.010</b>	<b>8.973</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>12.334</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>12.523</b>	<b>&lt;0.001</b>
MP1 vs. MP5	2.160	0.133	1.817	0.205	<b>4.056</b>	<b>0.006</b>	<b>8.045</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>4.589</b>	<b>0.002</b>
Faktor HEMI										
li vs. re										
Post hoc Tukey Test: Innerfaktor-Effekte										
PHARM innerhalb S							<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1							2.386	0.098	<b>3.259</b>	<b>0.026</b>
SAL vs. MP5							<b>12.847</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>8.932</b>	<b>&lt;0.001</b>
MP1 vs. MP5							<b>10.461</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>5.673</b>	<b>&lt;0.001</b>
PHARM innerhalb ES							<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1							<b>3.681</b>	<b>0.012</b>	<b>7.961</b>	<b>&lt;0.001</b>
SAL vs. MP5							<b>4.596</b>	<b>0.006</b>	<b>8.778</b>	<b>&lt;0.001</b>
MP1 vs. MP5							0.916	0.521	0.816	0.567
AUFZUCHT innerhalb							<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>
SAL							<b>10.772</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>12.683</b>	<b>&lt;0.001</b>
MP1							<b>9.477</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>7.980</b>	<b>&lt;0.001</b>
MP5							<b>19.023</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>12.837</b>	<b>&lt;0.001</b>



Tabelle 40 : Metabolische Aktivität (MM, MG, Aud, SSC): Mittlere photometrische Dichte (Statistik: 3Wege ANOVA (\* 2Wege ANOVA) ♂

Drei-Wege-ANOVA (* Zwei-Wege-ANOVA:)								
Faktoren	MM*		MGV		Aud		SSC	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
AUFZUCHT	<b>113.887</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>174.915</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>79.834</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>47.830</b>	<b>&lt;0.001</b>
PHARM	1.676	0.208	<b>12.785</b>	<b>&lt;0.001</b>	1.550	0.223	<b>6.949</b>	<b>0.002</b>
HEMI			0.071	0.791	0.152	0.698	0.006	0.938
AUFZUCHT x PHARM	1.471	0.250	0.852	0.433	2.006	0.146	<b>4.398</b>	<b>0.018</b>
AUFZUCHT x HEMI			0.024	0.878	0.003	0.959	0.123	0.728
PHARM x HEMI			0.021	0.980	0.064	0.938	0.112	0.894
AUFZUCHT x PHARM x HEMI			0.087	0.917	0.008	0.992	0.071	0.931
<b>Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte</b>								
Faktor AUFZUCHT	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>
S vs. ES	<b>15.092</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>18.704</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>12.636</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>9.781</b>	<b>&lt;0.001</b>
Faktor PHARM			<i>q</i>	<i>P</i>			<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1			<b>4.091</b>	<b>0.006</b>			2.552	0.077
SAL vs. MP5			<b>7.125</b>	<b>&lt;0.001</b>			<b>5.271</b>	<b>0.002</b>
MP1 vs. MP5			<b>3.034</b>	<b>0.037</b>			2.719	0.061
Faktor HEMI								
li vs. re								
<b>Post hoc Tukey Test: Innerfaktor-Effekte</b>								
PHARM innerhalb S							<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1							1.754	0.221
SAL vs. MP5							<b>6.270</b>	<b>&lt;0.001</b>
MP1 vs. MP5							<b>4.516</b>	<b>0.003</b>
PHARM innerhalb ES							<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1							1.855	0.396
SAL vs. MP5							1.185	0.407
MP1 vs. MP5							0.671	0.638
AUFZUCHT innerhalb							<i>q</i>	<i>P</i>
SAL							<b>3.985</b>	<b>0.007</b>
MP1							<b>3.885</b>	<b>0.009</b>
MP5							<b>9.071</b>	<b>&lt;0.001</b>

## A.4 Tabellenanhang: Histologische Untersuchungen (Golgi-Cox-Färbung) ♂

### A.4.1 Gesamtzelle ♂

Zelle gesamt		SAL-S	SAL-ES	MP1-S	MP1-ES	MP5-S	MP5-ES
apikal	Spinefrequenz	8.7 ± 0.2	9.7 ± 0.1	9.0 ± 0.2	8.7 ± 0.1	9.5 ± 0.3	10.1 ± 0.3
	Dendritenlänge	1414.8 ± 81.4	1671.5 ± 112.6	2021.5 ± 124.1	2047.9 ± 108.6	2003.8 ± 107.1	2045.7 ± 63.2
	Zellkomplexität	57.8 ± 3.5	78.6 ± 12.1	99.3 ± 11.9	101.6 ± 13.9	59.8 ± 4.1	78.6 ± 8.1

Zelle gesamt		SAL-S	SAL-ES	MP1-S	MP1-ES	MP5-S	MP5-ES
basal	Spinefrequenz	7.5 ± 0.4	9.2 ± 0.2	8.1 ± 0.1	8.8 ± 0.2	8.4 ± 0.2	9.1 ± 0.2
	Dendritenlänge	642.2 ± 40.8	681.0 ± 31.8	823.8 ± 31.7	853.6 ± 56.7	681.0 ± 27.2	721.8 ± 45.2
	Zellkomplexität	27.9 ± 1.5	43.1 ± 4.4	46.2 ± 5.5	55.8 ± 4.7	26.9 ± 3.0	31.6 ± 6.2

### A.4.2 Anzahl der Schnittpunkte mit Einzelhollsphären ♂

Shollsphärenabstand vom Zellkörper		SAL-S	SAL-ES	MP1-S	MP1-ES	MP5-S	MP5-ES
apikal	10	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.1
	30	2.0 ± 0.2	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.2	1.4 ± 0.2	2.6 ± 0.4	2.4 ± 0.2
	50	4.5 ± 0.6	2.8 ± 0.5	2.9 ± 0.5	3.3 ± 0.6	4.9 ± 0.7	5.1 ± 0.6
	70	6.5 ± 0.7	4.3 ± 0.8	4.6 ± 0.7	4.7 ± 0.6	7.0 ± 0.6	7.0 ± 0.7
	90	6.9 ± 0.6	5.3 ± 0.5	5.6 ± 0.4	4.9 ± 0.6	7.6 ± 0.4	8.5 ± 0.5
	110	6.6 ± 0.5	5.5 ± 0.3	6.2 ± 0.4	5.8 ± 0.5	7.2 ± 0.4	8.2 ± 0.6
	130	5.4 ± 0.3	5.8 ± 0.4	6.4 ± 0.7	6.1 ± 0.5	6.4 ± 0.5	7.7 ± 0.4
	150	4.3 ± 0.3	5.8 ± 0.6	6.0 ± 0.6	5.9 ± 0.5	5.7 ± 0.3	6.4 ± 0.3
	170	3.7 ± 0.4	5.8 ± 0.7	6.4 ± 0.7	5.5 ± 0.5	4.7 ± 0.5	5.9 ± 0.4
	190	2.7 ± 0.4	5.4 ± 0.8	6.3 ± 0.6	5.1 ± 0.7	3.9 ± 0.6	5.7 ± 0.5
	210	1.8 ± 0.4	4.7 ± 0.8	5.5 ± 0.6	4.9 ± 0.9	3.4 ± 0.5	4.4 ± 0.6
	230	1.4 ± 0.6	4.2 ± 0.9	4.6 ± 0.8	4.9 ± 1.2	3.3 ± 0.6	4.1 ± 0.7
250	1.1 ± 0.6	3.2 ± 1.0	4.5 ± 0.9	4.8 ± 1.1	3.3 ± 0.7	3.1 ± 0.9	

Shollsphärenabstand vom Zellkörper		SAL-S	SAL-ES	MP1-S	MP1-ES	MP5-S	MP5-ES
basal	10	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.1
	30	4.2 ± 0.4	3.7 ± 0.3	2.2 ± 0.4	2.4 ± 0.3	3.0 ± 0.3	3.1 ± 0.3
	50	5.5 ± 0.3	5.7 ± 0.5	3.6 ± 0.3	4.0 ± 0.4	5.2 ± 0.5	4.7 ± 0.3
	70	5.4 ± 0.5	6.7 ± 0.4	4.7 ± 0.4	4.7 ± 0.5	5.6 ± 0.8	5.0 ± 0.4
	90	4.3 ± 0.5	6.7 ± 0.4	4.6 ± 0.2	3.9 ± 0.4	4.9 ± 0.6	4.6 ± 0.4
	110	3.0 ± 0.4	6.0 ± 0.5	4.4 ± 0.5	3.8 ± 0.6	3.9 ± 0.4	4.0 ± 1.0
	130	1.3 ± 0.3	4.8 ± 0.8	4.3 ± 0.8	3.4 ± 0.8	2.5 ± 0.4	2.9 ± 1.0
	150	0.8 ± 0.3	4.3 ± 1.1	3.5 ± 0.8	2.9 ± 1.0	1.1 ± 0.2	2.1 ± 1.0

## Anhang B (Daten Weibchen)

In diesem Tabellenanhang werden zusätzlich erhobene Daten (Open Field - Experimente mit weiblichen Tieren) in tabellarischer und graphischer Form dargestellt. Die Durchführung der Experimente (zeitlicher Ablauf und experimentelle Gruppen) erfolgte wie bei den männlichen Tieren (siehe Abschnitt 3). Aufgrund des zu großen Umfangs der erhobenen Daten wurde im Rahmen der vorliegenden Dissertation auf eine Diskussion der Ergebnisse verzichtet.

### B.1 Ergebnisse der Open Field Experimente mit weiblichen Tieren (♀)

#### B.1.1 Untersuchungen zu Effekten des frühkindlichen Trennungstresses : OF-Test #1 (PND 22) ♀

##### B.1.1.1 Standard - Open Field (ohne Ton-Stimulation) ♀

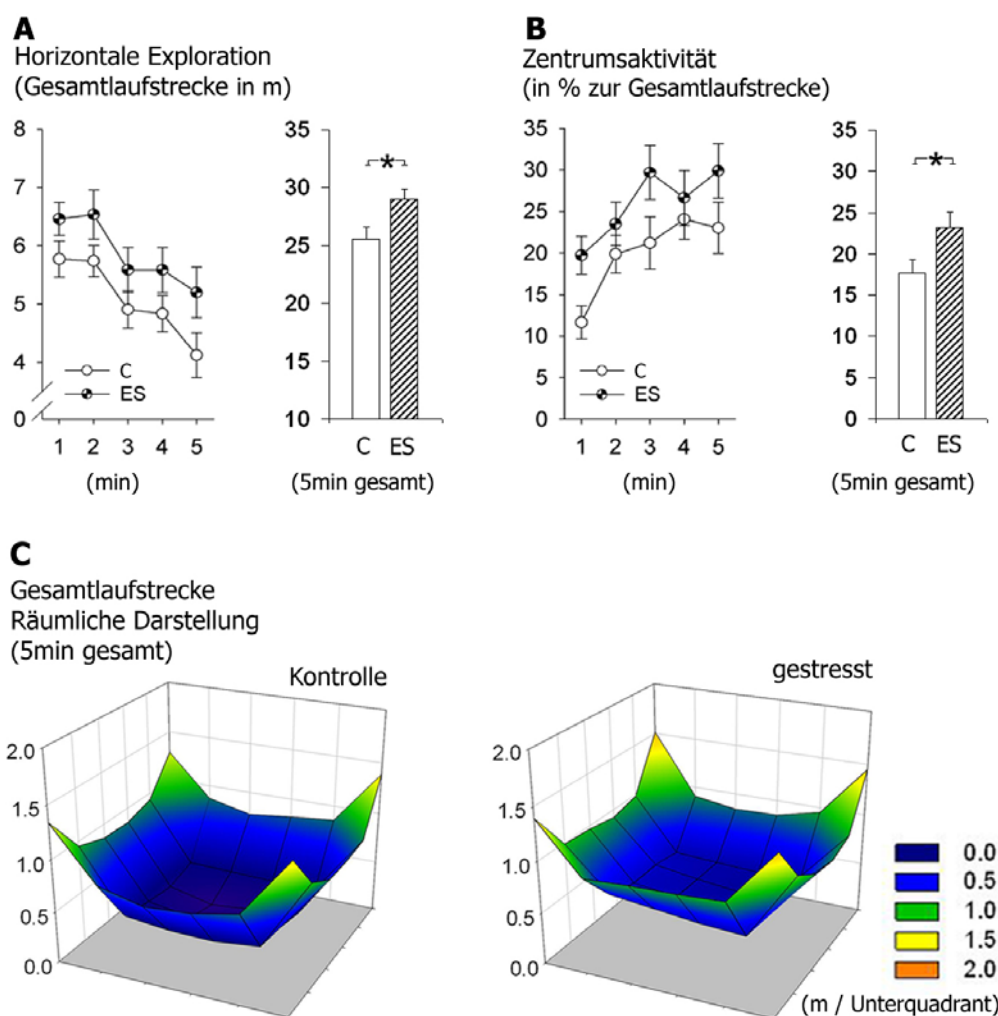


Abb. 56: Open Field-Test #1(PND 22) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I ♀) Effekte der Aufzuchtbedingungen: (A) Laufstrecke (B) Zentrums-Aktivität (Mittelwerte  $\pm$  Std.F, \*  $p < 0.05$ , t-Test). (C) Räumliche Verteilung der Laufaktivität in der OF-Arena: Die mittlere Laufaktivität je Unterquadrant (z-Achse) wurde über dem entsprechenden Gitterpunkt des zweidimensionalen Messpunkt-Gitters aufgetragen (x/y Achsen). Das OF wurde dazu in 6x6 Unterquadranten unterteilt, die jeweils einen Gitterpunkt ergeben.

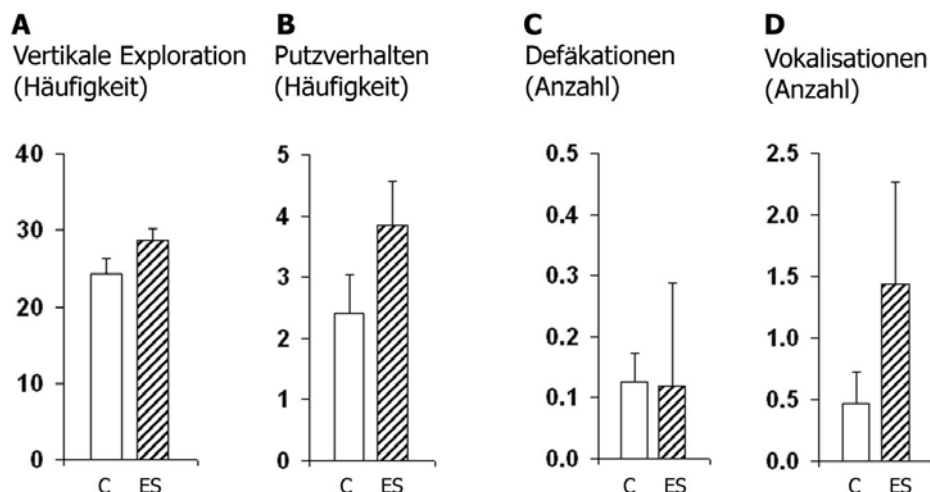


Abb. 57: Open Field-Test #1(PND 22) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II ♀)  
Effekte der Aufzuchtbedingungen: (A) Vertikale Exploration, (B) Putzverhalten, (C) Defäkationen (D) Vokalisationen

- *Frühkindlicher Stress führt im Test im Standard-OF am PND 22 wie bei den männlichen Tieren zu Hyperaktivität, erhöhter Zentrumsaktivität*
- *Die Parameter vertikale Exploration, Putzverhalten und Defäkation unterschieden sich hingegen im Gegensatz zu den Männchen nicht signifikant zwischen beiden Gruppen.*
- *Die Anzahl an Vokalisationen unterschied sich nicht zwischen gestressten und ungestressten Weibchen.*

### B.1.1.2 Modifiziertes Open Field (mit Ton-Stimulation) ♀

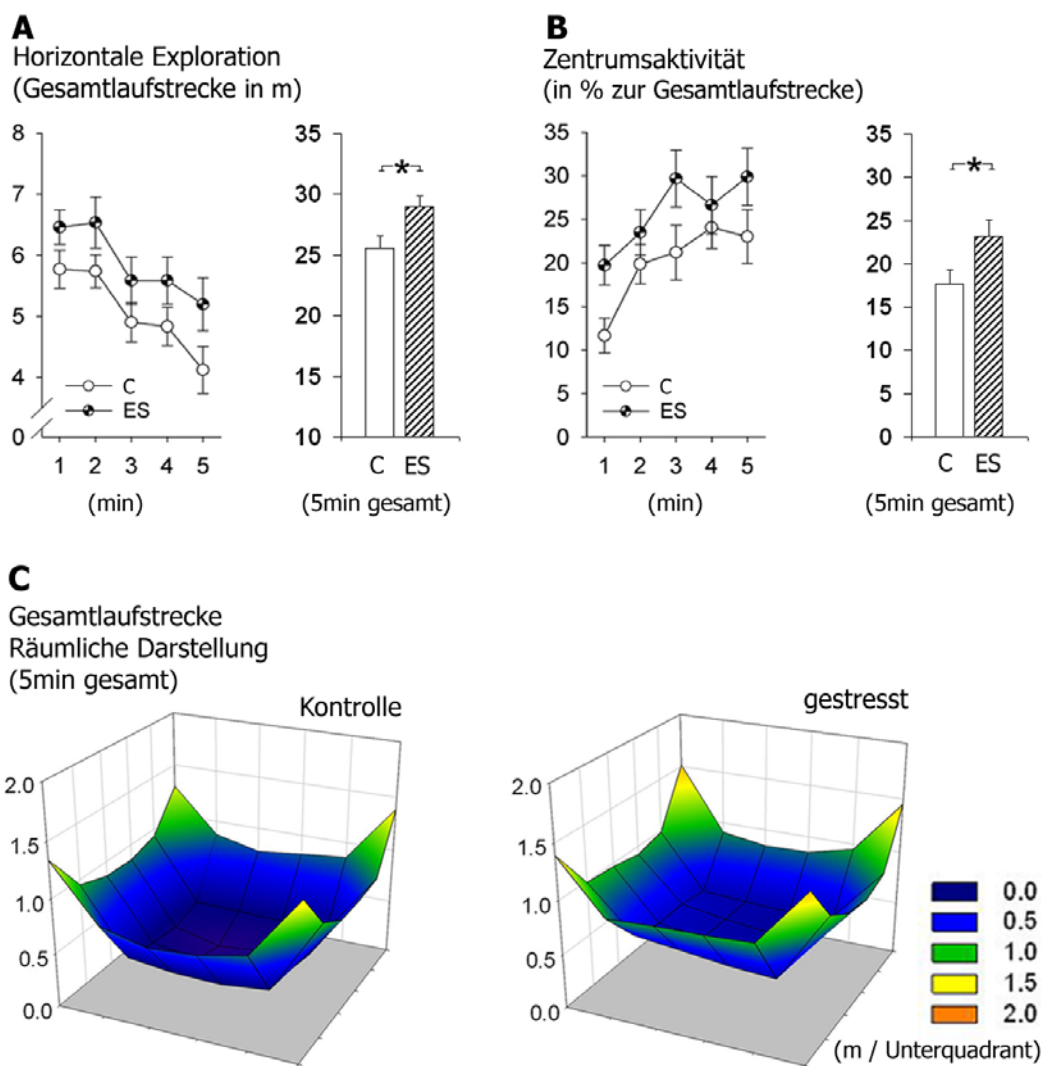


Abb. 58: Open Field-Test #1(PND 22) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I ♀)  
Effekte des frühkindlichen Stresses auf (A) Laufstrecke, (B) Zentrums-Aktivität, (Mittelwerte  $\pm$  Std.F, Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test)  
(C) Räumliche Verteilung der Laufaktivität in der OF-Arena

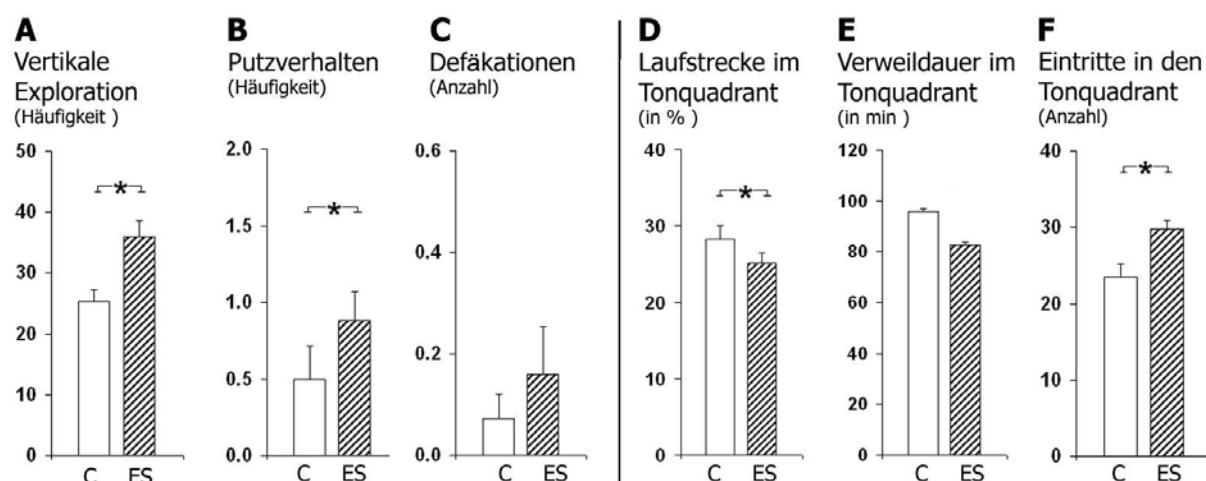


Abb. 59: Open Field-Test #1 (PND 22) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II + Tonquadrant-Aktivität ♀)  
 Effekte des frühkindlichen Stresses auf (A) Vertikale Exploration, (B) Putzverhalten, (C) Defäkationen (D) Laufstrecke (E) Verweildauer im und (F) Eintritte in den Tonquadrant (Mittelwerte  $\pm$  Std.F, \*  $p < 0.05$ , t-Test).

- Auch im modifizierten OF am PND 22 wurde bei den frühkindlich gestressten Weibchen hyperaktives Verhalten festgestellt. Im Gegensatz zu den Männchen und den Weibchen im Standard-OF war keine erhöhte Zentrumsaktivität nachweisbar.
- Wie die frühkindlich gestressten Männchen zeigen auch die Weibchen vermehrte vertikale Explorationsraten und häufigeres Putzverhalten im modifizierten OF, jedoch keine signifikant erhöhten Defäkationsraten.
- Frühkindlich gestresste Weibchen zeigten signifikant geringere Laufstrecken und eine tendenziell verringerte Verweildauer im Tonquadrant, also eine verminderte Reaktivität auf den angebotenen Ton. Die häufigeren Eintritte sind durch die erhöhte Gesamtlaufstrecke erklärbar (ungerichtete Bewegung im OF).



## B.1.2 Untersuchungen zur akuten MP-Wirkung: OF-Test #2 (PND 22) ♀

### B.1.2.1 Standard - Open Field (ohne Ton-Stimulation) ♀

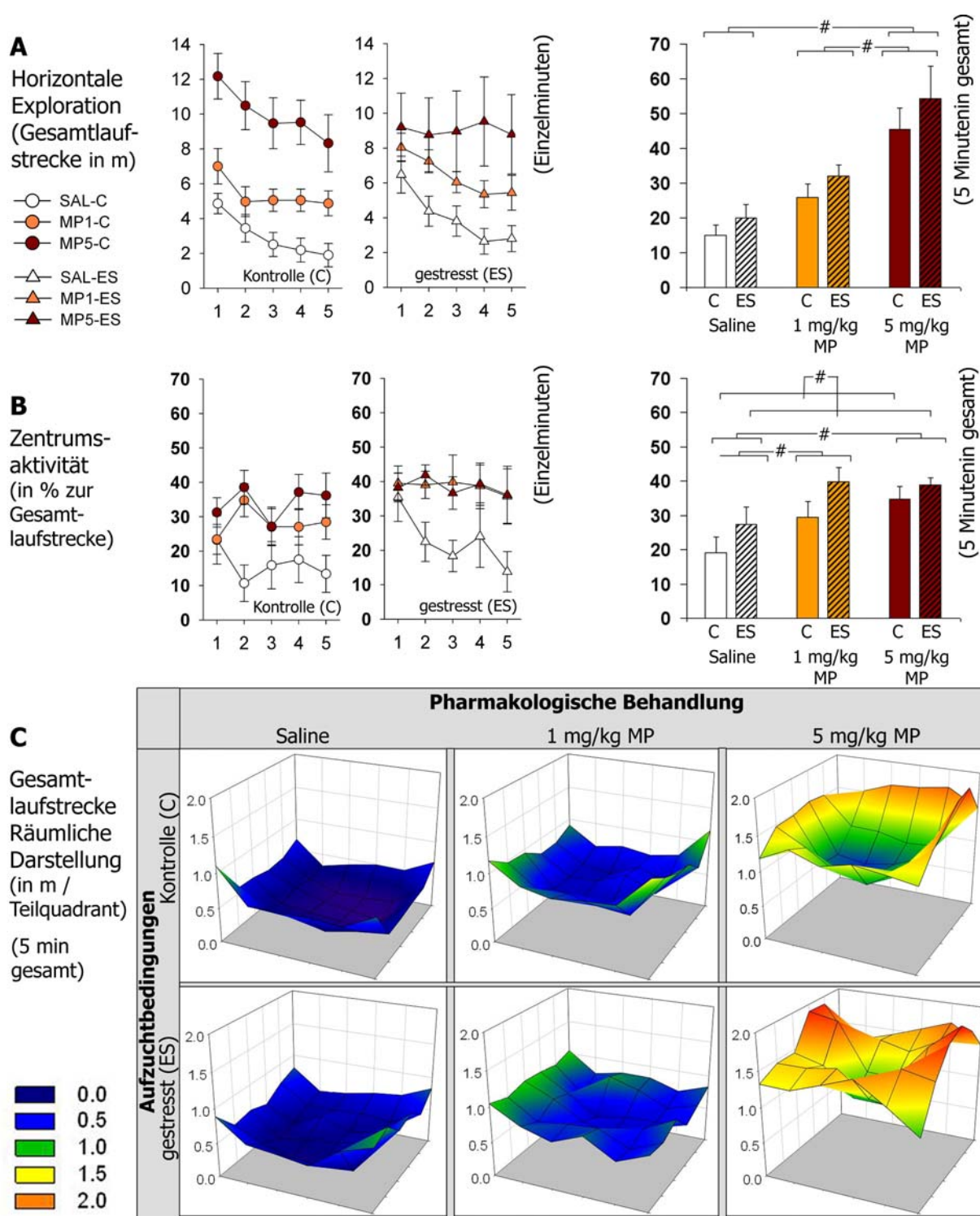


Abb. 60: Open Field-Test #2 (PND 22) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I ♀)  
Effekte der akuten MP-Behandlung auf (A) Laufstrecke, (B) Zentrums-Aktivität, (Mittelwerte  $\pm$  Std.F,  
Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test)  
(C) Räumliche Verteilung der Laufaktivität in der OF-Arena

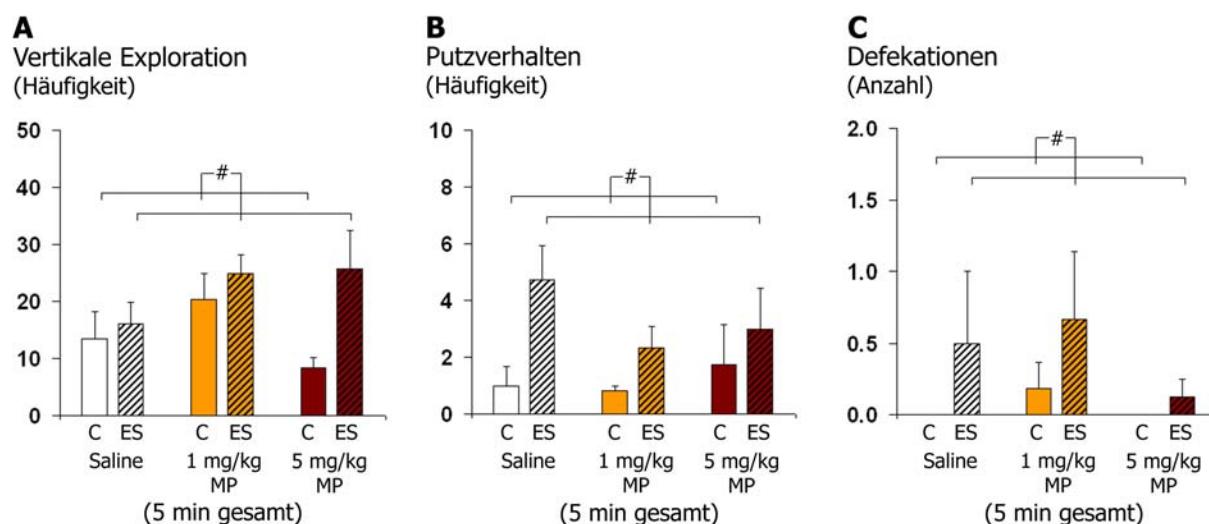


Abb. 61: Open Field-Test #2 (PND 22) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II ♀)  
 Effekte der akuten MP-Behandlung auf (A) Vertikale Exploration, (B) Putzverhalten, (C) Defäkationen (Mittelwerte  $\pm$  Std.F;  
 Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte, Post hoc Tukey-Test)

- *Unabhängig von frühkindlicher Stresserfahrung zeigen mit 1 und 5 mg/kg MP behandelte juvenile Weibchen dosisabhängige Steigerungen der Laufaktivität und Zentrumsexploration. Eine Verminderung der horizontalen Exploration durch die niedrige MP-Dosis wie bei den Männchen zeigt sich bei den Weibchen damit nicht.*
- *Frühkindlich getresste Weibchen zeigen unabhängig von der pharmakologischen Behandlung höhere vertikale Explorationsraten, häufigeres Putzverhalten und höhere Defäkationsraten als ungestresste Weibchen.*



### B.1.2.2 Modifiziertes Open Field (mit Ton-Stimulation) ♀

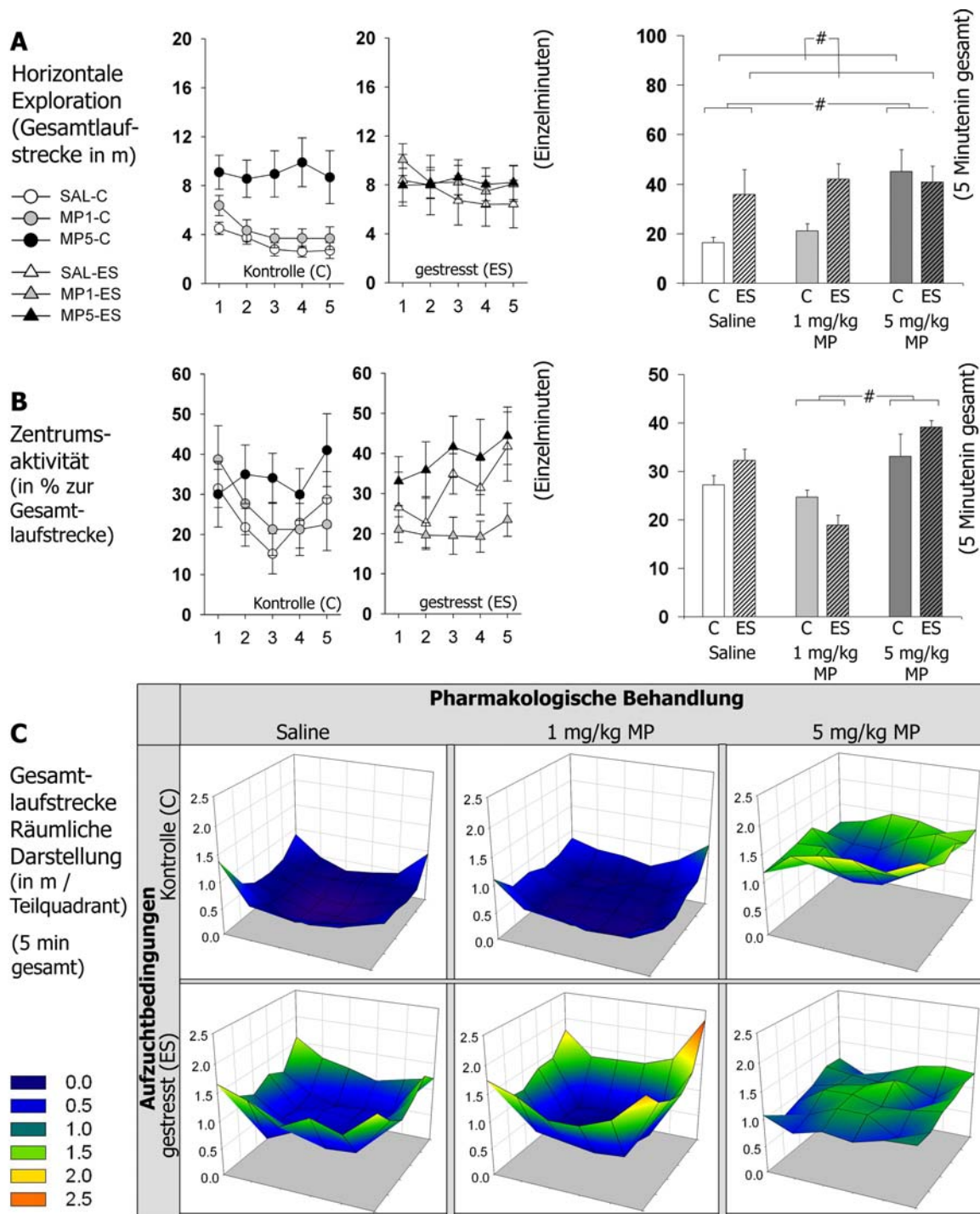


Abb. 62: Open Field-Test #2 (PND 22) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I ♀)  
Effekte der akuten MP-Behandlung auf (A) Laufstrecke, (B) Zentrums-Aktivität  
(Mittelwerte ± Std.F, Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test) (C) Räumliche Verteilung der Laufaktivität in der OF-Arena



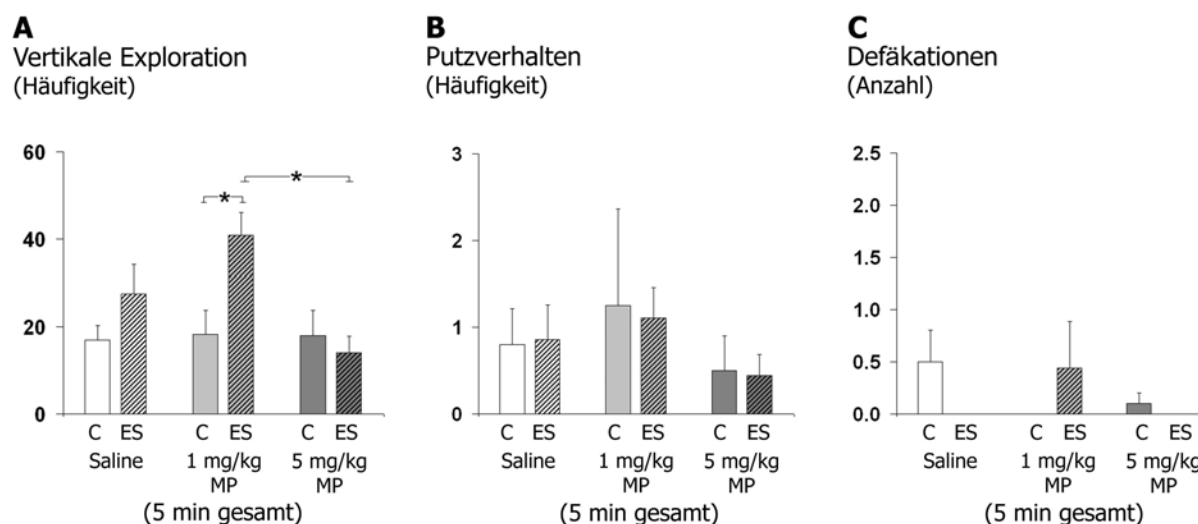


Abb. 63: Open Field-Test #2 (PND 22) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II ♀). Effekte der akuten MP-Behandlung auf (A) Vertikale Exploration, (B) Putzverhalten, (C) Defäkationen (Mittelwerte  $\pm$  Std.F; Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte, bzw. \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey test)

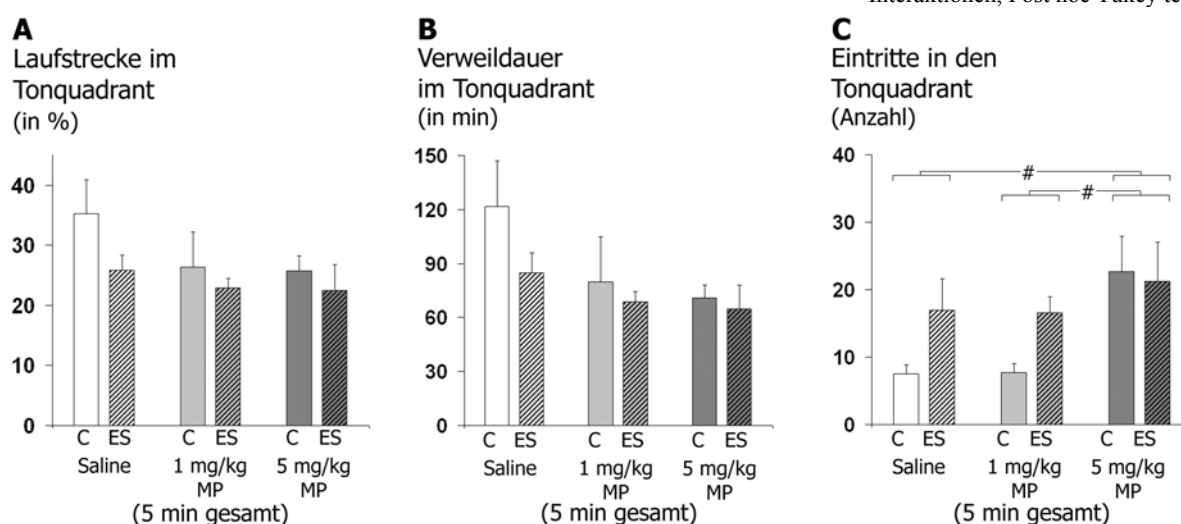


Abb. 64: Open Field-Test #2 (PND 22) im modifizierten OF (Tonquadrant-Aktivität ♀). Effekte der akuten MP-Behandlung auf (A) Laufstrecke (B) Verweildauer im und (C) Eintritte in den Tonquadrant (Mittelwerte  $\pm$  Std.F; Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte bzw. \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test)

- Frühkindlich gestresste Weibchen zeigen unabhängig von der pharmakologischen Behandlung höhere Laufstrecken (horizontale Exploration). Nach einer Gabe von 1 mg/kg MP zeigten frühkindlich gestresste Weibchen signifikant mehr vertikale Explorationen als ungestresste Weibchen.
- Das Putzverhalten, Defäkationsraten sowie die Laufstrecke und Verweildauer im Tonquadrant unterschied sich nicht signifikant zwischen den Gruppen. Die ungestressten salinebehandelten Kontrollen zeigten jedoch im Vergleich zu den salinebehandelten gestressten Tieren eine deutliche Tendenz zur verstärkten

*Tonquadrant-Aktivität und zu tendenziell geringeren Laufaktivitäten. Untersuchungen zur chronischen MP-Wirkung ohne akute MP-Injektion: OF-Test #3 (PND 45) ♀*

### B.1.3 Untersuchungen zur chronischen MP-Wirkung: OF-Test #3 (PND 45) ♀

#### B.1.3.1 Standard - Open Field (ohne Ton-Stimulation) ♀

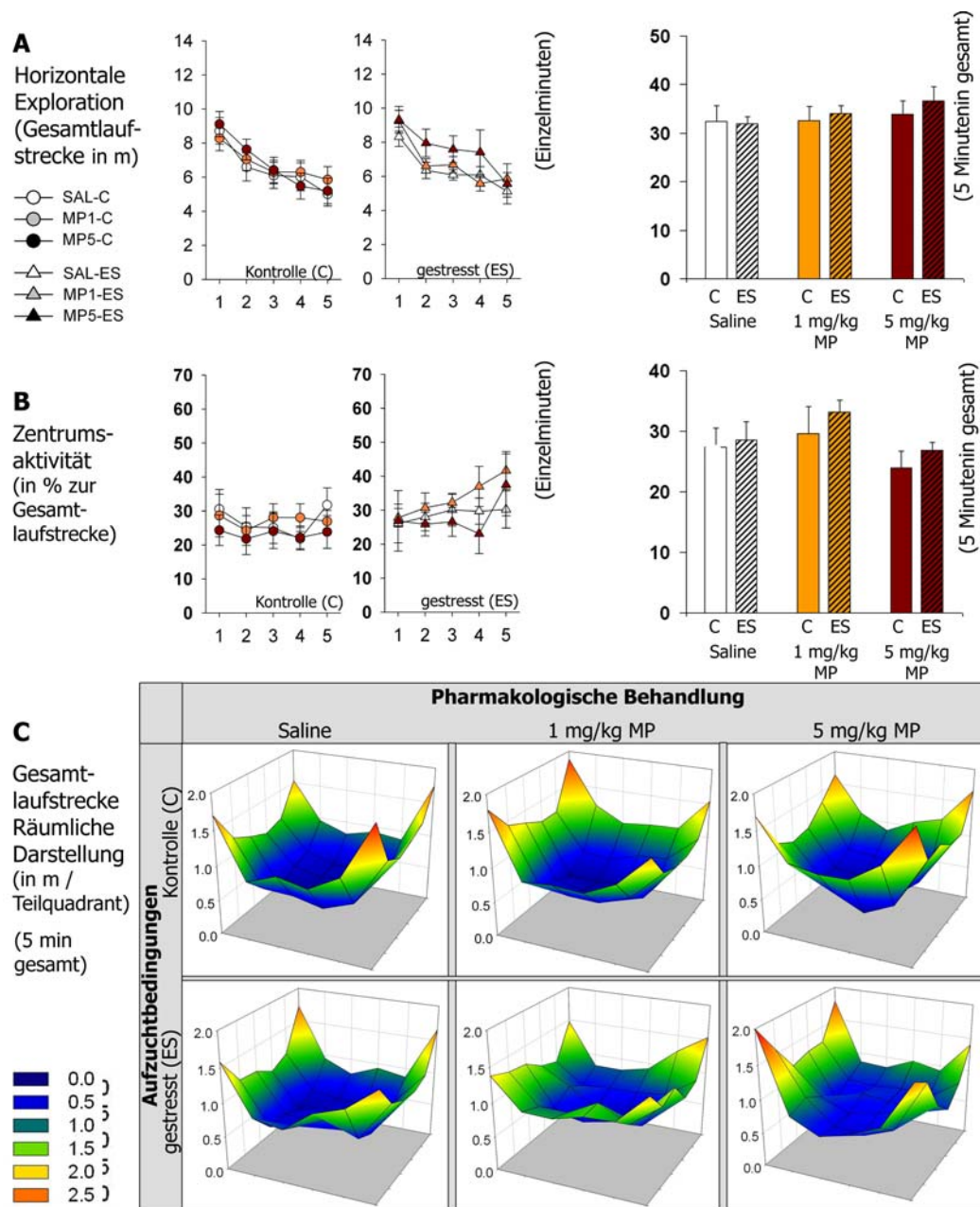


Abb. 65: Open Field-Test #3 (PND 45) im Standard-OF (Gesamtaktivität, Teil I ♀) Effekte der chronischen MP-Behandlung ohne akute MP-Injektion auf (A) Laufstrecke, (B) Zentrums-Aktivität, (Mittelwerte  $\pm$  Std.F, Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test) (C) Räumliche Verteilung der Laufaktivität in der OF-Arena

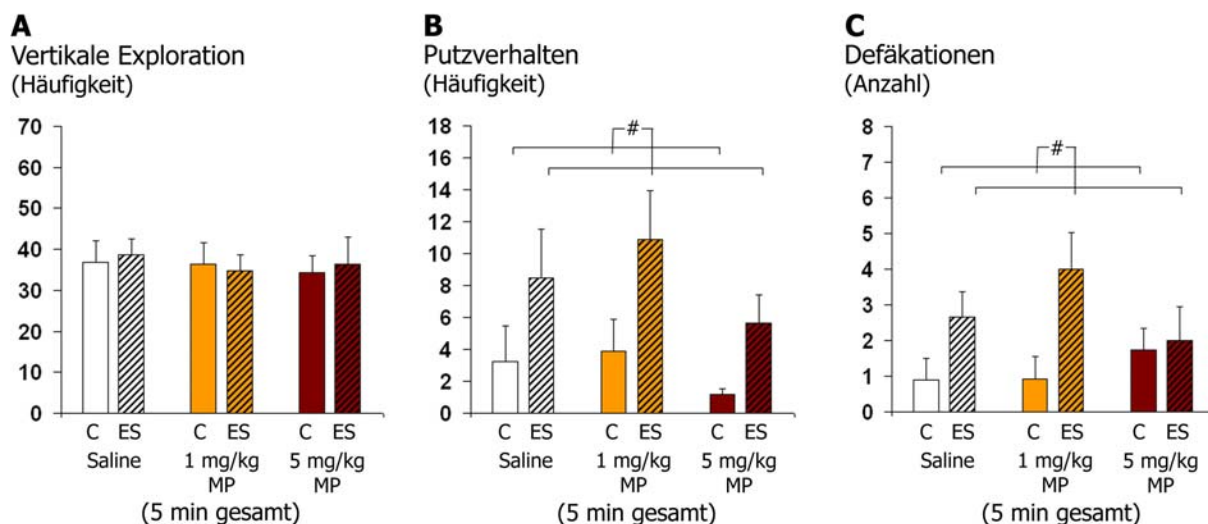


Abb. 66: Open Field-Test #3 (PND 45) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II ♀)  
 Effekte der chronischen MP-Behandlung ohne akute MP-Injektion auf (A) Vertikale Exploration, (B) Putzverhalten, (C) Defäkationen (Mittelwerte  $\pm$  Std.F; Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte, Post hoc Tukey-Test)

- Die am PND 22 verzeichnete erhöhte Laufaktivität und Zentrumsaktivität der salinebehandelten frühkindlich gestressten Weibchen war wie bei den Männchen am PND 45 nicht mehr vorhanden.
- Frühkindlich gestresste Weibchen zeigen unabhängig von der pharmakologischen Behandlung höhere häufigeres Putzverhalten und höhere Defäkationsraten als ungestresste Weibchen.



### B.1.3.2 Modifiziertes Open Field (mit Ton-Stimulation) ♀

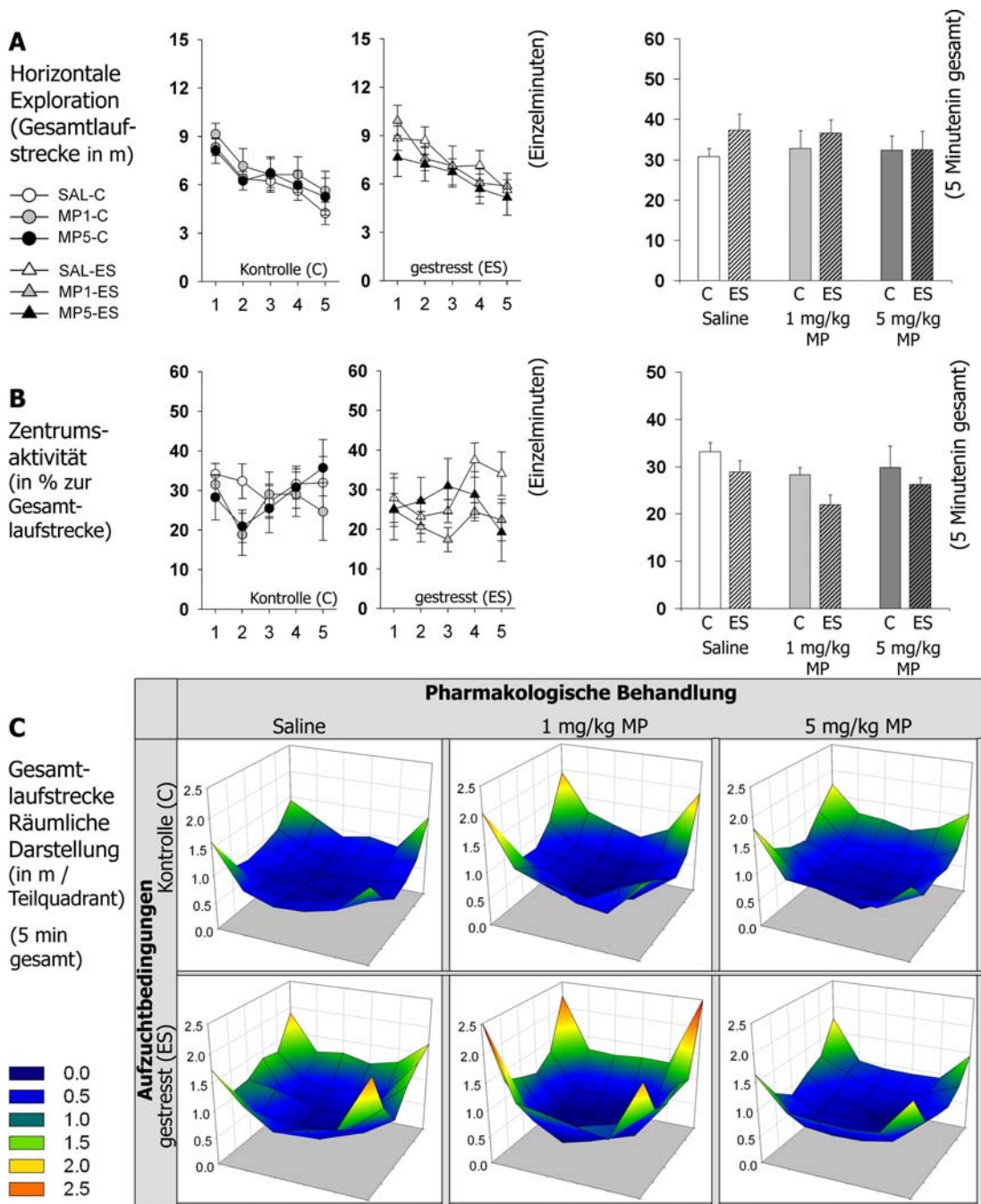


Abb. 67: Open Field-Test #3 (PND 45) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I ♀) Effekte der chronischen MP-Behandlung ohne akute MP-Injektion auf (A) Laufstrecke, (B) Zentrums-Aktivität, (Mittelwerte ± Std.F, Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte, \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test), (C) Räumliche Verteilung der Laufaktivität in der OF-Arena

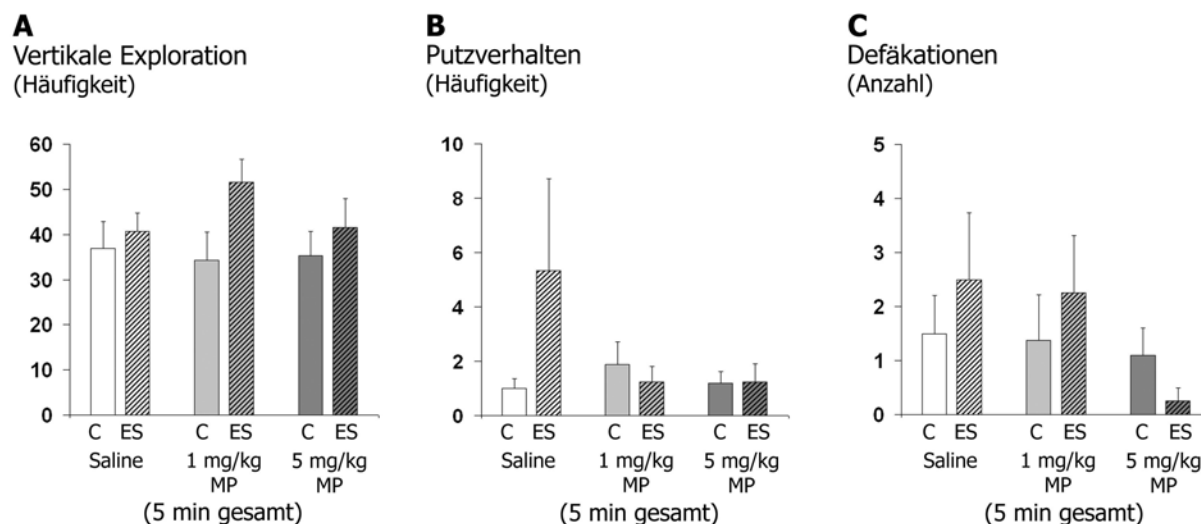


Abb. 68: Open Field-Test #3 (PND 45) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II ♀) Effekte der chronischen MP-Behandlung ohne akute MP-Injektion auf (A) Vertikale Exploration, (B) Putzverhalten, (C) Defäkationen (Mittelwerte  $\pm$  Std.F; Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ )

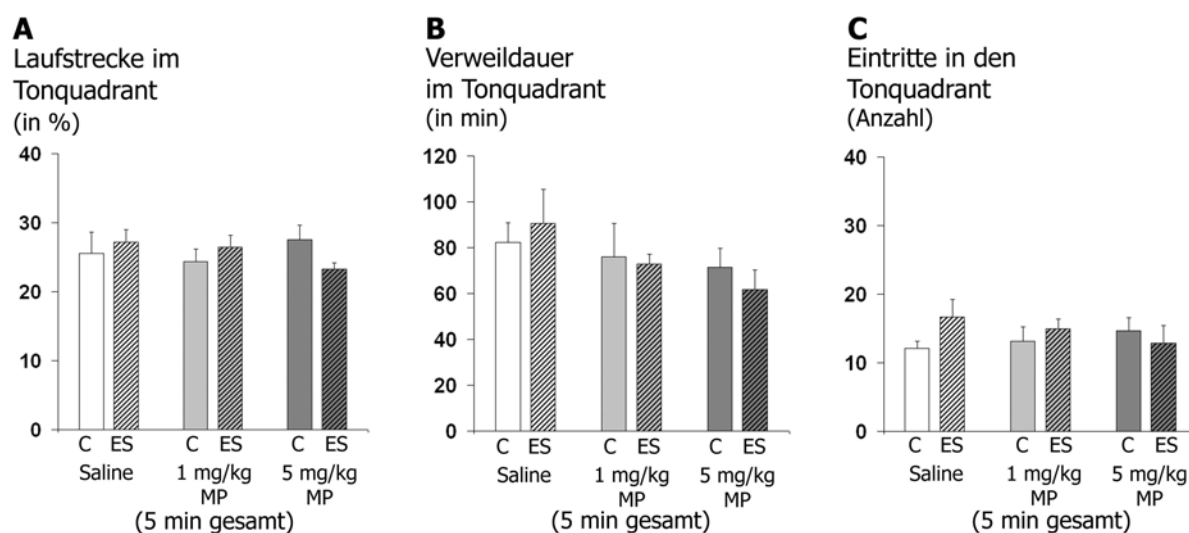


Abb. 69: Open Field-Test #3 (PND 45) im modifizierten OF (Tonquadrant-Aktivität ♀) Effekte der chronischen MP-Behandlung ohne akute MP-Injektion auf (A) Laufstrecke (B) Verweildauer im und (C) Eintritte in den Tonquadrant (Mittelwerte  $\pm$  Std.F; Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ ; # für Hauptfaktor-Effekte, Post hoc Tukey-Test)

➤ *Im Test #3 im modifizierten OF zeigten sich bei keinem der untersuchten Parameter signifikante Effekte.*

### B.1.4 Untersuchungen zur akuten MP-Wirkung nach chronischer MP-Behandlung: OF-Test #4 (PND 45) ♀

#### B.1.4.1 Standard - Open Field (ohne Ton-Stimulation) ♀

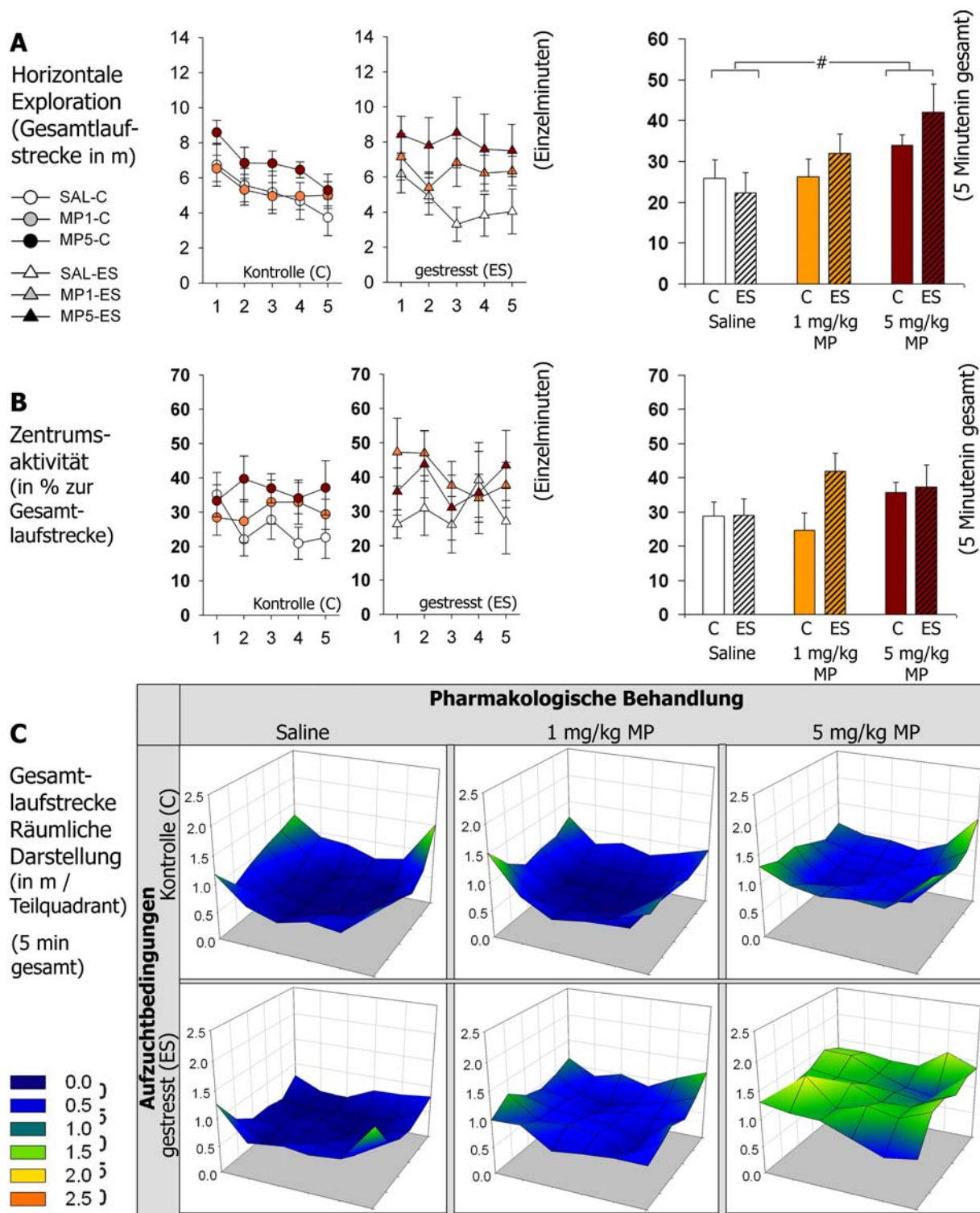


Abb. 70: Open Field-Test #4 (PND 45) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I ♀) Effekte der akuten MP-Injektion nach chronischer MP-Behandlung auf (A) Laufstrecke, (B) Zentrums-Aktivität, (Mittelwerte ± Std.F, Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test) (C) Räumliche Verteilung der Laufaktivität in der OF-Arena

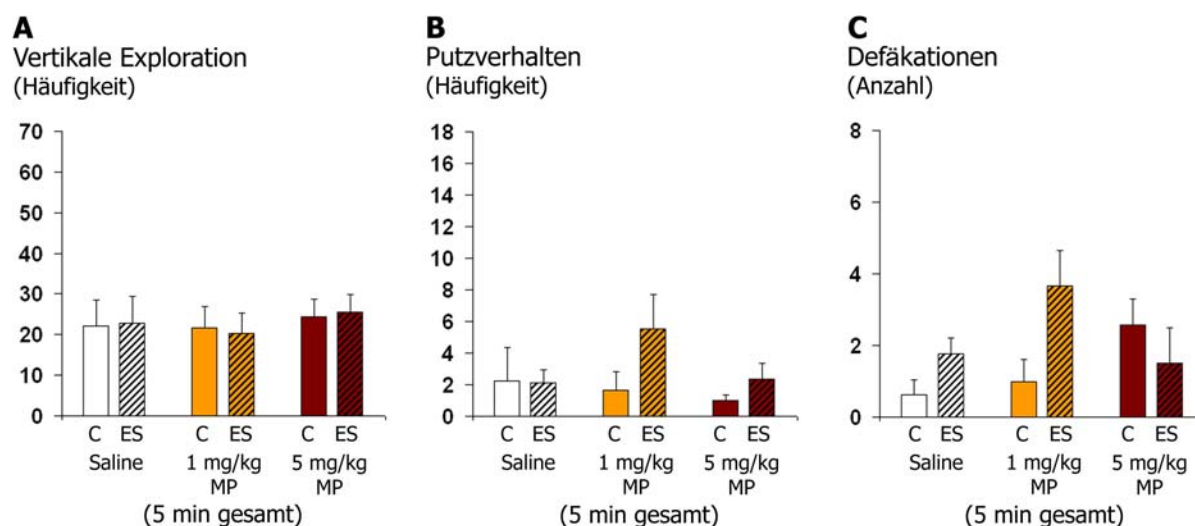


Abb. 71: Open Field-Test #4 (PND 45) im Standard-OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II ♀) Effekte der chronischen MP-Behandlung nach akuter MP-Injektion auf (A) Vertikale Exploration, (B) Putzverhalten, (C) Defäkationen (Mittelwerte  $\pm$  Std.F; Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : # für Hauptfaktor-Effekte, Post hoc Tukey-Test)

- Die akute MP-Injektion vor dem Test #4 im Standard-OF führte unabhängig von der Aufzuchtform nur in mit 5 mg/kg MP-behandelten Gruppen zu erhöhten Laufstrecken. Bei den Männchen zeigte hingegen auch die niedrige Dosis einen signifikanten pharmakologischen Effekt.
- Alle weiteren untersuchten Parameter unterschieden sich zwischen den Gruppen nicht signifikant.



**B.1.4.2 Modifiziertes Open Field (mit Ton-Stimulation) ♀**

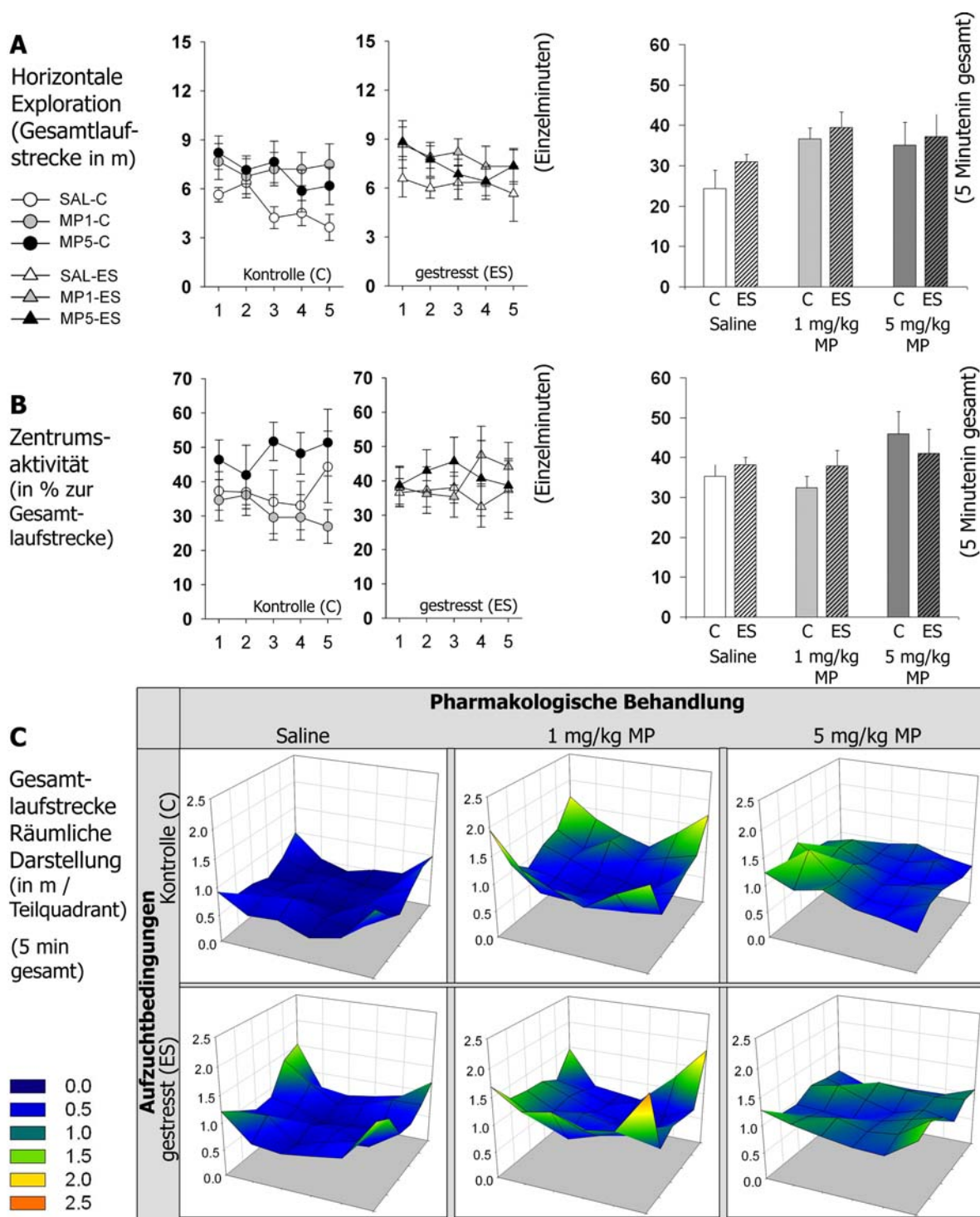


Abb. 72: Open Field-Test #4 (PND 45) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil I ♀) Effekte der akuten MP-Injektion nach chronischer MP-Behandlung auf (A) Laufstrecke, (B) Zentrumsaktivität, (Mittelwerte ± Std.F, Statistik: 3Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ : \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey-Test), (C) Räumliche Verteilung der Laufaktivität in der OF-Arena

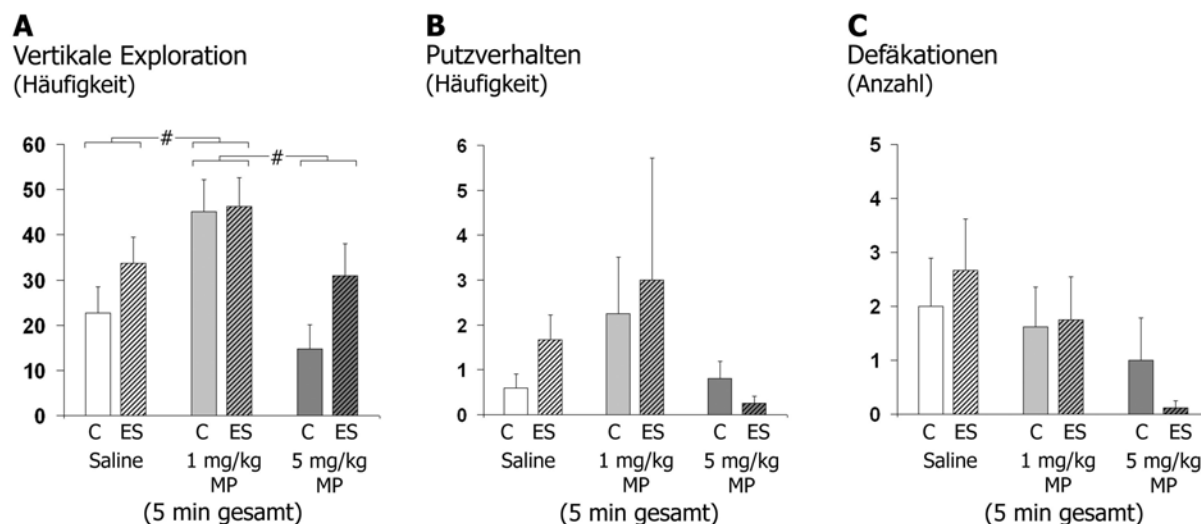


Abb. 73: Open Field-Test #4 (PND 45) im modifizierten OF (Gesamt-OF-Aktivität, Teil II ♀) Effekte der chronischen MP-Behandlung nach akuter MP-Injektion auf (A) Vertikale Exploration, (B) Putzverhalten, (C) Defäkationen (Mittelwerte  $\pm$  Std.F; Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ )

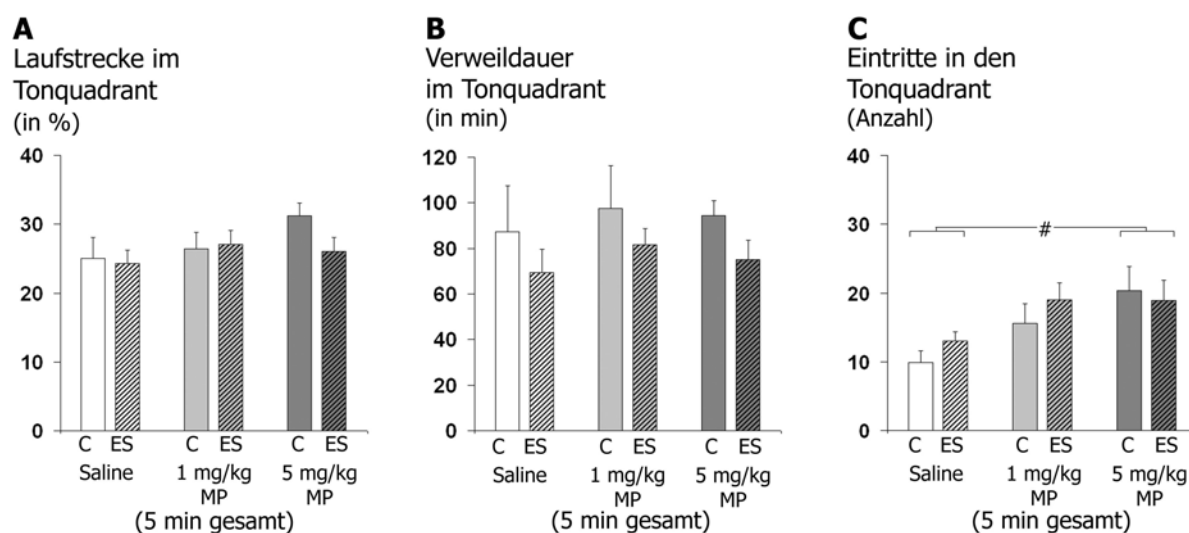


Abb. 74: Open Field-Test #4 (PND 45) im modifizierten OF (Tonquadrant-Aktivität ♀) Effekte der chronischen MP-Behandlung nach akuter MP-Injektion auf (A) Laufstrecke (B) Verweildauer im und (C) Eintritte in den Tonquadrant (Mittelwerte  $\pm$  Std.F; Statistik: 2Wege-ANOVA,  $p < 0.05$ ; \* für Hauptfaktor-Interaktionen, Post hoc Tukey)

- Die akute MP-Injektion vor dem Test #4 im modifizierten OF führte im Gegensatz zu den Ergebnissen im Standard-OF auch bei den mit 5 mg/kg MP-behandelten Gruppen zu keiner signifikanten Erhöhung der Laufstrecken. Jedoch weist die signifikante Erhöhung der Eintritte in den Tonquadranten bei fehlender Erhöhung der relativen Laufstrecke oder Verweildauer im Tonquadrant auf eine erhöhte ungerichtete Aktivität im OF hin.
- Weitere Parameter unterschieden sich nicht zwischen den Gruppen

## B.2 Tabellenanhang: Standard Open Field, weibliche Tiere (♀)

Tabelle 41 : Körpergewicht Open Field-Test #1: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik: t-test) ♀

	Test	C	ES	t-test	Test #1
Körpergewicht (in g)	# 1	50.1 ± 1.6	47.5 ± 1.7	Parameter:	<i>P</i>
				Körpergewicht P 22	0.269

Tabelle 42 : Körpergewicht Open Field-Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM) ♀

	Test	SAL-C	SAL-ES	MP1-C	MP1-ES	MP5-C	MP5-ES
Körpergewicht (in g)	# 2	50.2 ± 3.4	46.7 ± 3.2	47.5 ± 2.6	48.0 ± 2.9	52.3 ± 2.4	48.1 ± 2.6
	# 3-4	98.2 ± 7.2	86.5 ± 11.0	99.3 ± 5.3	100.9 ± 7.7	104.6 ± 4.7	107.2 ± 5.7

Tabelle 43 : Körpergewicht Open Field-Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 2Wege-ANOVA) ♀

Zwei-Wege-ANOVA:	PND 22		PND 45	
	Test #2		Test #3 + #4	
	Körpergewicht			
Faktoren	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
AUFZUCHT	1.1	0.293	0.3	0.588
PHARM	0.3	0.721	1.5	0.234
AUFZUCHT x PHARM	0.5	0.640	0.5	0.591

Tabelle 44 : OF-Aktivität (5 min gesamt) Test #1: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik t-test) ♀

5 Minuten gesamt		Test	C	ES	t-test (*u-test)	Test #1
Gesamt-OF	Gesamtlaufstrecke (in m)	# 1	25.4 ± 1.1	29.0 ± 0.9	Parameter:	<i>P</i>
	Zentrumsaktivität (in %)		17.2 ± 1.3	23.1 ± 1.9	Gesamtlaufstrecke*	<b>0.032</b>
	Vertikale Exploration (Anzahl)		24.8 ± 1.9	28.6 ± 1.7	Zentrumsaktivität*	<b>0.016</b>
	Putzverhalten (Anzahl)		2.4 ± 0.6	3.8 ± 0.7	Vertikale Exploration	0.099
	Defekationen (Anzahl)		0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	Putzverhalten*	0.075
	Vokalisationen (Anzahl)		0.5 ± 0.2	1.4 ± 0.8	Defekationen*	0.479
				Vokalisationen*	0.489	

Tabelle 45 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #1: Standard-OF (Mittelwerte  $\pm$  SEM, Statistik: 2Wege-ANOVA ♀

Minutenabschnitte		Test	min	C	ES
Gesamt-OF-Aktivität	Gesamtlaufstrecke (in m)	# 1	1	6.3 $\pm$ 0.3	6.8 $\pm$ 0.3
			2	6.0 $\pm$ 0.2	6.7 $\pm$ 0.2
			3	5.3 $\pm$ 0.2	5.5 $\pm$ 0.2
			4	4.4 $\pm$ 0.4	5.3 $\pm$ 0.3
			5	3.6 $\pm$ 0.4	4.7 $\pm$ 0.2
	Zentrumsexploration (in %)	# 1	1	13.3 $\pm$ 1.6	15.5 $\pm$ 2.3
			2	15.9 $\pm$ 2.0	21.4 $\pm$ 2.3
			3	19.2 $\pm$ 2.2	23.1 $\pm$ 2.7
			4	18.0 $\pm$ 2.5	30.8 $\pm$ 3.6
			5	19.2 $\pm$ 3.2	27.9 $\pm$ 3.5

Zwei-Wege-ANOVA:					
		Test #1			
		Gesamtlaufstrecke		Zentrumsexploration	
		F	P	F	P
Faktoren					
AUFZUCHT		13.886	<0.001	16.804	<0.001
ZEIT		22.822	<0.001	2.439	0.089
AUFZUCHT x ZEIT		0.752	0.557	0.058	0.944

Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte					
		q	P	q	P
C vs. ES		5.270	<0.001	5.797	<0.001

Faktor ZEIT		q	P
1 vs. 2		0.735	0.985
1 vs. 3		5.273	0.002
1 vs. 4		8.172	<0.001
1 vs. 5		11.163	<0.001
2 vs. 3		4.538	0.012
2 vs. 4		7.438	<0.001
2 vs. 5		10.428	<0.001
3 vs. 4		2.900	0.242
3 vs. 5		5.890	<0.001
4 vs. 5		2.990	0.214

Tabelle 46 : OF-Aktivität Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte  $\pm$  SEM) ♀

5 Minuten gesamt	Test	SAL-C	SAL-ES	MP1-C	MP1-ES	MP5-C	MP5-ES
Gesamtlaufstrecke (in m)	# 2	14.9 $\pm$ 3.0	20.1 $\pm$ 3.8	25.9 $\pm$ 3.3	32.1 $\pm$ 3.2	45.8 $\pm$ 7.4	54.3 $\pm$ 9.4
	# 3	32.4 $\pm$ 3.2	32.0 $\pm$ 1.4	32.6 $\pm$ 3.1	34.0 $\pm$ 1.7	33.5 $\pm$ 3.3	36.6 $\pm$ 3.0
	# 4	25.9 $\pm$ 4.5	22.2 $\pm$ 5.0	26.3 $\pm$ 3.5	31.9 $\pm$ 4.8	32.8 $\pm$ 2.8	42.0 $\pm$ 7.0
Zentrumsexploration (in %)	# 2	19.2 $\pm$ 4.5	27.3 $\pm$ 5.1	29.4 $\pm$ 4.0	39.8 $\pm$ 4.1	33.7 $\pm$ 4.2	39.0 $\pm$ 2.1
	# 3	27.3 $\pm$ 3.2	28.5 $\pm$ 3.1	29.6 $\pm$ 3.8	33.1 $\pm$ 2.0	25.9 $\pm$ 2.9	26.8 $\pm$ 1.4
	# 4	28.7 $\pm$ 4.2	28.9 $\pm$ 5.0	24.7 $\pm$ 4.2	41.8 $\pm$ 5.4	34.5 $\pm$ 3.6	37.4 $\pm$ 6.4
Vertikale Exploration (Anzahl)	# 2	13.6 $\pm$ 4.7	16.1 $\pm$ 3.7	20.4 $\pm$ 4.2	24.9 $\pm$ 3.2	8.7 $\pm$ 2.1	25.6 $\pm$ 6.7
	# 3	36.8 $\pm$ 6.2	38.6 $\pm$ 5.9	36.4 $\pm$ 5.3	34.7 $\pm$ 4.1	32.9 $\pm$ 3.6	36.4 $\pm$ 6.7
	# 4	22.1 $\pm$ 6.4	22.9 $\pm$ 6.4	21.6 $\pm$ 5.2	20.2 $\pm$ 5.0	23.8 $\pm$ 4.7	25.5 $\pm$ 4.4
Putzverhalten (Anzahl)	# 2	1.0 $\pm$ 0.7	4.8 $\pm$ 1.2	0.8 $\pm$ 0.4	2.3 $\pm$ 0.8	2.1 $\pm$ 1.7	3.0 $\pm$ 1.4
	# 3	3.2 $\pm$ 2.3	8.4 $\pm$ 3.1	3.9 $\pm$ 2.0	10.9 $\pm$ 3.0	1.4 $\pm$ 0.4	5.6 $\pm$ 1.8
	# 4	2.3 $\pm$ 2.1	2.1 $\pm$ 0.8	1.6 $\pm$ 1.2	5.6 $\pm$ 2.1	0.9 $\pm$ 0.4	2.4 $\pm$ 1.0
Defekationen (Anzahl)	# 2	0.0 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.5	0.2 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.5	0.0 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.1
	# 3	0.9 $\pm$ 0.6	2.7 $\pm$ 0.7	0.9 $\pm$ 0.6	4.0 $\pm$ 1.0	1.7 $\pm$ 0.7	2.0 $\pm$ 0.9
	# 4	0.6 $\pm$ 0.4	1.8 $\pm$ 0.6	1.0 $\pm$ 0.6	3.7 $\pm$ 1.0	2.6 $\pm$ 0.8	1.5 $\pm$ 1.0
Vokalisationen (Anzahl)	# 2	2.9 $\pm$ 1.7	0.8 $\pm$ 0.8	0.4 $\pm$ 0.2	0.1 $\pm$ 0.1	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
	# 3	3.1 $\pm$ 3.1	0.1 $\pm$ 0.1	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
	# 4	4.8 $\pm$ 4.8	0.6 $\pm$ 0.6	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0

Tabelle 47 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration) Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 2Wege ANOVA) ♀

Zwei-Wege-ANOVA:												
	Test #2				Test #3				Test #4			
	vertikale Exploration		Putz-Verhalten		vertikale Exploration		Putz-Verhalten		vertikale Exploration		Putz-Verhalten	
Faktoren	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
AUFZUCHT	<b>5.363</b>	<b>0.025</b>	<b>5.299</b>	<b>0.026</b>	0.073	0.788	<b>8.912</b>	<b>0.004</b>	0.006	0.938	2.441	0.125
PHARM	1.836	0.170	0.790	0.459	0.164	0.849	1.527	0.227	0.242	0.786	1.135	0.330
AUFZUCHT x PHARM	1.660	0.201	0.902	0.412	0.124	0.884	0.197	0.822	0.045	0.956	1.130	0.331
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte												
Faktor AUFZUCHT	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>			<i>q</i>	<i>P</i>				
C vs. ES	<b>3.275</b>	<b>0.025</b>	<b>3.255</b>	<b>0.026</b>			<b>4.222</b>	<b>0.005</b>				
Faktor PHARM												
SAL vs. MP1												
SAL vs. MP5												
MP1 vs. MP5												

Tabelle 48 : OF-Aktivität (Vertikale Exploration, Putzverhalten) Test #2- #4: Standard-OF ( Statistik: 2Wege-ANOVA) ♀

Zwei-Wege-ANOVA:												
	Test #2				Test #3				Test #4			
	vertikale Exploration		Putz-Verhalten		vertikale Exploration		Putz-Verhalten		vertikale Exploration		Putz-Verhalten	
Faktoren	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
AUFZUCHT	<b>5.363</b>	<b>0.025</b>	<b>5.299</b>	<b>0.026</b>	0.073	0.788	<b>8.912</b>	<b>0.004</b>	0.006	0.938	2.441	0.125
PHARM	1.836	0.170	0.790	0.459	0.164	0.849	1.527	0.227	0.242	0.786	1.135	0.330
AUFZUCHT x PHARM	1.660	0.201	0.902	0.412	0.124	0.884	0.197	0.822	0.045	0.956	1.130	0.331
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte												
Faktor AUFZUCHT	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>			<i>q</i>	<i>P</i>				
C vs. ES	<b>3.275</b>	<b>0.025</b>	<b>3.255</b>	<b>0.026</b>			<b>4.222</b>	<b>0.005</b>				
Faktor PHARM												
SAL vs. MP1												
SAL vs. MP5												
MP1 vs. MP5												

Tabelle 49 : OF-Aktivität (Defäkation, Vokalisationen) Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 2Wege-ANOVA) ♀

Zwei-Wege-ANOVA:												
	Test #2				Test #3				Test #4			
	Defekationen		Vokalisationen		Defekationen		Vokalisationen		Defekationen		Vokalisationen	
Faktoren	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
AUFZUCHT	2.637	0.111	1.665	0.203	<b>7.351</b>	<b>0.009</b>	0.993	0.324	2.119	0.152	1.011	0.320
PHARM	0.870	0.425	<b>3.287</b>	<b>0.046</b>	0.472	0.627	1.132	0.331	1.176	0.317	1.566	0.219
AUFZUCHT x PHARM	0.287	0.752	1.148	0.326	1.629	0.206	0.981	0.382	3.177	0.050	0.979	0.383
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte												
Faktor AUFZUCHT					<i>q</i>	<i>P</i>						
C vs. ES					<b>3.834</b>	<b>0.009</b>						
Faktor PHARM			<i>q</i>	<i>P</i>								
SAL vs. MP1			2.970	0.100								
SAL vs. MP5			<b>3.330</b>	<b>0.058</b>								
MP1 vs. MP5			<b>0.451</b>	<b>0.946</b>								

Tabelle 50: OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte  $\pm$  SEM) ♀

Minutenabschnitte	Test	min	SAL-C	SAL-ES	MP1-C	MP1-ES	MP5-C	MP5-ES
Gesamtlauflänge (in m)	# 2	1	4.9 $\pm$ 0.7	6.5 $\pm$ 1.1	6.6 $\pm$ 1.0	8.0 $\pm$ 0.8	11.0 $\pm$ 1.3	10.5 $\pm$ 1.7
		2	3.4 $\pm$ 0.8	4.4 $\pm$ 0.9	4.9 $\pm$ 0.8	7.2 $\pm$ 0.7	9.5 $\pm$ 1.3	10.0 $\pm$ 2.0
		3	2.5 $\pm$ 0.7	3.8 $\pm$ 0.9	5.2 $\pm$ 0.5	6.0 $\pm$ 0.6	8.5 $\pm$ 1.3	10.2 $\pm$ 2.2
		4	2.2 $\pm$ 0.7	2.6 $\pm$ 0.7	5.0 $\pm$ 0.6	5.3 $\pm$ 0.8	8.7 $\pm$ 1.2	10.9 $\pm$ 2.5
		5	1.9 $\pm$ 0.7	2.8 $\pm$ 0.8	4.2 $\pm$ 0.7	5.4 $\pm$ 1.0	7.8 $\pm$ 1.4	10.0 $\pm$ 2.2
	# 3	1	8.7 $\pm$ 0.8	8.3 $\pm$ 0.6	8.3 $\pm$ 0.7	9.3 $\pm$ 0.6	9.1 $\pm$ 0.7	9.3 $\pm$ 0.8
		2	6.6 $\pm$ 0.8	6.4 $\pm$ 0.5	7.0 $\pm$ 0.7	6.6 $\pm$ 0.4	7.6 $\pm$ 0.6	8.0 $\pm$ 0.8
		3	6.1 $\pm$ 0.8	6.1 $\pm$ 0.3	6.3 $\pm$ 0.7	6.7 $\pm$ 0.5	6.4 $\pm$ 0.7	7.6 $\pm$ 0.8
		4	6.0 $\pm$ 0.8	6.1 $\pm$ 0.5	5.9 $\pm$ 0.8	5.6 $\pm$ 0.4	5.5 $\pm$ 0.8	7.4 $\pm$ 1.3
		5	5.0 $\pm$ 0.7	5.1 $\pm$ 0.3	5.1 $\pm$ 0.7	5.9 $\pm$ 0.4	5.2 $\pm$ 0.8	5.6 $\pm$ 1.2
	# 4	1	6.7 $\pm$ 1.2	6.2 $\pm$ 1.1	6.5 $\pm$ 0.7	7.1 $\pm$ 1.3	8.6 $\pm$ 0.7	8.4 $\pm$ 1.0
		2	5.6 $\pm$ 1.0	4.9 $\pm$ 1.1	5.3 $\pm$ 0.9	5.4 $\pm$ 0.9	6.9 $\pm$ 0.9	7.8 $\pm$ 1.6
		3	5.2 $\pm$ 1.2	3.3 $\pm$ 1.0	5.0 $\pm$ 0.8	6.8 $\pm$ 1.4	6.8 $\pm$ 0.7	8.5 $\pm$ 2.0
		4	4.7 $\pm$ 1.1	3.8 $\pm$ 1.2	5.0 $\pm$ 0.8	6.2 $\pm$ 1.0	6.5 $\pm$ 0.5	7.6 $\pm$ 2.0
		5	3.7 $\pm$ 1.0	4.0 $\pm$ 1.3	4.5 $\pm$ 0.9	6.3 $\pm$ 0.8	5.3 $\pm$ 0.9	7.5 $\pm$ 1.5
Zentrumaktivität (in %)	# 2	1	23.3 $\pm$ 7.0	35.4 $\pm$ 7.1	23.4 $\pm$ 4.3	39.5 $\pm$ 5.0	31.3 $\pm$ 4.2	38.2 $\pm$ 4.1
		2	10.7 $\pm$ 5.3	22.5 $\pm$ 5.7	34.8 $\pm$ 4.8	39.0 $\pm$ 4.0	38.6 $\pm$ 4.9	41.9 $\pm$ 3.0
		3	15.9 $\pm$ 6.9	18.3 $\pm$ 4.6	27.1 $\pm$ 5.3	39.8 $\pm$ 7.9	27.2 $\pm$ 5.6	36.6 $\pm$ 4.7
		4	17.5 $\pm$ 6.7	24.1 $\pm$ 9.0	28.5 $\pm$ 5.0	38.8 $\pm$ 6.6	37.2 $\pm$ 5.1	39.3 $\pm$ 5.5
		5	13.4 $\pm$ 5.4	13.8 $\pm$ 5.8	34.5 $\pm$ 7.1	35.7 $\pm$ 8.0	36.2 $\pm$ 6.5	36.1 $\pm$ 8.3
	# 3	1	30.5 $\pm$ 5.8	26.1 $\pm$ 5.7	28.7 $\pm$ 6.3	27.8 $\pm$ 2.7	24.3 $\pm$ 4.5	26.9 $\pm$ 8.9
		2	25.4 $\pm$ 5.5	28.0 $\pm$ 4.1	24.3 $\pm$ 4.4	30.7 $\pm$ 4.4	21.8 $\pm$ 4.7	25.9 $\pm$ 3.5
		3	25.1 $\pm$ 4.6	30.1 $\pm$ 4.8	28.0 $\pm$ 4.1	32.3 $\pm$ 2.5	24.1 $\pm$ 5.2	26.6 $\pm$ 4.3
		4	21.8 $\pm$ 3.3	29.7 $\pm$ 3.8	26.9 $\pm$ 3.2	37.0 $\pm$ 5.9	22.2 $\pm$ 3.4	23.1 $\pm$ 5.9
		5	31.8 $\pm$ 5.0	30.2 $\pm$ 5.5	40.2 $\pm$ 7.3	41.7 $\pm$ 5.6	23.8 $\pm$ 4.8	37.5 $\pm$ 9.1
	# 4	1	35.2 $\pm$ 6.4	26.3 $\pm$ 4.2	28.5 $\pm$ 5.2	47.3 $\pm$ 9.9	33.3 $\pm$ 4.7	35.8 $\pm$ 6.9
		2	22.1 $\pm$ 4.8	30.9 $\pm$ 7.9	27.4 $\pm$ 6.3	47.0 $\pm$ 6.6	39.7 $\pm$ 6.7	43.7 $\pm$ 9.7
		3	27.8 $\pm$ 5.7	26.1 $\pm$ 8.2	32.9 $\pm$ 6.4	37.6 $\pm$ 7.0	36.9 $\pm$ 4.3	31.1 $\pm$ 9.4
		4	21.0 $\pm$ 4.7	39.2 $\pm$ 10.9	29.4 $\pm$ 4.4	33.8 $\pm$ 7.0	34.1 $\pm$ 4.6	35.5 $\pm$ 12.0
		5	22.6 $\pm$ 6.1	27.1 $\pm$ 9.5	22.7 $\pm$ 6.1	37.7 $\pm$ 6.6	37.1 $\pm$ 7.9	43.4 $\pm$ 10.2



Tabelle 51 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 3Wege-ANOVA) ♀

Drei-Wege-ANOVA:												
	Test #2				Test #3				Test #4			
	Gesamt-Laufstrecke		Zentrums-exploration		Gesamt-Laufstrecke		Zentrums-exploration		Gesamt-Laufstrecke		Zentrums-exploration	
Faktoren	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
AUFZUCHT	<b>7.107</b>	<b>0.008</b>	<b>12.849</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>5.583</b>	<b>0.019</b>	0.722	0.396	0.961	0.328	0.214	0.644
PHARM	<b>77.226</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>37.038</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>3.276</b>	<b>0.039</b>	3.238	0.051	<b>31.837</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>14.975</b>	<b>&lt;0.001</b>
ZEIT	<b>5.305</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.923	0.451	<b>28.725</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>3.130</b>	<b>0.015</b>	<b>3.349</b>	<b>0.011</b>	1.804	0.128
AUFZUCHT x PHARM	<b>7.674</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>6.915</b>	<b>0.001</b>	<b>3.643</b>	<b>0.028</b>	<b>3.075</b>	<b>0.048</b>	0.319	0.727	<b>17.056</b>	<b>&lt;0.001</b>
AUFZUCHT x ZEIT	1.362	0.248	1.672	0.157	0.504	0.733	1.359	0.249	0.110	0.979	0.407	0.804
PHARM x ZEIT	0.510	0.849	1.858	0.067	0.537	0.828	0.372	0.935	0.240	0.983	1.062	0.390
AUFZUCHT x PHARM x ZEIT	0.900	0.517	0.776	0.624	0.383	0.929	1.267	0.261	0.329	0.955	0.734	0.662
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte												
Faktor AUFZUCHT	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>						
S vs. ES	<b>3.770</b>	<b>0.008</b>	<b>5.069</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>3.341</b>	<b>0.018</b>						
Faktor PHARM	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1	3.096	0.073	<b>3.731</b>	<b>0.023</b>	2.942	0.094	<b>3.356</b>	<b>0.046</b>	<b>8.214</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>4.549</b>	<b>0.004</b>
SAL vs. MP5	<b>16.995</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>12.079</b>	<b>&lt;0.001</b>	3.177	0.064	2.628	0.151	<b>10.537</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>7.612</b>	<b>&lt;0.001</b>
MP1 vs. MP5	<b>12.788</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>7.657</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.182	0.991	0.723	0.866	2.064	0.311	2.791	0.119
Faktor ZEIT	<i>q</i>	<i>P</i>			<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>		
1 vs. 2	2.787	0.280			<b>8.191</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>3.617</b>	<b>0.078</b>	2.297	0.482		
1 vs. 3	<b>4.123</b>	<b>0.029</b>			<b>10.998</b>	<b>&lt;0.001</b>	1.922	0.654	2.346	0.460		
1 vs. 4	<b>5.556</b>	<b>&lt;0.001</b>			<b>12.149</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.175	1.000	3.475	0.101		
1 vs. 5	<b>5.471</b>	<b>0.001</b>			<b>13.399</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.772	0.983	<b>4.991</b>	<b>0.004</b>		
2 vs. 3	1.336	0.879			2.807	0.273	1.695	0.752	0.048	1.000		
2 vs. 4	2.770	0.287			<b>3.957</b>	<b>0.041</b>	3.442	0.106	1.177	0.921		
2 vs. 5	2.684	0.318			<b>5.208</b>	<b>0.002</b>	<b>4.389</b>	<b>0.016</b>	2.694	0.315		
3 vs. 4	1.434	0.849			1.151	0.927	1.747	0.731	1.129	0.931		
3 vs. 5	1.348	0.876			2.401	0.435	2.694	0.315	2.646	0.333		
4 vs. 5	0.086	1.000			1.250	0.903	0.947	0.963	1.517	0.821		
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Interaktionen												
PHARM innerhalb S	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>			<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1	<b>14.947</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>9.811</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>4.126</b>	<b>0.010</b>	1.789	0.415			<b>9.183</b>	<b>&lt;0.001</b>
SAL vs. MP5	<b>12.079</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>5.500</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.537	0.924	2.494	0.182			<b>3.600</b>	<b>0.029</b>
MP1 vs. MP5	<b>13.004</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>4.165</b>	<b>0.009</b>	<b>3.336</b>	<b>0.048</b>	0.572	0.914			<b>5.226</b>	<b>&lt;0.001</b>
PHARM innerhalb ES	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>			<i>q</i>	<i>P</i>
SAL vs. MP1	<b>3.380</b>	<b>0.044</b>	0.029	1.000	<b>3.495</b>	<b>0.036</b>	2.267	0.244			2.869	0.105
SAL vs. MP5	<b>4.986</b>	<b>0.001</b>	<b>6.695</b>	<b>&lt;0.001</b>	3.157	0.066	0.450	0.946			1.360	0.601
MP1 vs. MP5	<b>9.007</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>7.237</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.359</b>	<b>0.965</b>	1.928	0.360			1.584	0.501
AUFZUCHT innerhalb	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>			<i>q</i>	<i>P</i>
SAL	<b>5.640</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>6.354</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>4.690</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.113	0.936			<b>8.989</b>	<b>&lt;0.001</b>
MP1	<b>12.380</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>3.314</b>	<b>0.019</b>	<b>2.961</b>	<b>0.036</b>	<b>3.855</b>	<b>0.006</b>			<b>3.053</b>	<b>0.031</b>
MP5	<b>9.798</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>7.935</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.821	0.562	<b>2.708</b>	<b>0.056</b>			1.912	0.126

### B.3 Tabellenanhang: Modifiziertes Open Field, weibliche Tiere (♀)

Tabelle 52 : Körpergewicht Open Field-Test #1: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik: t-test) ♀

		Test	C	ES	t-test (*u-test)	Test #1
Körpergewicht (in g)	# 1		50.9 ± 1.5	49.3 ± 1.6	Parameter:	<i>P</i>
					Körpergewicht P 22*	0.483

Tabelle 53 : Körpergewicht Open Field-Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM) ♀

		Test	SAL-C	SAL-ES	MP1-C	MP1-ES	MP5-C	MP5-ES
Körpergewicht (in g)	# 2		50.9 ± 2.3	49.8 ± 4.1	47.6 ± 1.5	49.2 ± 2.7	53.1 ± 3.0	49.0 ± 2.1
		# 3-4	105.6 ± 2.4	102.5 ± 9.7	99.4 ± 3.7	105.6 ± 5.3	106.6 ± 4.7	108.5 ± 2.4

Tabelle 54 : Körpergewicht Open Field-Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 2Wege-ANOVA) ♀

Zwei-Wege-ANOVA:	PND 22		PND 45	
	Test #2		Test #3 + #4	
	Körpergewicht			
Faktoren	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
AUFZUCHT	0.280	0.599	0.187	0.667
PHARM	0.460	0.634	0.614	0.546
AUFZUCHT x PHARM	0.522	0.597	0.455	0.637

Tabelle 55 : OF-Aktivität (5 min gesamt) Test #1: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik t-test) ♀

5 Minuten gesamt		Test	C	ES	t-test (*u-test)	Test #1
Gesamt-OF-Aktiv	Gesamtlaufstrecke (in m)	# 1	23.5 ± 1.2	29.7 ± 1.6	Parameter: Gesamt-OF	<i>P</i>
	Zentrumsaktivität (in %)		17.1 ± 1.8	18.8 ± 1.8	Horizontale Exploration	<b>0.004</b>
	Vertikale Exploration (Anzahl)		24.4 ± 2.0	35.9 ± 2.6	Zentrumsaktivität (in %)	0.488
	Defäkationen (Anzahl)		0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	Vertikale Exploration	<b>0.003</b>
	Vokalisationen (Anzahl)		0.5 ± 0.2	0.1 ± 0.1	Putzverhalten*	<b>0.010</b>
	Putzverhalten (Anzahl)		0.5 ± 0.2	0.9 ± 0.2	Defekationen*	0.538
				Vokalisationen*	0.091	

Tabelle 56 : Tonquadrant-Aktivität (5 min gesamt) Test #1: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM, Statistik t-test) ♀

5 Minuten gesamt		Test	S	ES	t-test (*u-test)	Test #1
Tonquadrant	Laufstrecke (in %)	# 1	28.3 ± 0.9	25.2 ± 0.9	Parameter: Tonquadrant	<i>P</i>
	Eintritte (Anzahl)		9.1 ± 0.6	11.7 ± 0.8	Laufstrecke*	<b>0.018</b>
	Verweildauer (in sec)		96.7 ± 9.8	82.4 ± 6.9	Eintritte*	<b>0.013</b>
				Verweildauer	0.402	



Tabelle 57 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #1: Standard-OF (Mittelwerte  $\pm$  SEM, Statistik: 2Wege-ANOVA ♀

Minutenabschnitte		Test	min	C	ES
Gesamt-OF-Aktivität	Gesamtlaufstrecke (in m)	# 1	1	6.0 $\pm$ 0.3	6.9 $\pm$ 0.4
			2	6.6 $\pm$ 0.7	8.8 $\pm$ 0.9
			3	8.5 $\pm$ 0.4	8.8 $\pm$ 0.6
			4	7.0 $\pm$ 0.5	8.3 $\pm$ 0.7
			5	5.3 $\pm$ 0.3	6.5 $\pm$ 0.3
	Zentrumsexploration (in %)	# 1	1	17.0 $\pm$ 2.7	14.7 $\pm$ 1.8
			2	32.5 $\pm$ 4.0	27.7 $\pm$ 3.5
			3	31.0 $\pm$ 2.3	26.4 $\pm$ 3.5
			4	39.7 $\pm$ 3.4	38.0 $\pm$ 3.0
			5	17.1 $\pm$ 3.1	11.4 $\pm$ 2.1

Zwei-Wege-ANOVA:				
Faktoren	Test #1			
	Gesamtlaufstrecke		Zentrumsexploration	
	F	P	F	P
AUFZUCHT	43.635	<0.001	24.246	<0.001
ZEIT	10.328	<0.001	1.376	0.243
AUFZUCHT x ZEIT	0.773	0.544	0.937	0.443

Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte				
Faktor AUFZUCHT	q	P	q	P
S vs. ES	9.342	<0.001	6.964	<0.001

Faktor ZEIT	q	P	q	P
1 vs. 2	2.047	0.597		
1 vs. 3	5.204	0.002		
1 vs. 4	6.071	<0.001		
1 vs. 5	8.015	<0.001		
2 vs. 3	3.156	0.168		
2 vs. 4	4.024	0.036		
2 vs. 5	5.968	<0.001		
3 vs. 4	0.867	0.973		
3 vs. 5	2.811	0.272		
4 vs. 5	1.944	0.644		

Tabelle 58 : OF-Aktivität Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte  $\pm$  SEM) ♀

5 Minuten gesamt		Test	SAL-C	SAL-ES	MP1-C	MP1-ES	MP5-C	MP5-ES
Gesamtlaufstrecke (in m)	# 2	# 2	16.4 $\pm$ 2.2	35.9 $\pm$ 10.0	21.2 $\pm$ 2.8	42.0 $\pm$ 6.2	45.2 $\pm$ 8.7	40.9 $\pm$ 6.5
		# 3	30.8 $\pm$ 2.0	37.4 $\pm$ 3.9	32.8 $\pm$ 4.4	36.6 $\pm$ 3.3	32.3 $\pm$ 3.6	32.5 $\pm$ 4.7
		# 4	24.4 $\pm$ 2.7	30.9 $\pm$ 3.0	36.6 $\pm$ 4.7	39.4 $\pm$ 4.4	35.1 $\pm$ 5.1	37.2 $\pm$ 4.0
Zentrumsexploration (in %)	# 2	# 2	27.2 $\pm$ 3.9	32.2 $\pm$ 6.1	24.6 $\pm$ 5.3	19.0 $\pm$ 1.8	33.2 $\pm$ 6.1	39.1 $\pm$ 6.6
		# 3	33.1 $\pm$ 3.5	28.9 $\pm$ 3.4	28.3 $\pm$ 2.8	22.0 $\pm$ 2.4	29.8 $\pm$ 4.4	26.3 $\pm$ 6.0
		# 4	35.2 $\pm$ 4.7	38.2 $\pm$ 1.9	32.5 $\pm$ 2.8	37.8 $\pm$ 3.9	45.9 $\pm$ 6.0	41.0 $\pm$ 6.0
Vertikale Exploration (Anzahl)	# 2	# 2	17.1 $\pm$ 3.3	25.9 $\pm$ 6.6	18.0 $\pm$ 5.5	40.9 $\pm$ 5.2	18.4 $\pm$ 5.7	14.1 $\pm$ 3.7
		# 3	36.7 $\pm$ 5.9	41.9 $\pm$ 4.1	34.8 $\pm$ 6.3	51.6 $\pm$ 5.1	33.8 $\pm$ 5.4	41.5 $\pm$ 6.4
		# 4	21.0 $\pm$ 5.8	31.1 $\pm$ 5.7	44.3 $\pm$ 7.1	46.3 $\pm$ 6.4	14.7 $\pm$ 5.4	31.0 $\pm$ 7.1
Putzverhalten (Anzahl)	# 2	# 2	0.5 $\pm$ 0.3	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.4 $\pm$ 0.4	0.1 $\pm$ 0.1	0.0 $\pm$ 0.0
		# 3	1.5 $\pm$ 0.7	2.5 $\pm$ 1.2	1.4 $\pm$ 0.8	2.3 $\pm$ 1.1	1.1 $\pm$ 0.5	0.3 $\pm$ 0.3
		# 4	2.0 $\pm$ 0.9	2.7 $\pm$ 1.0	1.6 $\pm$ 0.7	1.8 $\pm$ 0.8	1.0 $\pm$ 0.8	0.1 $\pm$ 0.1
Defäkationen (Anzahl)	# 2	# 2	0.1 $\pm$ 0.1	1.7 $\pm$ 1.7	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.1	0.0 $\pm$ 0.0
		# 3	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.1	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
		# 4	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
Vokalisationen (Anzahl)	# 2	# 2	0.8 $\pm$ 0.4	0.9 $\pm$ 0.4	1.3 $\pm$ 1.1	1.1 $\pm$ 0.4	0.5 $\pm$ 0.4	0.4 $\pm$ 0.2
		# 3	1.0 $\pm$ 0.4	5.3 $\pm$ 3.4	1.9 $\pm$ 0.8	1.3 $\pm$ 0.6	1.2 $\pm$ 0.4	1.3 $\pm$ 0.6
		# 4	0.6 $\pm$ 0.3	1.7 $\pm$ 0.6	2.3 $\pm$ 1.3	3.0 $\pm$ 2.7	0.8 $\pm$ 0.4	0.3 $\pm$ 0.2

Tabelle 59 : OF-Aktivität (Vertikale Exploration, Putzverhalten) Test #2- #4: Standard-OF ( Statistik: 2Wege-ANOVA)♀

Zwei-Wege-ANOVA:												
	Test #2				Test #3				Test #4			
	vertikale Exploration		Putz-Verhalten		vertikale Exploration		Putz-Verhalten		vertikale Exploration		Putz-Verhalten	
Faktoren	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
AUFZUCHT	<b>5.625</b>	<b>0.022</b>	0.011	0.918	3.623	0.064	1.859	0.180	3.282	0.077	0.177	0.676
PHARM	<b>3.688</b>	<b>0.033</b>	<b>0.883</b>	<b>0.420</b>	0.370	0.693	1.656	0.203	<b>7.128</b>	<b>0.002</b>	1.587	0.216
AUFZUCHT x PHARM	3.576	0.036	0.016	0.984	0.751	0.478	2.732	0.076	0.742	0.482	0.253	0.778
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte												
Faktor AUFZUCHT	<i>q</i>	<i>P</i>										
S vs. ES	<b>3.354</b>	<b>0.022</b>										
Faktor PHARM	<i>q</i>	<i>P</i>	<i>q</i>	<i>P</i>					<i>q</i>	<i>P</i>		
SAL vs. MP1	<b>3.841</b>	<b>0.025</b>							<b>5.157</b>	<b>0.002</b>		
SAL vs. MP5	2.000	0.342							1.175	0.686		
MP1 vs. MP5	1.757	0.435							<b>3.798</b>	<b>0.027</b>		
Post hoc Tukey Test: Innerfaktor-Effekte												
PHARM innerhalb S	<i>q</i>	<i>P</i>										
SAL vs. MP1	0.250	0.983										
SAL vs. MP5	0.050	0.999										
MP1 vs. MP5	0.212	0.988										
PHARM innerhalb ES	<i>q</i>	<i>P</i>										
SAL vs. MP1	2.511	0.189										
SAL vs. MP5	2.538	0.182										
MP1 vs. MP5	<b>5.398</b>	<b>0.001</b>										
AUFZUCHT innerhalb	<i>q</i>	<i>P</i>										
SAL	2.039	0.156										
MP1	<b>4.427</b>	<b>0.003</b>										
MP5	0.804	0.572										

Tabelle 60 : OF-Aktivität (Defäkation, Vokalisationen) Test #2- #4: Standard-OF ( Statistik: 2Wege-ANOVA)♀

Zwei-Wege-ANOVA:												
	Test #2				Test #3				Test #4			
	Defekationen		Vokalisationen		Defekationen		Vokalisationen		Defekationen		Vokalisationen	
Faktoren	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
AUFZUCHT	0.070	0.793	1.247	0.270	0.284	0.597	1.059	0.309	0.002	0.966	0.000	1.000
PHARM	0.422	0.658	1.648	0.203	1.733	0.189	1.056	0.357	2.639	0.083	0.000	1.000
AUFZUCHT x PHARM	1.871	0.165	1.476	0.239	0.904	0.412	1.056	0.357	0.503	0.608		

Tabelle 61 : Tonquadrant-Aktivität Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte  $\pm$  SEM) ♀

5 Minuten gesamt		Test	SAL-C	SAL-ES	MP1-C	MP1-ES	MP5-C	MP5-ES
Tonquadrant	Laufstrecke (in %)	# 2	35.3 $\pm$ 5.7	25.9 $\pm$ 2.4	26.4 $\pm$ 5.9	22.9 $\pm$ 1.6	25.7 $\pm$ 2.6	22.5 $\pm$ 4.3
		# 3	25.5 $\pm$ 2.1	27.2 $\pm$ 2.8	24.3 $\pm$ 1.2	26.5 $\pm$ 0.7	27.5 $\pm$ 1.9	23.3 $\pm$ 1.9
		# 4	25.0 $\pm$ 3.0	24.3 $\pm$ 1.9	26.4 $\pm$ 2.4	27.1 $\pm$ 2.0	31.2 $\pm$ 1.9	26.0 $\pm$ 2.1
	Eintritte (Anzahl)	# 2	7.6 $\pm$ 1.3	16.6 $\pm$ 4.6	7.7 $\pm$ 1.3	16.6 $\pm$ 2.4	23.7 $\pm$ 5.2	21.2 $\pm$ 5.8
		# 3	12.5 $\pm$ 1.0	16.6 $\pm$ 2.6	12.7 $\pm$ 2.1	15.0 $\pm$ 1.4	14.5 $\pm$ 1.9	12.9 $\pm$ 2.5
		# 4	10.1 $\pm$ 1.7	12.6 $\pm$ 1.3	14.8 $\pm$ 2.8	19.0 $\pm$ 2.5	21.6 $\pm$ 3.5	18.9 $\pm$ 2.9
	Verweil- dauer (in sec)	# 2	130.2 $\pm$ 25.3	80.6 $\pm$ 10.9	76.0 $\pm$ 25.2	68.6 $\pm$ 5.8	73.0 $\pm$ 7.2	64.9 $\pm$ 13.0
		# 3	75.8 $\pm$ 8.4	85.7 $\pm$ 15.0	82.5 $\pm$ 14.8	72.9 $\pm$ 4.3	73.2 $\pm$ 8.4	61.8 $\pm$ 8.4
		# 4	89.5 $\pm$ 20.0	73.1 $\pm$ 10.3	94.5 $\pm$ 18.9	81.7 $\pm$ 7.2	94.3 $\pm$ 6.5	75.2 $\pm$ 8.4

Tabelle 62 : Tonquadrant-Aktivität Test #2- #4: Modifiziertes OF ( Statistik: 2Wege-ANOVA) ♀

Zwei-Wege-ANOVA:																		
Tonquadrant aktivität	Test #2						Test #3						Test #4					
	Lauf- strecke		Eintritte		Verweil- dauer		Lauf- strecke		Eintritte		Verweil- dauer		Lauf- strecke		Eintritte		Verweil- dauer	
Faktoren	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
AUFZUCHT	2.469	0.123	2.969	0.091	1.682	0.201	0.011	0.918	0.947	0.336	0.031	0.861	0.828	0.368	0.575	0.453	2.427	0.127
PHARM	1.447	0.246	<b>4.167</b>	<b>0.022</b>	2.477	0.095	0.166	0.848	0.050	0.951	1.893	0.163	1.419	0.254	<b>4.795</b>	<b>0.013</b>	0.312	0.734
AUFZ. x PHARM	0.337	0.716	1.238	0.299	0.475	0.625	1.931	0.158	1.342	0.272	0.378	0.688	0.877	0.424	0.529	0.593	0.008	0.992
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte																		
Faktor PHARM	q		P															
SAL vs. MP1			0.034 1.000															
SAL vs. MP5			<b>3.468</b> <b>0.047</b>															
MP1 vs. MP5			<b>3.529</b> <b>0.042</b>															

Tabelle 63: OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #2- #4: Standard-OF (Mittelwerte ± SEM) ♀

Minuten- abschnitte	Test	min	SAL-C	SAL-ES	MP1-C	MP1-ES	MP5-C	MP5-ES
Gesamtlaufstrecke (in m)	# 2	1	3.6 ± 0.5	7.7 ± 2.4	4.5 ± 0.9	8.2 ± 1.2	8.9 ± 1.5	8.0 ± 1.2
		2	6.6 ± 0.3	8.5 ± 0.9	6.9 ± 1.1	7.6 ± 0.8	6.1 ± 0.6	7.2 ± 1.0
		3	6.5 ± 0.9	6.1 ± 0.6	6.6 ± 1.1	7.9 ± 0.7	7.2 ± 0.9	7.8 ± 1.0
		4	4.7 ± 0.6	6.4 ± 0.4	5.5 ± 0.5	6.6 ± 0.9	4.4 ± 0.6	4.9 ± 0.5
		5	2.9 ± 0.5	6.6 ± 2.0	3.5 ± 0.8	8.2 ± 1.4	9.3 ± 1.9	8.6 ± 1.4
	# 3	1	6.5 ± 0.6	7.5 ± 1.3	6.4 ± 1.1	7.1 ± 0.4	6.3 ± 0.9	6.7 ± 0.8
		2	4.1 ± 0.7	6.1 ± 1.0	7.0 ± 1.0	8.2 ± 0.8	8.0 ± 1.3	6.8 ± 0.9
		3	3.8 ± 0.6	5.9 ± 0.8	3.3 ± 0.7	5.4 ± 0.8	3.6 ± 0.6	4.2 ± 0.8
		4	2.6 ± 0.5	6.4 ± 1.8	3.6 ± 0.9	7.5 ± 1.2	10.3 ± 2.0	8.0 ± 1.3
		5	5.9 ± 0.6	7.4 ± 0.9	5.4 ± 1.2	6.1 ± 0.9	5.6 ± 0.9	5.7 ± 0.9
	# 4	1	4.5 ± 0.8	6.0 ± 1.1	7.2 ± 1.3	7.3 ± 1.2	6.2 ± 1.3	6.4 ± 0.9
		2	3.7 ± 0.7	5.2 ± 0.5	3.1 ± 0.9	5.7 ± 0.9	3.8 ± 0.7	4.7 ± 0.7
		3	2.5 ± 0.7	6.3 ± 1.9	3.2 ± 0.8	8.1 ± 1.5	9.1 ± 2.2	8.2 ± 1.4
		4	4.7 ± 0.7	5.9 ± 0.6	3.9 ± 1.2	5.9 ± 0.8	5.0 ± 1.2	5.2 ± 1.1
		5	3.8 ± 0.8	5.4 ± 1.7	6.9 ± 0.8	7.3 ± 1.1	6.5 ± 1.1	7.4 ± 1.0
Zentrumsakktivität (in %)	# 2	1	23.5 ± 4.7	28.2 ± 6.6	25.3 ± 7.7	19.6 ± 3.1	31.4 ± 7.3	35.9 ± 7.0
		2	35.7 ± 4.4	25.3 ± 4.2	17.4 ± 5.3	20.7 ± 3.8	18.9 ± 4.1	27.1 ± 6.0
		3	38.7 ± 4.8	37.6 ± 6.8	34.6 ± 6.0	36.2 ± 3.8	42.3 ± 8.7	43.0 ± 6.1
		4	18.3 ± 3.7	21.3 ± 5.2	15.8 ± 3.3	20.7 ± 5.1	14.6 ± 3.1	22.7 ± 5.5
		5	16.9 ± 5.0	38.6 ± 5.0	18.9 ± 6.5	19.5 ± 4.6	30.7 ± 6.1	41.7 ± 7.6
	# 3	1	28.0 ± 4.1	28.7 ± 2.9	28.0 ± 5.6	17.4 ± 3.0	22.0 ± 6.1	30.9 ± 6.9
		2	35.8 ± 9.3	39.5 ± 4.5	28.6 ± 6.6	35.4 ± 6.0	52.1 ± 5.6	45.8 ± 7.0
		3	21.1 ± 5.0	28.8 ± 3.1	17.2 ± 5.9	17.0 ± 3.4	10.0 ± 2.9	19.7 ± 6.7
		4	25.4 ± 6.3	34.4 ± 6.8	20.0 ± 6.5	19.3 ± 3.9	27.2 ± 6.5	39.1 ± 9.4
		5	31.7 ± 3.8	36.9 ± 4.3	25.4 ± 7.3	24.4 ± 2.3	30.5 ± 5.3	28.7 ± 5.8
	# 4	1	36.3 ± 7.1	35.3 ± 6.0	24.7 ± 4.9	47.5 ± 8.4	47.8 ± 6.1	40.8 ± 11.0
		2	24.7 ± 6.3	29.8 ± 7.6	12.4 ± 6.1	20.5 ± 4.1	13.0 ± 4.9	24.4 ± 6.0
		3	31.8 ± 7.0	46.4 ± 8.6	13.5 ± 6.4	23.5 ± 4.1	36.8 ± 9.1	44.4 ± 7.2
		4	35.9 ± 6.6	36.5 ± 5.5	17.5 ± 6.3	22.4 ± 5.3	33.8 ± 7.1	19.2 ± 7.3
		5	46.7 ± 10.4	44.3 ± 8.4	30.3 ± 5.7	44.2 ± 7.1	47.1 ± 9.7	38.6 ± 7.8

Tabelle 64 : OF-Aktivität (Horizontale Exploration, Zentrumsexploration; Einzelminuten) Test #2- #4: Standard-OF (Statistik: 3Wege-ANOVA)♀

Drei-Wege-ANOVA:												
Faktoren	Gesamt-laufstrecke		Zentrums-exploration		Gesamt-laufstrecke		Zentrums-exploration		Gesamt-laufstrecke		Zentrums-exploration	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
AUFZUCHT	<b>16.436</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>1.135</b>	<b>0.288</b>	<b>8.194</b>	<b>0.005</b>	1.031	0.311	<b>11.922</b>	<b>&lt;0.001</b>	1.069	0.302
PHARM	2.906	0.057	<b>5.565</b>	<b>0.004</b>	2.513	0.083	<b>4.461</b>	<b>0.013</b>	<b>3.800</b>	<b>0.024</b>	<b>4.690</b>	<b>0.010</b>
ZEIT	2.382	0.052	<b>9.576</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>5.641</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>8.819</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>3.793</b>	<b>0.005</b>	<b>7.711</b>	<b>&lt;0.001</b>
AUFZUCHT x PHARM	<b>3.174</b>	<b>0.044</b>	0.638	0.529	<b>4.720</b>	<b>0.010</b>	1.192	0.306	1.685	0.188	2.836	0.061
AUFZUCHT x ZEIT	1.184	0.319	0.884	0.474	0.634	0.639	0.590	0.670	0.799	0.527	0.867	0.485
PHARM x ZEIT	<b>2.462</b>	<b>0.014</b>	1.252	0.270	<b>3.119</b>	<b>0.002</b>	1.541	0.144	1.913	0.059	1.204	0.298
AUFZUCHT x PHARM x ZEIT	0.956	0.471	0.636	0.747	0.710	0.683	0.574	0.798	0.888	0.528	0.615	0.765
Post hoc Tukey Test: Hauptfaktor-Effekte												
Faktor AUFZUCHT												
C vs. ES	<b>5.733</b>	<b>&lt;0.001</b>			<b>4.048</b>	<b>0.004</b>			<b>4.883</b>	<b>&lt;0.001</b>		
Faktor PHARM												
SAL vs. MP1			<b>4.566</b>	<b>0.004</b>			<b>4.030</b>	<b>0.012</b>	<b>3.717</b>	<b>0.023</b>	<b>4.207</b>	<b>0.008</b>
SAL vs. MP5			3.196	0.062			0.781	0.845	0.711	0.870	1.074	0.728
MP1 vs. MP5			1.269	0.642			3.110	0.071	2.965	0.091	2.994	0.086
Faktor ZEIT												
1 vs. 2			<b>8.466</b>	<b>&lt;0.001</b>	0.021	1.000	<b>8.217</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>4.295</b>	<b>0.020</b>	<b>6.874</b>	<b>&lt;0.001</b>
1 vs. 3			<b>6.201</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>5.666</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>5.441</b>	<b>0.001</b>	2.683	0.319	<b>4.620</b>	<b>0.010</b>
1 vs. 4			<b>4.961</b>	<b>0.004</b>	0.966	0.960	<b>4.833</b>	<b>0.006</b>	0.296	1.000	2.965	0.221
1 vs. 5			<b>4.671</b>	<b>0.009</b>	1.735	0.736	3.864	0.049	0.125	1.000	0.983	0.958
2 vs. 3			<b>4.167</b>	<b>0.027</b>	<b>5.645</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>3.895</b>	<b>0.046</b>	<b>5.645</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>4.257</b>	<b>0.022</b>
2 vs. 4			2.558	0.368	0.944	0.963	1.685	0.756	1.714	0.744	1.578	0.798
2 vs. 5			0.168	1.000	1.714	0.744	0.298	1.000	0.944	0.963	0.873	0.972
3 vs. 4			<b>4.105</b>	<b>0.030</b>	<b>4.825</b>	<b>0.006</b>	3.597	0.081	<b>4.825</b>	<b>0.006</b>	3.473	0.101
3 vs. 5			2.454	0.412	<b>3.887</b>	<b>0.047</b>	1.395	0.862	0.813	0.979	0.744	0.985
4 vs. 5			1.545	0.811	0.813	0.979	2.110	0.568	<b>3.887</b>	<b>0.047</b>	2.639	0.336
Post hoc Tukey Test: Innerfaktor-Effekte												
PHARM innerhalb C												
SAL vs. MP1	<b>4.970</b>	<b>0.001</b>			<b>5.460</b>	<b>&lt;0.001</b>						
SAL vs. MP5	<b>6.172</b>	<b>&lt;0.001</b>			<b>5.420</b>	<b>&lt;0.001</b>						
MP1 vs. MP5	1.341	0.610			0.116	0.996						
PHARM innerhalb ES												
SAL vs. MP1	3.293	0.052			2.704	0.135						
SAL vs. MP5	<b>3.696</b>	<b>0.024</b>			2.290	0.237						
MP1 vs. MP5	0.160	0.993			0.578	0.912						
AUFZUCHT innerhalb												
SAL	1.423	0.314			1.757	0.214						
MP1	0.284	0.841			0.468	0.741						
MP5	0.836	0.554			1.226	0.386						
ZEIT innerhalb C												
1 vs. 2			2.005	0.616			<b>5.199</b>	<b>0.002</b>				
1 vs. 3			0.671	0.990			1.388	0.864				
1 vs. 4			3.570	0.085			1.006	0.954				
1 vs. 5			0.805	0.980			1.352	0.875				
2 vs. 3			2.664	0.326			3.788	0.057				
2 vs. 4			1.637	0.776			<b>5.971</b>	<b>&lt;0.001</b>				
2 vs. 5			1.155	0.926			<b>6.505</b>	<b>&lt;0.001</b>				
3 vs. 4			<b>4.198</b>	<b>0.025</b>			2.330	0.467				
3 vs. 5			2.721	0.304			2.723	0.304				
4 vs. 5			1.456	0.842			0.296	1.000				
ZEIT innerhalb ES												
1 vs. 2			2.801	0.275			1.707	0.747				
1 vs. 3			2.355	0.456			1.036	0.949				
1 vs. 4			0.957	0.962			1.972	0.631				
1 vs. 5			2.017	0.611			0.095	1.000				
2 vs. 3			<b>5.157</b>	<b>0.002</b>			2.677	0.321				
2 vs. 4			3.638	0.076			0.318	0.999				
2 vs. 5			<b>4.814</b>	<b>0.006</b>			1.529	0.816				
3 vs. 4			1.302	0.889			2.907	0.240				
3 vs. 5			0.334	0.999			1.083	0.940				
4 vs. 5			0.980	0.958			1.789	0.713				
Aufzucht innerhalb												
Aufzucht innerhalb 1	2.000	1.723			0.289	0.838						
Aufzucht innerhalb 2	2.000	3.083			<b>3.251</b>	<b>0.022</b>						
Aufzucht innerhalb 3	2.000	4.744			2.084	0.141						
Aufzucht innerhalb 4	2.000	0.904			<b>3.150</b>	<b>0.026</b>						
Aufzucht innerhalb 5	2.000	2.863			1.657	0.241						

## Anhang C: Protokoll zur Golgi-Imprägnierung

### Mischung der Golgi Impregnationslösung: (5% = 50g pro 1 l)

Lösung A: 5% K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (Kaliumdichromat, Merck, Deutschland) in Aqua dest.

Lösung B: 5% HgCl<sub>2</sub> (Mercuric chloride, Merck, Deutschland) in Aqua dest.

Lösung C: 5% K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> (Kaliumchromat, 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.

### Impregnung:

- Wiegen der Tiere
- Dekapitieren der Tiere (ohne Anästhesie), Herauspräparieren des Hirns und Bestimmung des Hirngewichts
- Das entnommene Gehirn kann nun in die Golgi-Lösung überführt werden (50 ml pro Hirn in einer Glas- oder Plastikflasche, die zum Schutz vor Lichteinwirkung mit Aluminiumfolie ummantelt wird)
- Das Gehirn verbleibt für 14 Tage in der Golgi-Lösung

### Einbettung in Celloidin

Das Hirn wird dazu in ein kleines Glasschälchen gelegt:

- |   |                                 |            |
|---|---------------------------------|------------|
| 1. Waschen in aqua dest.  | 3 x 2 min                       |            |
| 2. Langsame Dehydrierung im Kühlschrank                         | 50% Ethanol                     | 4 h        |
|   | 70% Ethanol                     | über Nacht |
|   | 80% Ethanol                     | über Nacht |
|   | 96% Ethanol                     | über Nacht |
|   | 96% Ethanol                     | über Nacht |
| 3. Einbettung der Hirne in Dunkelheit und bei Zimmertemperatur: |                                 |            |
|   | 100% Ethanol-Diethylether (1:1) | 2 h        |
|   | 2% Celloidin                    | 3 d        |
|   | 4% Celloidin                    | 3 d        |
|   | 8% Celloidin                    | 3 d        |

- (Lösen des Celloidins in Ethanol-Diethylether (1:1): 2% = 2g pro 100 ml des Ethanol-Diethylether (1:1))
- Das Hirn muß gut mit Celloidin bedeckt sein, da es schrumpft!
- Ausrichten des Hirns in 8-10% Celloidin in einer Destillationsglas, über Nacht im offenen Desiccator
- Schließen des Desiccators . Auf dem Boden des Desiccators wird eine kleine Glasschale mit Phosphorpentoxid (Fluka Chemie AG, Schweiz), um das Celloidin zu trocknen/reduzieren, platziert
- Wenn das Celloidin zur Hälfte reduziert ist, wird das Phosphorpentoxid entfernt und durch ein Glasschälchen mit Chloroform ersetzt, um die Polymerisierung des Celloidins zu induzieren (Dauer: 1-2 Tage)
- Der verfestigte Celloidinblock wird in der Form und Orientierung zugeschnitten, wie er später für die Herstellung der Hirnschnitte benötigt wird
- Diese angefertigten Blöcke werden in 70% Ethanol in luftdichten Gefäßen bei 8-10 C im Kühlschrank aufbewahrt. Unter der Bedingung, dass sie nicht austrocknen, können die Hirne in diesem Zustand und über einen sehr langen Zeitraum aufbewahrt werden.

**Herstellung der Schnitte:**

- Aufkleben (Roticoll, Carl-Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland) des Cellodiblocks auf ein Holzklätzchen
- Befestigung am Mikrotom
- Schneiden von 150 µm Schnitten (frontal)
- Eine Hemisphäre wird mit einem Einschnitt im Celloidin markiert (Markierung zur Untersuchung von Hemisphärenunterschieden)
- Während des Schneidens ist auf regelmäßiges Bestreichen des Messers und Hirnes mit Ethanol (70%) zu achten, damit das Gewebe nicht am Messer haften bleibt
- Die Schnitte bleiben bis zur Imprägnierung in 70%igem Alkohol (in Wellplatten) im Kühlschrank

**Imprägnierung:**

Während der folgenden Arbeitsschritte muß die Wellplatte zum Schutz vor Lichteinwirkung mit Aluminiumfolie abgedeckt werden:

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	
3. 0,5% Phenylendiamine in aqua dest. I)	1 min	
0,5% Phenylendiamine in aqua dest. II)	4 min	
4. Waschen in aqua dest.	2 x 2 min	
5. 1% Dektol (developer, Kodak) in aqua dest.	2 min	
6. waschen in aqua dest.	2 x 1 min	
7. 5% Tetenal (fixative, 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
Entfernen der Aluminiumfolie	Isopropanol(Optal) :	96%Ethanol(2:1) 2 x 5 min
	Isopropanol (Optal)	1 x 5 min
	Xylol	3 x 5 min

Die Schnitte werden zwischen zwei Deckgläschen (ca. 6 cm lang) platziert. Als Eindeckmedium wird Merckoglas (Merck, Deutschland) benutzt. Um überschüssiges Eindeckmedium zu entfernen (würde späteres Fokussieren erschweren), werden die Deckgläschen mit Gewichten bestückt, bis das Eindeckmedium hart und trocken ist. Danach kann mit der lichtmikroskopischen Analyse begonnen werden.



# Curriculum vitae

---

**Stefanie Zehle,**

Diplom-Biologin,

geboren am 15. November 1972,

zwei Kinder

e-mail: [szehle@web.de](mailto:szehle@web.de)



## **Bildungsweg:**

---

- seit 07.2007 **Leitung des IVF-Labors der Klinik für Reproduktionsmedizin und Gynäkologische Endokrinologie der Universitätsfrauenklinik Magdeburg** (Direktor Prof. Dr. Jürgen Kleinstein)
- 07.2003 - 12.2007 **Promotion an der Otto-von-Guericke - Universität Magdeburg, Institut für Biologie** (Arbeitsgruppe Entwicklungsbiologie, Prof. Katharina Braun)
- 07.2003 - 03.2005 **Assoziiertes Mitglied des Graduiertenkollegs „Biologische Grundlagen von Erkrankungen des Nervensystems“ der Medizinische Fakultät der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg**
- 03.2003 - 06.2003 **Otto-von-Guericke Universität Magdeburg: Gaststudentin im Studiengang Neurobiologie, Praktikum** (Arbeitsgruppe Developmental Neurobiology, Prof. Katharina Braun)
- 09.2001 - 03.2003 (Elternzeit zur Geburt des zweiten Kindes)
- 09.2000 - 08.2001 **Landesanstalt für Großschutzgebiete Brandenburg, Nationalpark Unteres Odertal: Wissenschaftliche Mitarbeiterin im Nationalparkzentrum**
- 02.1999 - 08. 2000 (Elternzeit zur Geburt des ersten Kindes)
- 10.1996 - 01.2000 **Universität Potsdam: Studium der Diplom-Biologie, Hauptstudium, Abschluss mit „sehr gut“** (Durchschnittsnote 1.4)
- 10.1995 - 07.1996 **University College Dublin, Irland: Einjähriges Gaststudium im Studiengang Natural Sciences**
- 10.1992 - 09.1995 **Universität Potsdam: Studium der Diplom-Biologie, Grundstudium**
- 09.1991 - 08.1992 **Freiwilliges Ökologisches Jahr**
- 09.1979 - 08.1991 **Schulausbildung, Abschluss mit Abitur** (Durchschnittsnote 1.8)



## **Stipendien:**

---

- 2003-2005 **Promotionsstipendium der Otto - von - Guericke - Universität Magdeburg**
- 2005 **NIH Travel Award:** Reisestipendium zur Teilnahme an der 38. Jahrestagung der International Society for Developmental Psychobiology (ISDP) in Washington, D.C., USA
- 2005 **Young Investigator Stipendium:** Reisestipendium der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft zur Teilnahme an der 6. Jahrestagung der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft in Göttingen, Deutschland
- 2004 **Reisestipendium des Graduiertenkollegs „Biologische Grundlagen von Erkrankungen des Nervensystems“** zur Teilnahme 37. Jahrestagung der International Society for Developmental Psychobiology in Aix en Provence, Frankreich
- 1995-1996 **ERASMUS /LINGUA – Stipendium** für einjähriges Gaststudium am University College Dublin, Irland

## **Veröffentlichungen (Publikationen, mit peer Review):**

---

- 2007 **Zehle S, Bock J, Jezierski G, Gruss M & Braun K:** Methylphenidate-treatment partly reverses stress induced elevated spine densities in the anterior cingulate cortex and behavioural dysfunctions. **Developmental Neurobiology 67, S. 1891-1900**
- 2007 Jezierski G, **Zehle S**, Bock J, Braun K & Gruss M: Early stress and chronic methylphenidate cross-sensitize dopaminergic responses in the adolescent medial prefrontal cortex and nucleus accumbens. **Journal of Neurochemistry 103, p. 2234-2244**

## **Veröffentlichungen (Poster, Vorträge, Publikationen, ohne peer Review):**

---

- 2005 **Zehle S, Braun K & Bock J:** Methylphenidate treatment can partly reverse early stress related changes of behavior, brain activity and dendritic spine morphology. Posterpräsentation und Vortrag bei der 38. Jahrestagung der International Society for Developmental Psychobiology (ISDP), Washington, D.C, USA, **Developmental Psychobiology. Volume 47 (4), p. 455**
- 2005 **Zehle S, Bock J & Braun K:** Effects of early deprivation and Methylphenidate treatment on behavior, brain activity and spine morphology in juvenile rodents (*Octodon degus*). Posterpräsentation. **Proceedings of the 6th Meeting of the German Neuroscience Society. Neuroforum 2/05**
- 2004 **Zehle S, Bock J, Jezierski G & Braun K:** Stress induced hyperactivity in trumpet tailed rats (*Octodon degus*): Posterpräsentation bei der 37. Jahrestagung der International Society for Developmental Psychobiology (ISDP), Aix en Provence, Frankreich. **Developmental Psychobiology. Volume 45 (4), p. 284**
- 1997 **Zehle S, Gzik A, Hahn R, Kühling M:** Erste Ergebnisse eines blütenökologischen Monitorings von Sukzessionsflächen. **Brandenburgische Umweltberichte 1, 55-64**
- 1997 Gzik A, Hahn R Kühling M, **Zehle S:** Blütenökologisches Monitoring von Konversionsflächen in Brandenburg. **ZALF-Berichte Nr. 32, 193**