

**Motivations- und Belohnungsverhalten vor und  
nach Okklusion der anterioren Zerebralarterie bei  
der Ratte: Eine funktionelle Bildgebungsstudie mit  
Positronen-Emissions-Tomographie.**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln

vorgelegt von

Elena Kordys

aus Münster

Köln, 2014



Berichterstatter/in: PD Dr. Heike Endepols

Prof. Dr. Wolfgang Walkowiak

Tag der mündlichen Prüfung: 07. Juli 2014



## Kurzzusammenfassung

Die anteriore Zerebralarterie (ACA) versorgt sowohl beim Menschen als auch bei Ratten präfrontale Areale inklusive dem anterioren zingulären Kortex (ACC). Neben verschiedenen Exekutivstörungen führt ein Schlaganfall im Versorgungsgebiet der ACA häufig zu Abulie, einer Motivationsstörung, bei der Patienten interessens- bis willenlos wirken und ihr Aktivitätsbedürfnis extrem reduziert ist. Über das pathologische Netzwerk, das dieser Motivationsstörung zugrunde liegt, ist jedoch wenig bekannt. Ziel dieser Studie war daher, Motivationsbeeinträchtigungen und mögliche Regeneration nach Okklusion der ACA (ACAO) im Tiermodell Ratte zu untersuchen.

Zur Untersuchung des Motivationsverhaltens vor und nach ACAO wurde ein Verhaltensparadigma für die operante Konditionierungsbox konzipiert, bei dem die Ratte einen bestimmten geforderten Arbeitsaufwand erbringen musste, um eine Belohnung zu erhalten. In der sogenannten *Motivationsaufgabe* musste die Nase für die Dauer eines akustischen Stimulus von 400, 1000 oder 1600 ms (in randomisierter Reihenfolge präsentiert) in eine Nosepoke-Einheit (Vertiefungsloch mit Lichtschranke) gehalten werden. Vor sowie zu verschiedenen Zeitpunkten nach ACAO oder Scheinoperation wurde für jede Ratte eine individuelle Motivationschwelle bestimmt, bei der das Versuchstier genau 70 % der Durchläufe erfolgreich beenden würde. Um motivations- und belohnungsrelevante Hirnareale vor und nach ACAO zu bestimmen, wurde die Motivationsaufgabe mit Verhaltens-Positronen-Emissions-Tomographie (Verhaltens-PET) kombiniert, einer funktionellen Bildgebungsmethode. Bei Verhaltens-PET akkumuliert das Radiopharmakon während des Verhaltensversuchs in der Zelle, so dass die PET-Aufnahme im Anschluss stattfinden kann. Die metabolische Aktivität, ein indirekter Marker für neuronale Aktivität, wurde mit [<sup>18</sup>F]-Fluorodesoxyglucose (FDG) untersucht. Da dopaminerge Verbindungen zwischen dem ventralen tegementalen Areal und dem limbischen System eine kritische Funktion bei der Regulation von Motivations- und Belohnungsverhalten darstellen, wurde außerdem 6-[<sup>18</sup>F]-Fluor-LDOPA (FDOPA) verwendet.

Strukturelle Magnetresonanztomographie (MRT)-Aufnahmen bestätigten, dass die ACAO zu Läsionen im zingulären Kortex sowie angrenzenden frontalen Strukturen

führte. Vor allem eine Woche nach ACAo war das Motivationsverhalten beeinträchtigt, was sich unter anderem darin äußerte, dass die Motivationsschwelle reduziert war und sich die Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit verlängerten. Einen Monat nach der Operation näherten sich auch ACA-Tiere mit größerer Läsion wieder dem präoperativen Level an, während die scheinoperierte Gruppe sich in allen Messungen ähnlich verhielt. Im FDG-PET entsprach die reduzierte metabolische Aktivität im präfrontalen und zingulären Kortex dem ischämischen Läsionsgebiet, das mittels MRT detektiert wurde. Die verringerte Motivationsschwelle war zudem positiv mit dem reduzierten FDG-Signal im ACC korreliert. Dies bestätigt bisherige Annahmen, dass der ACC zielgerichtetes Verhalten fördert und eine zentrale Rolle bei der Regulation von Motivation spielt. Nach ACAo, aber nicht nach der Scheinoperation war die FDG-Aktivität in einigen Arealen außerhalb des ACA-Versorgungsgebiets inklusive dem Nucleus (Ncl.) Accumbens, dem orbitofrontalen Kortex und dem Hippokampus erhöht. Der prä- und postoperative Vergleich des FDOPA-Verhaltens-PET zeigte, dass die Aktivität in zentralen belohnungsrelevanten Strukturen wie dem Ncl. Accumbens unverändert blieb, im Hippokampus war die FDOPA Aktivität dagegen erhöht. Diese Aktivitätserhöhung spiegelt wahrscheinlich kompensatorische Aktivität wider, die auch erklärt, warum sich die Verhaltensbeeinträchtigungen nach ACAo mit der Zeit wieder verbesserten. Die vorliegende Arbeit zeigt, dass ein Schlaganfall im Versorgungsgebiet der ACA auch bei Ratten zu akuten motivationalen Beeinträchtigungen führt. Diese Defizite scheinen jedoch innerhalb eines Monats über motivationsassoziierte Areale außerhalb des ACA-Versorgungsgebiets kompensiert zu werden.

## **Abstract**

The anterior cerebral artery (ACA) supplies frontal and cingulate cortex as well as other parts of the limbic system in both humans and rats. Apart from cognitive and mnemonic dysfunction, ACA-stroke patients often suffer from abulia, a neurological disorder with diminished motivation and reduced willingness. However, little is known about pathological networks leading to motivational deficits and subsequent recovery after ACA occlusion (ACAO).

For this purpose, a behavioral paradigm for the operant chamber was designed in which rats had to raise different efforts to obtain food reward. The rats' task was to maintain its nose within a nose poke-unit for a required time (400, 1000 or 1600 ms durations at random), which was indicated each with an acoustic stimulus. Before as well as at different time points after ACAO or sham-operation, respectively, an individual motivational threshold was assessed for each subject. For this purpose, the nosepoke time at which the animal maintained the required nosepoke time in 70 % of trials was determined.

In addition to behavioral testing, motivational und reward related brain activity in different brain regions was assessed before and one month postoperative by combining the behavioral paradigm with positron emission tomography (behavioral PET), a functional imaging approach. Behavioral PET allows to conduct behavioral testing in the awake animal, because the tracer accumulates within active cells during task performance and can be visualized in the subsequent PET-scan. To track neural activity indirectly metabolic activity was measured with [<sup>18</sup>F]fluorodeoxyglucose (FDG). As the limbic system and its dopaminergic innervation from the ventral tegmental area play a pivotal role in reward and motivation, task-relevant presynaptic dopaminergic activity was investigated using the tracer [<sup>18</sup>F]fluoro-dihydroxy-phenylalanin (FDOPA).

Brain areas affected by ischemic stroke including the cingulate cortex and adjacent frontal area were confirmed by structural MRI. One week after ACAO, reaction times were increased and motivation thresholds were shifted to shorter nosepoke times, indicating that animals were less motivated to maintain the required nosepoke time after stroke.

One month after ACAo, behavioral changes improved towards baseline values, while sham-operated animals showed stable behavioral results across all measured time points.

Metabolic behavioral PET imaging revealed decreased activity within the prefrontal and cingulate cortex matching the ischemic lesion visible in MR images. In addition, decreased motivation threshold was correlated with a reduced FDG-signal in the anterior cingulate cortex, confirming previous research, which highlights this region for supporting goal-directed behavior in a motivational context. After ACAo but not after sham-operation, metabolic activity was increased in brain areas outside the ACA territory including nucleus accumbens, orbitofrontal cortex and hippocampus. Besides, FDOPA-PET mainly revealed that dopaminergic activity in the nucleus accumbens remained unchanged after ACAo, but FDOPA upregulation was observed in the hippocampus. This upregulation most likely reflects compensatory activity leading to improved behavioral values in spite of permanent damage of motivational prefrontal and cingulate areas.

Taken together, this data show that ACAo leads to acute motivational deficits after stroke caused by ischemic lesion of regions relevant for motivation. Within one month, these deficits can be compensated by enhanced activity of other areas belonging to the motivational network.

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Ischämischer Schlaganfall	2
1.1.1	Risikofaktoren und Behandlungsmethode nach Schlaganfall	2
1.1.2	Pathophysiologie nach Schlaganfall	4
1.2	Blutversorgung des Gehirns bei Mensch und Ratte	6
1.2.1	Blutversorgung beim Menschen	6
1.2.2	Verlauf der anterioren Zerebralarterie beim Menschen	9
1.2.3	Verlauf der anterioren Zerebralarterie bei der Ratte	11
1.3	Klinisches Bild nach Okklusion der anterioren Zerebralarterie	14
1.3.1	Bisherige Tiermodellstudien	16
1.4	Präfrontaler Kortex	17
1.5	Motivations- und Belohnungsverhalten	20
1.5.1	Anteriorer zingulärer Kortex	22
1.5.2	Dopaminerges System	24
1.5.3	Funktionelle Bedeutung von Dopamin	28
1.6	Hypothetisches Motivationsnetzwerk	30
1.7	Ziel der Studie	33
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>35</b>
2.1	Versuchstiere	35
2.2	Anästhesie	36
2.3	Magnetresonanztomographie	37
2.3.1	Versuchsdurchführung Magnetresonanztomographie	39
2.4	Hörtest	40
2.5	Verhaltensparadigma „ <i>Motivationsaufgabe</i> “	42
2.5.1	Aufbau der operanten Konditionierungsbox	42
2.5.2	Akustische Stimuli	44
2.5.3	Ablauf der Motivationsaufgabe	44
2.5.4	Training Motivationsaufgabe	46
2.5.5	Versuchsbedingungen	48
2.5.6	Auswertung der Motivationsaufgabe	48
2.6	FDG und FDOPA Verhaltens-Positronen-Emission-Tomographie	50
2.6.1	Prinzip der Positronen-Emissions-Tomographie	50
2.6.2	Verhaltens-Positronen-Emissionstomographie	52
2.6.2.1	FDG-Verhaltens-PET	52
2.6.2.1.1	Versuchsdurchführung des FDG-Verhaltens-PET	53
2.6.2.2	FDOPA-Verhaltens-PET	54
2.6.2.2.1	Versuchsdurchführung des FDOPA-Verhaltens-PET	56
2.6.3	Verhaltens-PET Bedingungen	57
2.6.4	Auswertung der Verhaltens-PET Bilder	58
2.6.4.1	Intensitätsnormalisierung der FDG-Daten	59
2.6.4.2	Intensitätsnormalisierung der FDOPA-Daten	59
2.6.5	Benennung der Hirnstrukturen	60
2.7	Weitere Verhaltensversuche	61
2.7.1	Open Field	61
2.7.2	Erhöhte Plus-Arena	62
2.7.3	Cat Walk Methode	64

2.8	ACA-Okklusion und Schein-OP	66
2.8.1	Bestimmung der Läsionsgröße	67
2.9	Studien	68
2.9.1	Vorexperimente	68
2.9.1.1	FDOPA-Verhaltens-PET-(i. v.)-Studie	68
2.9.1.2	Narkose-Wach-Experiment	68
2.9.2	Anpassung der ACA-Operation	69
2.9.3	FDG/FDOPA-Verhaltens-PET im unbehandelten Versuchstier	70
2.9.4	Longitudinale Schlaganfallstudie	70
2.10	Statistik	72
2.10.1	Statistische Auswertung der Verhaltensdaten	72
2.10.2	Statistische Auswertung der Verhaltens-PET-Bilder	74
<b>3</b>	<b>Vorexperimente</b>	<b>77</b>
3.1	Ergebnisse	77
3.1.1	Etablierung des FDOPA-Verhaltens-PETs	77
3.1.2	Ergebnisse der Narkose-Wach-Studie	79
3.2	Diskussion der Vorexperimente	83
<b>4</b>	<b>Präoperative Ergebnisse</b>	<b>87</b>
4.1	Hörfähigkeit	87
4.2	Motivationsaufgabe - Präoperative Verhaltensergebnisse	87
4.2.1	Antworten an der Nosepoke-Einheit	88
4.2.2	Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit	98
4.2.3	Diskriminierungsaufgabe	100
4.3	Präoperative Ergebnisse der Verhaltens-Positronen-Tomographie	103
4.3.1	FDG-Verhaltens-PET	103
4.3.2	FDOPA-Verhaltens-PET	114
<b>5</b>	<b>Diskussion der präoperativen Ergebnisse</b>	<b>123</b>
5.1	Diskussion der Verhaltensergebnisse	123
5.2	Diskussion des präoperativen Verhaltens-PETs	131
5.2.1	Methodendiskussion	131
5.2.2	FDG- und FDOPA-Verhaltens-PET	134
5.3	Fazit	146
<b>6</b>	<b>Ergebnisse der longitudinalen Schlaganfallstudie</b>	<b>147</b>
6.1	Läsionen nach Okklusion der ACA	147
6.2	Hörfähigkeit	152
6.3	Motivationsaufgabe	152
6.3.1	Antworten an der Nosepoke-Einheit	153
6.3.2	Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit	160
6.3.3	Diskriminierungsaufgabe	161
6.4	Weitere Verhaltensversuche	162
6.4.1	Open Field	162
6.4.2	Erhöhte Plus-Arena	170

6.4.3	Cat Walk	175
6.5	Postoperative Verhaltens-PET-Ergebnisse	177
6.5.1	FDG-Verhaltens-PET	177
6.5.1.1	Verhaltensergebnisse	177
6.5.1.2	Metabolische Aktivitätsunterschiede	181
6.5.2	FDOPA-Verhaltens-PET	194
6.5.2.1	Verhaltensergebnisse	194
6.5.2.2	Dopaminerge Aktivitätsunterschiede	196
<b>7</b>	<b>Diskussion der longitudinalen Schlaganfallstudie</b>	<b>201</b>
7.1	Diskussion der Läsionen nach ACA-Okklusion	201
7.2	Diskussion der postoperativen Verhaltens-Ergebnisse	203
7.2.1	Motivationsaufgabe	203
7.2.2	Weitere Verhaltensversuche	209
7.3	Diskussion der postoperativen PET-Ergebnisse	211
7.3.1	Verhaltensergebnisse	212
7.3.2	Metabolische Aktivitätsunterschiede (FDG-Verhaltens-PET)	213
7.3.3	Dopaminerge Aktivitätsunterschiede (FDOPA-Verhaltens-PET)	224
7.4	Fazit	226
<b>8</b>	<b>Abschließende Diskussion</b>	<b>227</b>
<b>9</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>231</b>
<b>10</b>	<b>Danksagung</b>	<b>253</b>
<b>11</b>	<b>Erklärung</b>	<b>255</b>



## 1 Einleitung

Im Fokus der vorliegenden Arbeit steht die Untersuchung motivations- und belohnungsassozierten Verhaltens vor und nach Okklusion der anterioren Zerebralarterie (ACAO) bei der Ratte.

Der Schlaganfall (Apoplexia cerebri) ist eine der häufigsten neurologischen Erkrankungen und in Deutschland laut statistischem Bundesamt im Jahre 2011 zusammen mit Herz-Kreislaufkrankungen die häufigste Todesursache<sup>1</sup>. Ein Schlaganfall wird meist durch eine plötzliche Minderdurchblutung des Gehirns (Ischämie) ausgelöst. Im Versorgungsgebiet der anterioren Zerebralarterie (ACA) wird weltweit jährlich bei ca. 450000 Patienten<sup>2</sup> ein Schlaganfall diagnostiziert (Gacs *et al.*, 1983; Kumral *et al.*, 2002; Ng *et al.*, 2007b; Arboix *et al.*, 2009; Endepols *et al.*, 2014). Neben verschiedenen Exekutivstörungen leiden Patienten häufig unter Abulie, einer Motivationsstörung bei der Patienten interessens- bis willenlos wirken, ihr Aktivitätsbedürfnis extrem reduziert ist und der Anreiz zu sprechen manchmal vollständig erlischt (Marin, 1991; Nagaratnam *et al.*, 2004). Untersuchungen dieser Störungen im Tiermodell sind rar (Ward *et al.*, 1998; Endepols *et al.*, 2014).

In der vorliegenden Arbeit wurde in einem Rattenmodell untersucht, ob es nach ACAO zu einer der humanen Abulie ähnlichen Beeinträchtigung der Motivation kommt. Um mögliche kompensatorische Funktionen nach experimentell induziertem Schlaganfall zu identifizieren, wurden Verhaltensuntersuchungen mit funktionseller und anatomischer Bildgebung (Verhaltens-Positronen-Emissions-Tomographie (Verhaltens-PET), Magnetresonanztomographie (MRT)) kombiniert. Da das Dopaminsystem das zentrale Neurotransmittersystem für die Kontrolle motivations- und belohnungsassozierten Verhaltens darstellt, wurde ein methodischer Ansatz etabliert, mit dem die präsynaptische dopaminerge Aktivität während eines Verhaltensversuchs untersucht werden kann (6-[<sup>18</sup>F]-Fluor-LDOPA; (FDOPA)-Verhaltens-PET). Im Folgenden werden zunächst Grundlagen zum is-

---

<sup>1</sup>Statistisches Bundesamt Deutschland: [www.destatis.de/DE/Publikationen/Thematisch/Gesundheit/Todesursachen/](http://www.destatis.de/DE/Publikationen/Thematisch/Gesundheit/Todesursachen/) (abgerufen am 01. März 2014)

<sup>2</sup> Laut WHO wird im Jahr weltweit bei 15 Millionen Menschen ein Schlaganfall diagnostiziert (World Heart Federation, 2013; <http://www.world-heart-federation.org/cardiovascular-health/stroke/>, abgerufen am 30. März 2014). Je nach Studie wird berichtet, dass ein Schlaganfall im Versorgungsgebiet der ACA bei 1-5 % der Schlaganfallpatienten auftritt. Geht man von einer mittleren Inzidenz von 3 % aus, so ergibt sich eine Patientenzahl von 450000.

chämischen Schlaganfall allgemein dargelegt. Im Anschluss wird auf die Blutversorgung des Gehirns beim Menschen eingegangen und diese dann vergleichend für die Ratte erläutert. Dann wird das klinische Bild nach Schlaganfall im Gebiet der ACA zusammengefasst, sowie funktionell bedeutende Areale für motivations- und belohnungsassoziiertes Verhalten eingeführt und abschließend die prinzipielle Funktion des Dopaminsystem in diesem Zusammenhang erläutert.

### **1.1 Ischämischer Schlaganfall**

Bei einem ischämischen Schlaganfall, der in der vorliegenden Arbeit untersucht wurde, führt die Verstopfung oder Verengung eines Gefäßes zur plötzlichen Minderdurchblutung des Gehirns. 80-85 % der Infarkte sind ischämischer Art, viel seltener hingegen sind hämorrhagische oder nicht-vaskuläre Insulte. Ein hämorrhagischer Infarkt wird durch den Riss eines Blutgefäßes ausgelöst. Selten führen auch verschiedene entzündliche Gehirnerkrankungen wie zum Beispiel Multiple-Sklerose-Herde oder Enzephalitiden zu nicht-vaskulären Insulten (Ringelstein & Nabavi, 2004).

Die Hauptmechanismen eines ischämischen Schlaganfalls sind Arteriosklerose und Embolie (Lo *et al.*, 2003; Arboix *et al.*, 2009). Bei einer Arteriosklerose kommt es z. B. durch die Ablagerung von Blutfetten, Kalk oder Bindegewebe zu einer chronischen Verengung eines Blutgefäßes. Bei einer Embolie wird das Gefäß hingegen durch ein Gerinnsel verstopft, das entweder aus dem Herzen (Kardioembolie) oder aus einer anderen hirnversorgenden Arterie (Arterio-arterielle Embolie) stammt. In selteneren Fällen entsteht die Blutgefäßverengung durch eine Thrombusbildung an der Infarktstelle (Thrombolie).

#### **1.1.1 Risikofaktoren und Behandlungsmethode nach Schlaganfall**

Als Folge einer zunehmenden Alterung der Bevölkerung ist anzunehmen, dass die Anzahl an Schlaganfallpatienten in den nächsten Jahren dramatisch ansteigen wird (Bousser, 2012; Spence, 2013). Schätzungen zu Folge liegt das Lebensrisiko eines 75-jährigen, einen Schlaganfall zu erleiden, zwischen 14 und 21 % (Seshadri und Wolf 2007), wobei Frauen etwas häufiger betroffen sind als Männer (Rexrode, 2010). Sowohl die Morbidität als auch die Mortalitätsrate nach Schlaganfall ist in Ländern niedrigen Einkommens höher als in wirtschaftlich besser gestellten Län-

dern (O'Donnell *et al.*, 2010; Buchan *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2012). Neben dem Alter führen Bluthochdruck und erhöhter Alkoholkonsum zu einem erheblichen Risikoanstieg (O'Donnell *et al.*, 2010; Bousser, 2012). Wie eine internationale Studie zeigte, ist die Prävalenz von Bluthochdruck bei hämorrhagischen Schlaganfällen etwas höher (83 %) als bei ischämischen (66 %). Dauerhafter Bluthochdruck steigert das Risiko einen Schlaganfall zu bekommen enorm. So ereignen sich unter den behandelten Bluthochdruckpatienten 90 % der Schlaganfälle bei Patienten mit beständigem Bluthochdruck (Li *et al.*, 2005). Weitere wichtige Faktoren, die zu einem erheblichen Risikoanstieg führen, sind Tabakkonsum, Übergewicht, körperliche Inaktivität und ungesunde Ernährung (O'Donnell *et al.*, 2010; Bousser, 2012).

Als effektivste Behandlungsmethode eines ischämischen Schlaganfalls gilt immer noch die Prävention, z. B. durch die Behandlung von zu hohem Blutdruck (Bousser, 2012; Spence, 2012). Kommt es dennoch zu einem Schlaganfall, erleichtern bildgebende Verfahren wie Computertomographie oder MRT heute eine zügige Diagnose und erlauben eine gute Verlaufsdiagnose (Merino & Warach, 2010). Dies ist vor allem im Hinblick auf eine thrombolytische Therapie, bei der das Gerinnsel medikamentös mit Plasminogen-Aktivator-Inhibitoren aufgelöst wird, wichtig. Diese Methode gilt immer noch als eine der erfolgversprechendsten Behandlungsmethoden. Das therapeutische Zeitfenster ist jedoch sehr klein: Wird ein ischämischer Schlaganfall nach bis zu drei Stunden behandelt, so erhöht sich die Chance auf ein besseren Verlauf nachweislich, schon nach sechs Stunden gibt es allerdings keine eindeutigen Behandlungseffekte mehr (Hacke *et al.*, 2004; Wardlaw *et al.*, 2012). Das Risiko einer intrakraniellen hämorrhagischen Blutung steigt bei dieser Therapie jedoch um 5-9 % (Hacke *et al.*, 1998; Hacke *et al.*, 2004). Außerdem gibt es einige neue erfolgsversprechende Ansätze, die Entzündungsantwort nach Schlaganfall zu unterdrücken (vgl. Reviews Macrez *et al.*, 2011; Xing *et al.*, 2012). Weiterhin wird intensiv an Möglichkeiten der Stammzellimplantation geforscht (vgl. Review Kalladka & Muir, 2014). Trotz verschiedener Behandlungsansätze ist die Morbiditäts- und Mortalitätsrate nach Schlaganfall immer noch hoch (Moskowitz *et al.*, 2010).

### 1.1.2 Pathophysiologie nach Schlaganfall

Da der Energiebedarf des Gehirns sehr hoch ist, ist der Glukose- und Sauerstoffvorrat innerhalb kürzester Zeit verbraucht: Das Gehirn macht zwar nur 2 % der Körpermasse aus, verbraucht aber im Ruhezustand schon 20 % der zur Verfügung stehenden Gesamtenergie. 60-80 % des Energiebudgets werden für die Kommunikation und Versorgung von Neuronen und Gliazellen verbraucht (Raichle, 2006; Attwell *et al.*, 2010). Um eine ausreichende Energieversorgung sicherzustellen, liegt der Blutfluss im gesunden Nervengewebe bei über 50 ml/100 g/min (Moustafa & Baron, 2008). Die betroffenen Regionen lassen sich in verschiedene Zonen einteilen, in denen, abhängig davon wie gravierend die Blutflussreduktion ist, irreversible oder aber potentiell reversible Schädigungen des Nervengewebes auftreten (Moustafa & Baron, 2008; Fisher & Bastan, 2012). Eine Blutflussreduktion von unter 10 ml/100 g/min führt innerhalb von 5-10 min zur irreversiblen Schädigung des Nervengewebes (Nekrose; Astrup *et al.*, 1981). Das betroffene Gewebe wird als ischämische Kernregion bezeichnet. Um die Kernregion bildet sich eine sogenannte *ischämische Penumbra* aus, in der Blutfluss zwar auch deutlich reduziert ist, aber noch zwischen 10 und 20-25 ml/100 g/min liegt (Moustafa & Baron, 2008; Fisher & Bastan, 2012). Dieses Gewebe ist zwar potentiell überlebensfähig, der Blutfluss muss sich aber innerhalb eines bestimmten Zeitfensters wieder regenerieren, damit das Gewebe überlebensfähig bleibt. Schon innerhalb von 6 bis 8 Stunden entwickelt sich die Penumbra zur ischämischen Kernregion (Heiss, 2012). Wie schnell es zu irreversiblen Schäden kommt, ist nicht nur vom Blutfluss abhängig, sondern auch gewebsspezifisch (Lo *et al.*, 2003; Heiss, 2012). Abhängig davon wie stark dieser reduziert ist, kommt es in der Penumbra unter anderem zur ATP-Depletion, sowie zur gestörten Proteinsynthese und einem Ionenungleichgewicht (Mies *et al.*, 1991; Heiss, 2012). Die Penumbra stellt folglich die Zone dar, in der therapeutische Interventionen erfolgsversprechend sind. Es gibt Hinweise, dass Neurone und Oligodendrozyten generell schneller auf ischämischen Stress reagieren als Astrozyten und Endothelzellen. Es gibt jedoch auch Unterschiede zwischen verschiedenen Neuronentypen: so sind z.B. bestimmte Zelltypen im Hippokampus und die Purkinjezellen des Cerebellum besonders sensibel (Hamann *et al.*, 2005; Nikonenko *et al.*, 2009; Hamann *et al.*, 2005).

Glukose- und Sauerstoffmangel führen unter anderem in Zellen zur Azidifizierung,

einem Ionenungleichgewicht, oxidativem Stress, Entzündungsreaktionen und Apoptose (Dirnagl *et al.*, 1999; Lipton, 1999; Doyle *et al.*, 2008; Xing *et al.*, 2012). In der Kernregion ist der nekrotische und apoptotische Zelltod eine direkte Folge des Energiedefizits (Xing *et al.*, 2012): Die Energieversorgung des Gehirns erfolgt zum größten Teil über oxidative Phosphorylierung. Daraus folgt, dass eine unzureichende Versorgung mit Sauerstoff und Glukose innerhalb kürzester Zeit dazu führt, dass wenig oder kein ATP mehr produziert werden kann. Der ATP-Spiegel fällt in der Kernregion auf 0-25 % des ATP-Gehalts von gesundem Gewebe ab. In der Penumbra kommt es zu einer Reduktion von 50-70 % des üblichen Vorrats (Lipton, 1999). ATP kann zwar unter anaeroben Bedingungen weiterhin über den Glykolyseweg produziert werden, das dabei entstehende Laktat führt aber zur Azidifizierung der Zelle.

Der Energieverlust bedingt im Anschluss, dass die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase das Membranpotential nicht mehr aufrechterhalten kann und Neuronen und Gliazellen schließlich depolarisieren. Der Verlust des Ionengradienten führt außerdem zu einem Anstieg der extrazellulären Glutamatkonzentration und anderer Neurotransmittern (Phillis *et al.*, 1996). Die Glutamatüberaktivierung bedingt einen weiteren Einstrom von  $\text{Na}^+$  und  $\text{Cl}^-$  in die Zelle. Gleichzeitig strömt  $\text{K}^+$  langsamer aus. Dies trägt u. a. auch zur Ödembildung, der Anschwellung der Zelle, und dem damit verbundenen Schrumpfen des Extrazellulärraums im ischämischen Gebiet bei. Durch den Zusammenbruch des Ionengradienten entsteht ein osmotisches Ungleichgewicht durch das Wasser passiv einströmt (Dirnagl *et al.*, 1999; Simard *et al.*, 2007). Zudem kommt es in der Penumbra und im Kerngebiet zu einer massiven Erhöhung der Kaliumkonzentration, die wiederum eine Kaskade von Reaktionen auslöst, die schließlich zum Zelltod führen kann (Kristian *et al.*, 1998; Doyle *et al.*, 2008). Ein weiterer Stressfaktor für die ischämische Zelle ist die erhöhte Produktion reaktiver Sauerstoffverbindungen, die hauptsächlich in der mitochondrialen Atmungskette entstehen (Olmez & Ozyurt, 2012). Während reaktive Sauerstoffverbindungen unter normalen physiologischen Umständen als Signalmoleküle agieren, von Leukozyten und Makrophagen zur Abwehr von Mikroorganismen produziert werden und eine funktionelle Bedeutung im metabolischen Stoffwechsel darstellen (Zalba *et al.*, 2007; Olmez & Ozyurt, 2012), sind erhöhte Konzentrationen neurotoxisch. Eine weitere wichtige Komponente, die zur Schädigung des Nerven-

gewebes und versorgenden Gliazellen beiträgt, stellt die Immunantwort nach Ischämie dar. Andererseits haben manche Entzündungsfaktoren auch eine neuroprotektive Wirkung. Sowohl neuroprotektive als auch schädigende Entzündungsfaktoren stellen verschiedenste Ansatzpunkte therapeutischer Interventionen nach Ischämie dar (vgl. Review del Zoppo *et al.*, 2007; Iadecola & Anrather, 2011; Xing *et al.*, 2012).

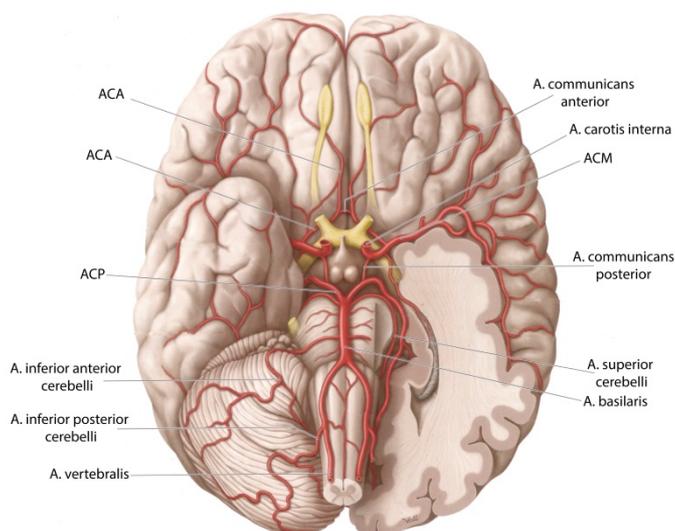
Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bei einem Schlaganfall eine Kaskade von Reaktionen auf zellulärer Ebene ausgelöst wird, die zumindest im Kerngebiet zu einem raschen Zelltod führen. Eine zügige Behandlung eines Schlaganfalls ist vor allem im Hinblick auf die Rettung des umliegenden Gewebes von großer Bedeutung. Je nachdem welche Gefäßgebiete betroffen sind, leiden Patienten unter sehr unterschiedlichen Symptomen. Im Folgenden wird die Blutversorgung des Gehirns beim Menschen und anschließend vergleichend für die Ratte erläutert, bevor auf das klinische Bild nach Verschluss der ACA eingegangen wird.

## **1.2 Blutversorgung des Gehirns bei Mensch und Ratte**

### **1.2.1 Blutversorgung beim Menschen**

Das menschliche Gehirn wird, wie auch das von anderen Säugetieren, über die rechte und linke Arteria (A.) carotis interna (innere Halsschlagader), sowie die paarig angelegte A. vertebralis (Vertebralarterie) versorgt. Die beiden Vertebralarterien gelangen durch das Foramen magnum in die Schädelhöhle. Die Halsschlagadern treten dagegen durch den Karotiskanal (Canalis caroticus) in die Schädelhöhle ein. Nach Eintritt in den Schädel zweigen von den beiden Vertebralarterien zur Versorgung des Rückenmarks die A. spinalis anterior und posterior ab. Nahe der Basis der Pons verbinden sich die beiden Vertebralarterien dann zur A. basilaris (vgl. Abbildung 1). Abzweigende Äste der A. basilaris und der Vertebralarterien perfundieren das Cerebellum und den Hirnstamm u. a. über folgenden Arterien: A. superior cerebelli, A. inferior anterior cerebelli und A. inferior posterior cerebelli (vgl. Abbildung 1, Abbildung 2). An der Hirnbasis stehen die A. basilaris und die rechte und linke A. carotis interna dann über eine ringförmige Struktur in Verbindung, die als Circulus arteriosus Willisii bezeichnet wird (vgl. Abbildung 1). Hier entspringen die drei Hauptarterien des Gehirns und zwar die A. cerebri ante-

rior (ACA), die A. cerebri media (ACM) und die A. cerebri posterior (ACP). Die A. basilaris spaltet an der Basis des Circulus arteriosus Willisii die paarig angelegte ACP ab. Aus der rechten und linken A. carotis interna entspringen hingegen jeweils eine rechte und linke ACA und ACM. Die ringförmige Struktur des Circulus arteriosus Willisii entsteht durch die A. communicans anterior und posterior: Die A. communicans posterior verbindet die rechte und linke ACP jeweils mit der A. carotis interna. Nahe des Chiasma opticum schließt die A. communicans anterior den Circulus arteriosus Willisii dann, indem sie die rechte und linke ACA verbindet (Schüncke *et al.*, 2006; Nieuwenhuys *et al.*, 2008a).



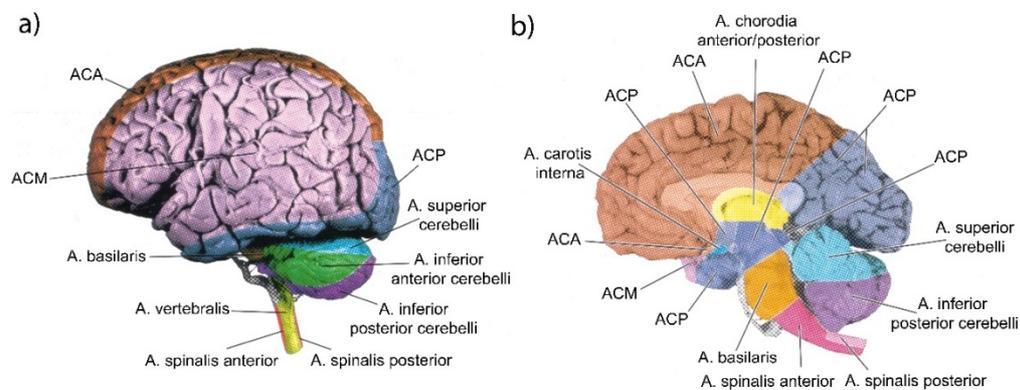
**Abbildung 1: Darstellung des Circulus arteriosus Willisii beim Menschen.** Das Gehirn wird über die paarig angelegte A. carotis interna und die unpaarige A. basilaris versorgt. Über den Circulus arteriosus Willisii, eine ringförmige Struktur an der Hirnbasis, stehen die Arterien in Verbindung und spalten die drei Hauptarterien des Gehirns ab und zwar die ACA, ACM und die ACP. Die beiden ACPs stehen mit der A. carotis interna jeweils über die A. communicans posterior in Verbindung. Nahe des Chiasma

opticum verbindet die A. communicans anterior die beiden Stränge der ACA, so dass sich die ringförmige Struktur des Circulus arteriosus Willisii schließt. **Modifiziert nach Schüncke *et al.*, 2006.**

(**Abk.:** A.: Arteria, ACA: A. cerebri anterior, ACM: A. cerebri media, ACP: A. cerebri posterior).

Abbildung 2 zeigt die Versorgungsgebiete der drei Hauptgefäße des menschlichen Gehirns. Die ACM perfundiert die laterale Oberfläche des Lobus frontalis, parietalis, temporalis und occipitalis, sowie die Insula. Zusammen mit der ACA sowie Ästen der A. communicans posterior versorgt die ACM außerdem die Basalganglien, den Thalamus und die Capsula interna (Brust, 2000; Nieuwenhuys *et al.*, 2008a). Die ACA übernimmt zusammen mit der ACP die Versorgung der medialen Oberfläche des Gehirns, wobei die ACA den medialen Lobus frontalis und parietalis, anteriore Teile des Corpus callosums, frontobasale Teile des zerebralen Kortex, das anteriore Diencephalon und Teile der Basalganglien perfundiert (vgl. 1.2.2; Brust *et al.*, 2001). Die ACP versorgt hingegen den medialen Lobus temporalis und occi-

pitalis. Das Versorgungsgebiet der A. choroidea (anterior und posterior), die den anterioren Hippokampus, sowie den posterioren Schenkel der Capsula interna versorgt, ist auch in Abbildung 2 b dargestellt. Diese Arterie wird bei den meisten Menschen von der A. carotis interna, selten aber auch von der ACM abgespalten (Brust, 2000; Nieuwenhuys *et al.*, 2008a). Abzweigende Äste der A. vertebralis und der A. basilaris (u. a. A. inferior superior cerebelli, A. inferior posterior cerebelli, A. inferior anterior cerebelli, A. spinalis anterior, A. spinalis posterior) versorgen das Rückenmark, den Hirnstamm und das Cerebellum.



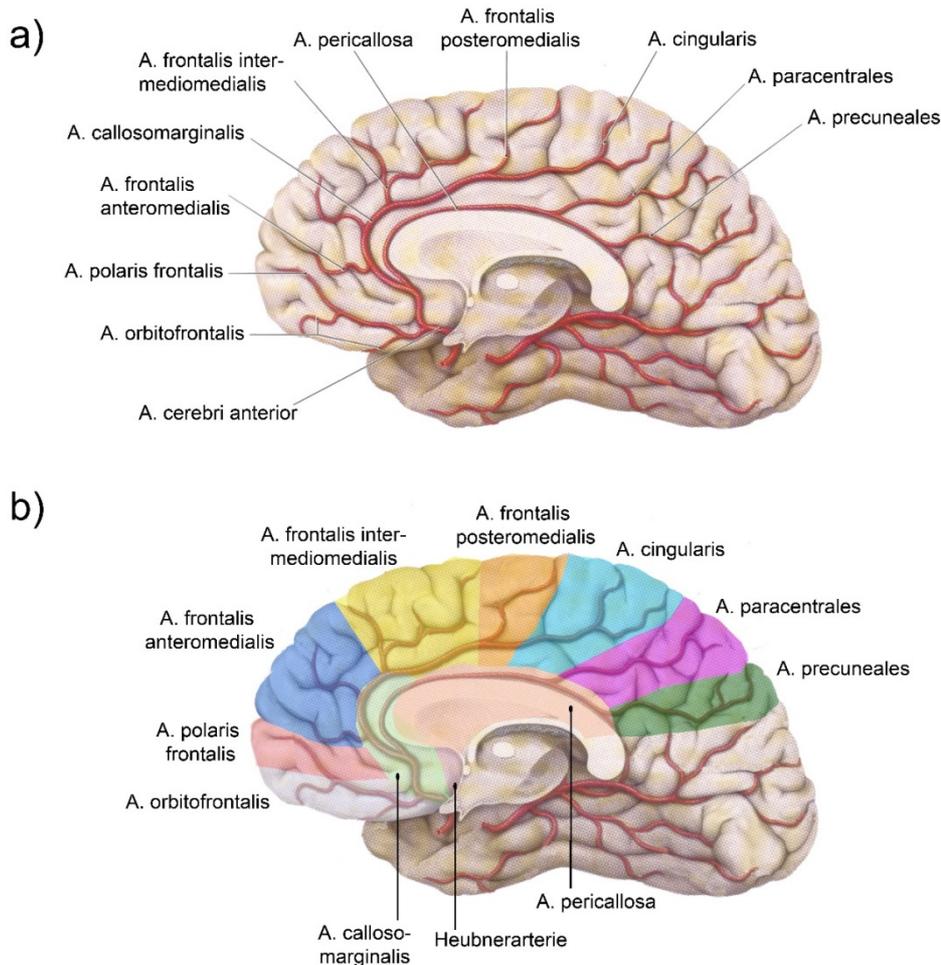
**Abbildung 2: Versorgungsgebiete der drei Zerebralarterien sowie abzweigender Äste der A. vertebralis und der A. basilaris aus lateraler Sicht (a) und im mediosagittalen Schnitt (b).** Wie aus Abbildung a) ersichtlich versorgt die ACM beim Menschen die laterale Oberfläche des Lobus frontalis, parietalis, temporalis und occipitalis, sowie die Insula. Zusammen mit der ACP perfundiert die ACA die mediale Oberfläche des Gehirns, wobei die ACA den medialen Lobus frontalis und parietalis, anteriore Teile des Corpus Callosums, frontobasale Teile des zerebralen Kortex, das anteriore Diencephalon und Teile der Basalganglien perfundiert. Die ACP versorgt hingegen den medialen Lobus temporalis und occipitalis. Außerdem werden von der ACM, der ACA und Ästen der A. communicans posterior gemeinsam die Basalganglien, der Thalamus und die Capsula interna perfundiert. Abzweigende Äste der A. vertebralis und der A. basilaris (u. a. A. inferior superior cerebelli, A. inferior posterior cerebelli, A. inferior anterior cerebelli, A. spinalis anterior, A. spinalis posterior) versorgen das Rückenmark, den Hirnstamm und das Cerebellum. Abgebildet ist außerdem das Versorgungsgebiet der A. choroidea (anterior und posterior), die meist aus der A. carotis interna und selten aus der ACM hervorgeht. Dieses Gefäß versorgt den anterioren Hippokampus, sowie den posterioren Schenkel der Capsula interna. **Modifiziert nach Woosley *et al.*, 2008.**

(Abk.: A.: Arteria, ACA: A. cerebri anterior, ACM: A. cerebri media, ACP: A. cerebri posterior).

### 1.2.2 Verlauf der anterioren Zerebralarterie beim Menschen

Das Versorgungsgebiet der ACA beim Menschen ist im Detail in Abbildung 3 dargestellt. Die ACA kann nach Fischer (1938) aufsteigend vom Circulus arteriosus Willisii in fünf Segmente eingeteilt werden und zwar A1-A5 (Perlmutter & Rhoton, 1978; Brust *et al.*, 2001). Das Segment A1 entspricht dem Arterienabschnitt zwischen der A. carotis interna und der A. communicans anterior (vgl. auch Abbildung 1). Dieser Abschnitt wird auch als proximales und alle folgenden Abschnitte (A2-A5) als distales ACA-Versorgungsgebiet zusammengefasst (Brust *et al.*, 2001).

Über Äste, die sich nahe der Bifurkation der A. carotis interna vom A1-Segment abspalten, wird das Knie sowie der posteriore Schenkel der Capsula interna, der rostrale Thalamus und große Teile des Hypothalamus versorgt. Die A. communicans anterior verbindet, wie oben erläutert, den rechten und linken ACA-Strang, spaltet aber auch Äste zur Versorgung des anterioren Hypothalamus, des Chiasma opticum, des Fornix, des Genu des Corpus callosum sowie des Ncl. Accumbens und septalen Nuclei des basalen Vorderhirns ab (Perlmutter & Rhoton, 1976b; Dunker & Harris, 1976; Brust *et al.*, 2001). Meist geht aus dem A2- und selten aus dem A1 Segment, die Heubner-Arterie hervor (Abbildung 3 b), über die obere Abschnitte des Ncl. caudatus, die anteriore Capsula interna, der anteriore Globus pallidus, das Putamen sowie der anteriore Hypothalamus perfundiert werden (Perlmutter & Rhoton, 1976a; Dunker & Harris, 1976; Brust *et al.*, 2001). Das distale ACA-Gebiet wird normalerweise von zwei weiteren Hauptgefäßen versorgt und zwar der A. pericallosa und der sich etwas später abspaltenden A. callosomarginalis (vgl. Abbildung 3; Perlmutter 1978; Brust 2001). Manchmal ist die A. callosomarginalis nicht präsent. In diesem Fall spalteten sich alle kortikalen Äste von der A. pericallosa ab (Perlmutter & Rhoton, 1978).



**Abbildung 3: Verlauf (a) und Versorgungsgebiete (b) der distalen Äste der ACA beim Menschen.** Die farblich markierten Flächen in b) zeigen das jeweilige Versorgungsgebiet der in a) bezeichneten abzweigenden Äste der ACA. **A und b)** Die Heubner-Arterie versorgt obere Teile des Nucleus (Ncl.) caudatus, anteriore Teile der Capsula interna, den anterioren Globus pallidus, das Putamen sowie den anterioren Hypothalamus. Alle späteren Versorgungsabschnitte der ACA werden meist von zwei korikalen Gefäßen übernommen und zwar der A. pericallosa und der A. callosomarginalis, die sich in acht Äste aufteilen: Orbitomediale Teile des Lobus frontalis, des Gyrus rectus, sowie des Bulbus und Tractus olfaktorius werden von der A. orbitofrontalis versorgt. Die A. polaris frontalis zieht in den rostral gelegenen Polus frontalis. Den Gyrus frontalis superior versorgen die Abschnitte der A. frontalis anteromedialis, intermediomialis und posteromedialis gemeinsam. Das Versorgungsgebiet der A. frontalis posteromedialis umfasst zudem Teile des Gyrus cinguli. Der Lobus paracentralis wird hingegen von der A. paracentrales perfundiert. Schließlich wird der Precuneus sowie angrenzende Strukturen des Cuneus von der A. parietalis superior und inferior versorgt. Die A. pericallosa spaltet außerdem weitere Äste ab, die rostrale Teile des Corpus callosum (Rostrum, Genu, Tractum) versorgen. Das Splenium wird hingegen meistens nur von Gefäßen der ACP versorgt und selten von Ästen der A. pericallosa (Brust et al. 2001). **Modifiziert nach** Kumral *et al.*, 2002 und Schüncke *et al.*, 2006.

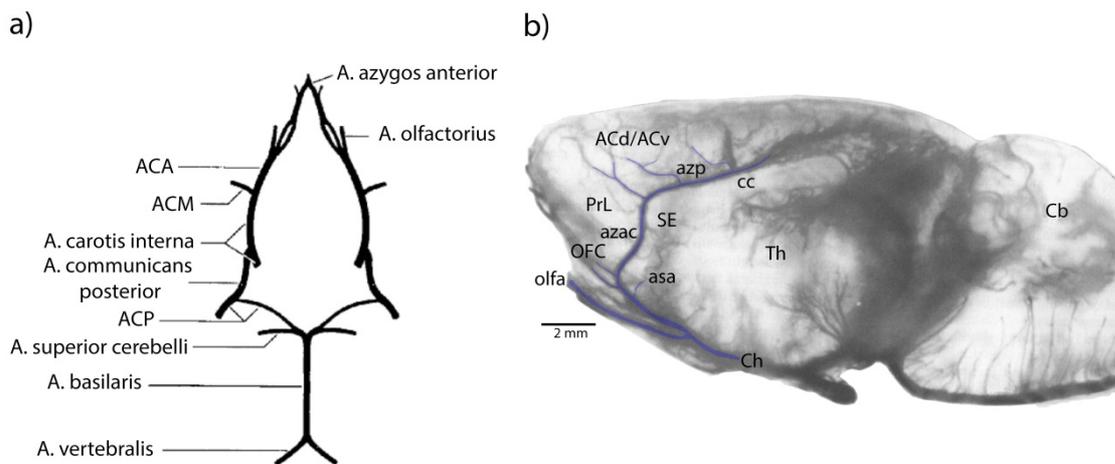
(Abk.: A.: Arteria).

Von den beiden Hauptgefäßen der distalen ACA zweigen normalerweise acht Äste ab, um die anterioren und medialen kortikale Areale zu versorgen (Brust *et al.*, 2001). Der Verlauf und die Versorgungsgebiete der kortikalen Äste sind in Abbildung 3 a und b dargestellt (Perlmutter & Rhoton, 1978; Brust *et al.*, 2001; Kumral *et al.*, 2002). Während die A. orbitofrontalis den orbitomedialen Abschnitt des Lobus frontalis, den Gyrus rectus, sowie den Bulbus und Tractus olfaktorius versorgt, zieht die A. polaris frontalis in den rostral gelegenen Polus frontalis. Der Gyrus frontalis superior wird gemeinsam von der A. frontalis anteromedialis, der A. frontalis intermediomedialis und der A. frontalis posteromedialis versorgt. Das Versorgungsgebiet der A. frontalis posteromedialis umfasst zudem Teile des Gyrus cinguli. Der Lobus paracentralis wird hingegen von der A. paracentralis perfundiert. Schließlich wird der Precuneus sowie angrenzende Strukturen des Cuneus von der A. parietalis superior und inferior perfundiert. Die A. pericallosa spaltet außerdem weitere Äste ab, die rostrale Abschnitte des Corpus callosum (Rostrum, Genu, Tractum) versorgen. Das Splenium wird hingegen meistens nur von Gefäßen der ACP und selten von Ästen der A. pericallosa perfundiert (Brust *et al.* 2001). Die Blutversorgung des Gehirns bei der Ratte ist der humanen sehr ähnlich (Lee *et al.* 1995, Scremin, 2004). Dies wird im Folgenden näher erläutert.

### **1.2.3 Verlauf der anterioren Zerebralarterie bei der Ratte**

Auch bei der Ratte sind die Hauptversorgungsgefäße des Gehirns eine rechte und linke A. vertebralis und die paarige A. carotis interna (vgl. 1.2.1). Die beiden Vertebralarterien schließen sich wie beim Menschen zur A. basilaris zusammen und sind genauso an der Hirnbasis über den Circulus arteriosus Willisii verbunden. Abbildung 4 a stellt den Circulus arteriosus Willisii der Ratte dar. Die ACA und die ACM spalten sich auch bei der Ratte von der A. carotis interna ab, während die ACP aus der A. basilaris hervorgeht. Bei beiden Spezies übernimmt die ACM den größten Teil der Blutversorgung (Lee, 1995). Während sich der obere Teil des Arterienrings beim Menschen, wie oben erwähnt (vgl. 1.2.1), durch die verbindende A. communicans anterior schließt, fehlt diese Arterie bei Ratten (Brown, 1966 Lee, 1995). Außerdem geht die ACA in der Regel unpaarig aus dem Circulus arteriosus Willisii hervor: Die beiden Gefäße treffen auf Höhe des dorsalen Chiasma opticum zusammen, formen die A. azygos anterior und schließen so den Arterienring. Bei

Ratten besteht jedoch bezüglich der A. azygos anterior eine große Varianz und bei ca. 20 % verbinden sich die beiden ACA-Gefäße erst nach dem Circulus arteriosus cerebri und sind vorher nur über Anastomosen verbunden (Brown, 1966, Lee, 1995). Im Gegensatz zum Menschen ist die A. carotis interna bei der Ratte außerdem Bestandteil des Rings (Lee, 1995). Ein weiterer Unterschied zwischen beiden Spezies liegt darin, dass bei Ratten im Circulus arteriosus Willisii eine robuste A. olfaktorius aus der ACA hervorgeht, die beim Menschen nur embryonal vorhanden ist und sich dann weitestgehend zurückbildet (Brown, 1966).



**Abbildung 4: a) Circulus arteriosus Willisii bei der Ratte:** Auch bei der Ratte wird das Gehirn jeweils über eine rechte und linke A. carotis interna und A. vertebralis versorgt. Beide Vertebralarterien schließen sich zur A. basilaris zusammen und stehen über den Arterienring an der Hirnbasis mit der A. carotis interna in Verbindung. Im Circulus arteriosus Willisii spaltet die A. carotis interna die ACA und die ACM ab, während die ACP aus der A. basilaris hervorgeht. Die ACA geht meistens unpaarig aus dem Arterienring hervor und bildet die A. azygos anterior cerebri. **b) Verlauf der ACA bei der Ratte (Mediosagittalschnitt):** Die ACA versorgt bei der Ratte den Bulbus olfaktorius, rostrale Gebiete des Ncl. Accumbens, Teile des Septums und den frontalen Kortex. Während der größte Teil des Bulbus olfaktorius über eine robuste A. olfaktorius versorgt wird, die sich noch im Arterienring von der ACA abspaltet, werden kortikale Areale vor allem über abzweigende Äste der A. azygos anterior cerebri versorgt. Die A. azygos anterior cerebri wird im weiteren Verlauf zur A. azygos pericallosal. und spaltet außerdem zur Versorgung des Septums die septale Arterie ab (Scremin, 2004). Modifiziert nach Lee, 1995 (a) und nach Scremin, 2004 (b).

(**Abk.:** ACd: dorsaler zingulärer Kortex, ACv: ventraler zingulärer Kortex, asa: septale Arterie, azp: Arteria azygos pericallosa, azac: A. azygos anterior cerebri, Cb: Cerebellum, cc: Corpus callosum, OFC: orbitofrontaler Kortex, PrL: prälimbischer Kortex, Th: Thalamus, Ch: Chiasma opticum).

Die A. olfaktorius zieht bei der Ratte vom Chiasma opticum zum Bulbus olfaktorius von wo aus auch die Nasenhöhlen versorgt werden. Über abzweigende Äste werden außerdem noch kleine Teile des ventralen Pallidums und der Stria diagonalis versorgt (Scremin, 2004). Das Versorgungsgebiet der ACA umfasst bei der Ratte den Bulbus olfaktorius, den frontalen Kortex, sowie Teile des Ncl. Accumbens und des Septums (Scremin, 2004). Wie in Abschnitt 1.4 noch ausführlicher erläutert wird, setzt sich der frontale Kortex der Ratte aus einem prä- und infralimbischen, zingulären und orbitofrontalen Kortex (OFC) zusammen, die bei der Ratte alle von der ACA versorgt werden. Auf den weiteren Verlauf der ACA sowie die abzweigenden Äste (vgl. Abbildung 4 b) wird im Folgenden näher eingegangen.

Wie oben erwähnt geht die ACA unpaarig aus dem Circulus arteriosus Willisii hervor. Die A. azygos anterior cerebri spaltet dann die laterale A. orbitofrontalis ab, die den olfaktorische Tuberculum, ventrale Teile des Bulbus olfaktorius und rostrale Gebiete des Ncl. Accumbens versorgt (Scremin, 2004). Außerdem wird auf Höhe des rostralen Striatums eine rechte und linke mediale A. orbitofrontalis abgespalten, die frontale Areale versorgt und zwar den medialen und ventralen orbitofrontalen Kortex, den anterioren zingulärer Kortex (ACC) und den medialen frontalen Kortex. Über die mediale A. orbitofrontalis werden auch dorsale Teile des Bulbus olfaktorius perfundiert. Für die Versorgung des medialen Septums sowie vertikale Teile der Stria diagonalis wird die septale Arterie abgespalten. Weitere abzweigende Äste der A. azygos anterior cerebri ziehen in rostrale Kerne des Septums. Die A. azygos anterior cerebri selbst verläuft weiter in Richtung Corpus callosum und wird zur A. azygos pericallosa. Hier spalten sich die anteriore und mediale A. frontalis internalis ab, die den mittleren zingulären Kortex und den medialen frontalen Kortex versorgen. Im weiteren Verlauf der A. azygos pericallosa wird noch die posteriore A. frontalis internalis abgespalten, die den retrosplenialen Kortex perfundiert, der auch als posteriorer zingulärer Kortex bezeichnet wird (Uylings *et al.*, 2003). Anschließend trifft die A. azygos pericallosa auf Äste der ACM, mit der sie über Anastomosen verknüpft ist (Scremin, 2004). Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass das Versorgungsgebiet der ACA bei der Ratte wie beim Menschen auch, vor allem den frontalen Kortex umfasst. Trotz der Ähnlichkeiten zwischen beiden Spezies müssen jedoch einige wesentliche Unterschiede wie z. B. der Zusammenschluss der ACA-Gefäße im Circulus arteriosus Willisii bei

der Ratte beachtet werden (Lee, 1995; Scremin, 2004). Nun wird auf das klinische Bild nach Okklusion der anterioren Zerebralarterie beim Menschen eingegangen.

### **1.3 Klinisches Bild nach Okklusion der anterioren Zerebralarterie**

Während ischämische Infarkte häufig das Versorgungsgebiet der ACM betreffen (51 - 67 %), liegt die Ursache seltener im Verschluss der ACA (1,3- 5 %) oder ACP (4,9 - 14,1%; Gacs *et al.*, 1983; Ghandehari & Izadi-Mood, 2007; Ng *et al.*, 2007b).

Je nachdem welcher Abschnitt des ACA-Gefäßes okkludiert ist, kann das klinische Bild sehr heterogen ausfallen. Meist liegt ein unilateraler, seltener ein bilateraler Infarkt vor (Kumral *et al.*, 2002; Kang & Kim, 2008; Arboix *et al.*, 2009; Kobayashi *et al.*, 2011). Während verschiedenen Studien zufolge die A. frontalis intermedio-medialis und die A. frontalis posteromedialis häufig betroffen sind, okkludieren die A. orbitofrontalis und die A. paracentralis etwas seltener (Nagaratnam *et al.*, 1998; Kubis *et al.*, 1999; Kumral *et al.*, 2002).

Nach Okklusion der ACA treten bei 43-61 % der Patienten apathische Störungen wie z. B. Hypobulie oder Abulie auf (Kumral *et al.*, 2002; Kang & Kim, 2008). Als apathische Störungen werden Motivationsstörungen zusammengefasst, die dazu führen, dass Patienten unentschlossen und interessenslos wirken und deutlich weniger selbstinitiiert und zielgerichtet agieren (vgl. auch 1.5). Diese Störung ist weder auf psychische Niedergeschlagenheit, noch auf motorische Defizite zurückzuführen (Marin, 1990; Levy & Dubois, 2006). Je nach Schweregrad wird zwischen Hypobulie (eingeschränkte Willenlosigkeit) und Abulie (krankhafte Willenlosigkeit) unterschieden (Kumral *et al.*, 2002; Kang & Kim, 2008). Vor allem nach bilateraler Läsion, aber auch nach unilateraler, leiden Patienten unter anderem an akinetischem Mutismus, einer Kommunikationsstörung bei der der Patient verstummt, ohne dass eine Beeinträchtigung des Sprachzentrums oder der Sprechorgane vorliegt. Häufig tritt akinetischer Mutismus jedoch nur transient auf (Nagarathnam 1998; Nagarathnam 2004, Bird 2004). Apathische Störungen gehen bei ACA-Patienten häufig mit Läsionen im Gyrus cinguli, im supplementär-motorischen Areal (SMA) oder im Ncl. caudatus einher (Nagaratnam *et al.*, 1998; Kumral *et al.*, 2002, Kang & Kim, 2008; Kobayashi *et al.*, 2011). Auf die neurobiologischen Grundlagen apathischer Störungen wird in Abschnitt 1.5 näher eingegangen.

Etwa ein Viertel der ACA-Patienten leiden unter Sprachstörungen wie Dysarthrie oder verschiedenen Aphasien, die vor allem mit uni- oder bilateralen Läsionen in der SMA korrelieren (Nagaratnam *et al.*, 1998; Kumral *et al.*, 2002). Transkortikale Aphasie, eine Sprachstörung, bei der Patienten zwar nicht in der Lage sind selbstständig zu formulieren, das Nachsprechen aber noch gelingt, treten insgesamt häufiger auf als globale. Bei globaler Aphasie gelingt auch das Nachsprechen nicht oder kaum noch (Brust *et al.*, 2001; Arboix *et al.*, 2009).

ACA-Patienten leiden zudem häufig unter kognitiven Einschränkungen wie Problemen bei der Planung von Handlungen, Aufmerksamkeitsschwierigkeiten und Erinnerungsdefiziten (Bird *et al.*, 2004; Yamauchi *et al.*, 2011). Während Aufmerksamkeits- und Handlungsdefizite vor allem mit Läsionen im anterioren Gyrus cinguli und dem medialen Gyrus frontalis korrelieren (Yamauchi *et al.*, 2011), kommen Störungen mit Erinnerungsdefiziten bei Läsionen in keinem bestimmten Areal vor (Bird *et al.*, 2004; Kobayashi *et al.*, 2011). Auch Einschränkungen des visuell-räumlichen Vorstellungsvermögens nach ACA-Infarkt wurden beschrieben (Zhou *et al.*, 2013). Manche Patienten leiden zudem unter einem sogenannten motorischen Neglect, einer Bewusstseinsstörung, bei der die kontraläsionale Körperseite vermindert in Bewegungsabläufe integriert wird, weil sie vom Betroffenen nicht wahrgenommen wird (Karnath, 2002). Diese Störung wird bei ACA-Patienten mit Läsionen im medialen Lobus frontalis, inklusive der SMA assoziiert (Nagaratnam *et al.*, 1998; Brust *et al.*, 2001).

Bei über der Hälfte der ACA-Patienten kommt es außerdem zu verschiedenen motorischen Symptomen (Nagaratnam *et al.*, 1998; Kumral *et al.*, 2002; Kang & Kim, 2008; Arboix *et al.*, 2009). Ein typisches motorisches Symptom nach ACA-Infarkt ist die Bein- und Fußhemiparese und etwas seltener auch eine Armparese. Paresen treten vor allem auf, wenn Läsionen in der SMA und im Lobus paracentralis vorliegen und gehen häufig mit sensorischen Defiziten in dem betroffenen Körperglied einher (Nagaratnam *et al.*, 1998; Kumral *et al.*, 2002; Kang & Kim, 2008). Bei Gesichtsfeldparesen ist häufig das Versorgungsgebiet der Heubner-Arterie betroffen (Kumral *et al.*, 2002). Außerdem kommt es vor allem bei Läsionen in der SMA sowie subkortikalen Läsionen zu parkinsontypischen motorischen Symptomen wie Akinese, Rigidität oder motorischer Instabilität (Nagaratnam *et al.*, 1998; Kumral *et al.*, 2002; Kobayashi *et al.*, 2011). Inkontinenz wird mit bilateralen und/oder

größeren Läsionen nach einem ACA-Infarkt und Läsionen im medialen und superioren Anteil des Lobus frontalis in Verbindung gebracht (Andrew & Nathan, 1964; Kumral *et al.*, 2002). Im Folgenden werden bisherige Tiermodelle zur Untersuchung eines Schlaganfalls nach ACA-Okklusion erläutert.

### 1.3.1 Bisherige Tiermodellstudien

Während es zahlreiche Arbeiten gibt, die die Folgen eines Schlaganfalls im Versorgungsgebiet der ACM untersuchen (vgl. Review Howells *et al.*, 2010), gibt es nur wenige Studien, die sich mit Defiziten nach einem Verschluss der ACA beschäftigen (Ward *et al.*, 1998; Schwartz & Pile-Spellman, 2011; Cordova *et al.*, 2014; Endepols *et al.*, 2014). In drei der zitierten Studien wurde eine bilaterale ACAo bei Ratten durch die Injektion von Endothelin-1 (ET-1) induziert und die Effekte mit verschiedenen Verhaltenstests überprüft (Ward *et al.*, 1998; Cordova *et al.*, 2014; Endepols *et al.*, 2014). Bei ET-1 handelt es sich um eine endogene Substanz, die gefäßverengend wirkt und zu einer deutlichen Reduktion des Blutflusses führt (Nikolova *et al.*, 2009). Die ACAo führte in allen Studien zu bilateralen Läsionen im ACC und in zwei Studien war auch der prälimbische Kortex betroffen (Ward *et al.*, 1998, Endepols *et al.*, 2014). Wie im Abschnitt 1.4 noch ausführlicher dargelegt wird, weist der ACC und auch der prälimbische Kortex der Ratte Ähnlichkeiten zu einigen präfrontalen Arealen beim Menschen auf.

In der Studie von Ward *et al.* (1998) wurde von verlängerten Reaktionszeiten sowie einer erhöhten Fehlerrate in einem Aufmerksamkeitstest berichtet. Beobachtet wurde eine Beeinträchtigung der Aufmerksamkeit nach ACAo auch von Cordova *et al.* (2014) sowie in vorherigen, eigenen Experimenten (Höfener, 2010). In einer weiteren Studie unserer Arbeitsgruppe wurde eine Reduktion zielgerichteten Verhaltens beobachtet (Endepols *et al.*, 2014). Die bisherigen Studien zur Untersuchung von Verhaltensdefiziten nach ACAo weisen also daraufhin, dass es bei der Ratte nach ACAo zu ähnlichen Defiziten kommt wie beim Menschen. Obwohl verlängerte Reaktionszeiten auf ein motivationales Defizit hinweisen könnten, wurde Motivation *per se*, soweit uns bekannt, bisher nach ACAo im Tiermodell nicht explizit untersucht. Im folgenden Abschnitt werden zunächst Funktionen des präfrontalen Kortex von Primaten und Ratten verglichen.

Im Anschluss werden die neurobiologischen Grundlagen von motivations- und belohnungsassoziiertem Verhalten erläutert.

#### **1.4 Präfrontaler Kortex**

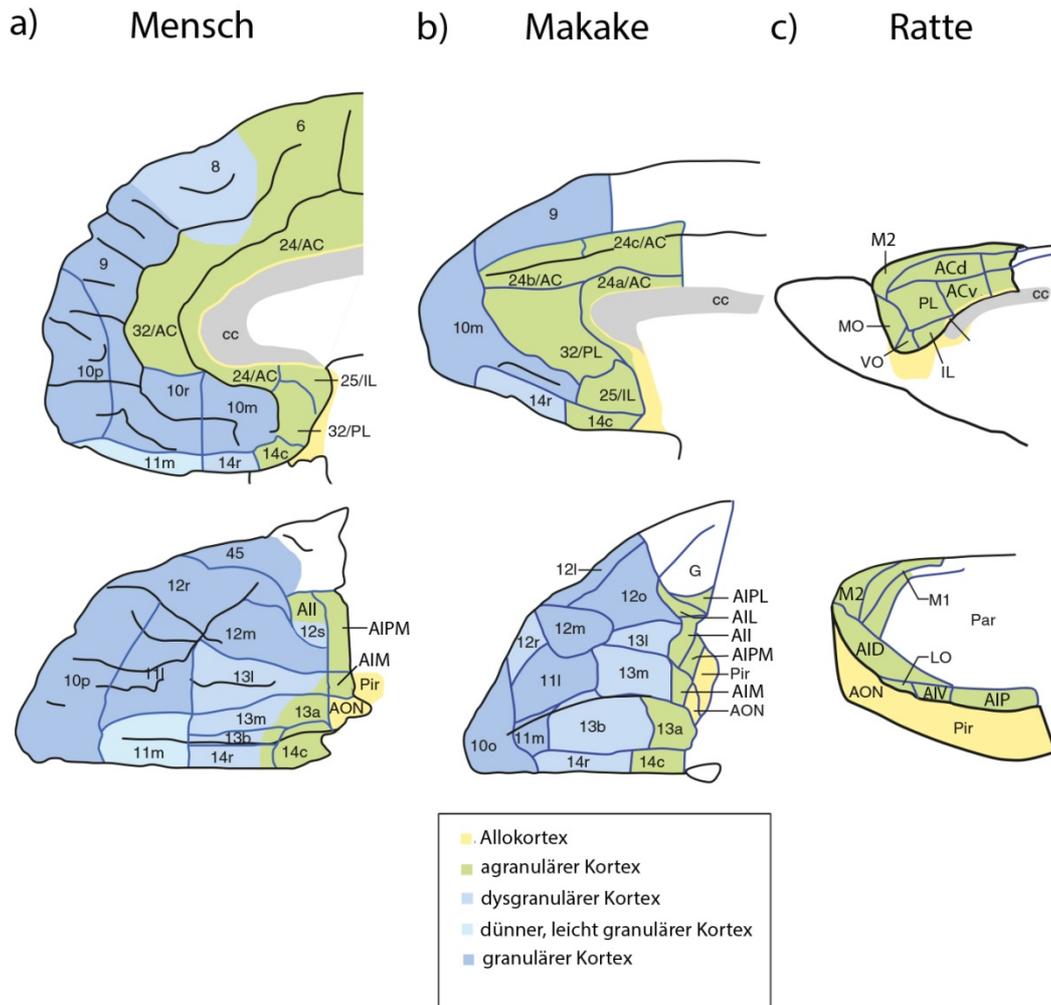
Der präfrontalen Kortex (PFC) stellt das Kontrollorgan unserer Handlungen und Emotionen dar und übernimmt verschiedenste komplexe Hirnfunktionen. Hier werden Informationen aus unterschiedlichen sensorischen und motorischen Arealen integriert, um höhere Kognitivfunktionen wie Entscheidungsfindung, Problemlösung, Handlungsflexibilität oder abstraktes Denken zu regulieren. Läsionen im PFC können daher zu unterschiedlichen Beeinträchtigungen der Kognition, sowie zu Veränderungen des Gefühlslebens und auch der Persönlichkeit führen (Fuster, 2001, Nieuwenhuys *et al.*, 2008b).

Im Gegensatz zu anderen kortikalen Arealen wie dem Prämotor- und Motorkortex ist der PFC von Primaten durch zwei wesentliche Merkmale charakterisiert: Erstens verfügt der PFC über eine vierte Schicht mit granulärer Struktur, die auch als *Stratum granulosum internum* bezeichnet wird. Zweitens bestehen starke reziproke Verbindungen zum mediodorsalen Thalamus (Nieuwenhuys *et al.*, 2008b). Allerdings sind dies keine Absolutmerkmale, da vor allem der caudobasale Teil des PFCs keine vierte Kortexschicht mit granulärer Struktur aufweist (vgl. Abbildung 5), der PFC auch in andere thalamische Nuclei projiziert und der mediodorsale Thalamus nicht ausschließlich in den PFC projiziert (Preuss & Goldman-Rakic, 1991; Uylings *et al.*, 2003; Nieuwenhuys *et al.*, 2008b). Der gesamte PFC verfügt über dichte reziproke Verbindungen zu den Basalganglien und erhält Informationen aus verschiedenen sensorischen Assoziationsfeldern (Nieuwenhuys *et al.*, 2008b). Wie im Folgenden näher erläutert wird, wird eine Homologisierung zwischen Arealen des präfrontalen Kortex von Primaten und Ratten in der Literatur kontrovers diskutiert (Preuss, 1995; Uylings *et al.*, 2003; Dalley *et al.*, 2004; Wise, 2008).

Abbildung 5 zeigt den PFC von Primaten im Vergleich zum frontalen Kortex von Ratten. Die Einteilung des PFC von Menschen und Affen basiert auf Arbeiten von Brodmann (1909) und Walker (1940). Die klassische Einteilung wurde jedoch nach den Erkenntnissen neuer anatomischer Vergleichsstudien von Öngur *et al.*

(2003) und Petrides und Panja (2002) angepasst, vor allem um eine bessere Vergleichbarkeit zwischen Menschen und nicht-humanen Primaten zu ermöglichen (Nieuwenhuys *et al.*, 2008b). Der PFC kann bei Primaten im wesentlichen in einen medialen, orbitalen und lateralen Abschnitt unterteilt werden. Die Brodmann Areale 8-10, 46 und 47 werden als lateraler PFC zusammengefasst, die Areale 11-14 entsprechend als orbitaler PFC und der mediale PFC schließt mediale Abschnitte der Areale 9, 10 und 14, sowie die Areale 24, 25 und 32 ein (Nieuwenhuys *et al.*, 2008b). Die ähnliche Struktur des PFCs von Menschen und Makakenaffen geht aus Abbildung 5 deutlich hervor. Vor allem die frontal gelegenen Areale verfügen bei Primaten über eine granuläre Struktur. In den als „dysgranulär“ oder „leicht granulär“ bezeichneten Arealen ist eine vierte Kortexschicht mit weniger ausgereifter granulärer Struktur vorhanden. Vor allem im medialen PFC, aber auch in einem Areal des orbitalen PFC (Areal 14 c) fehlt das Stratum granulosum internum komplett (vgl. Abbildung 5; Wise, 2008).

Wie aus der Abbildung 5 deutlich hervorgeht verfügt der frontale Kortex von Ratten über kein Stratum granulosum internum und ist daher agranulär (Preuss, 1995). Der frontale Kortex der Ratte kann in einen medialen und orbitalen frontalen Kortex eingeteilt werden. Der prä- und infralimbische Kortex, der dorsale und ventrale ACC sowie der sekundäre motorische Kortex, werden auch als medialer präfrontaler Kortex (mPFC) zusammengefasst. Der OFC der Ratte besteht aus einem medialen, dorsolateralen, ventrolateralen und lateralen Areal (Ongur & Price, 2000). In manchen Studien wird der mediale OFC jedoch auch dem mPFC zugeordnet (Dalley *et al.*, 2004).



**Abbildung 5: Vergleich zwischen dem PFC von Primaten und dem frontalen Kortex von Ratten.** a) und b) Anatomischer Aufbau des präfrontalen Kortex beim Menschen (a) und beim Makaken-Affen (b) aus medialer (oben) und ventraler Sicht (unten). c) Aufbau des frontalen Kortex der Ratte aus medialer (oben) und lateraler Sicht (unten). a-c) Während bei Primaten vor allem der laterale und orbitale Kortex über eine granuläre Struktur verfügt, fehlt diese im frontalen Kortex von Ratten. Eine Homologisierbarkeit zwischen frontalen Arealen der Ratte mit den agranulären Arealen des PFC von Primaten (vor allem ACC, 25/IL, 32/PL; in grün dargestellt) gilt als wahrscheinlich. Ob frontale Areale der Ratte jedoch auch Ähnlichkeiten mit Arealen von Primaten haben, die mit höheren Kognitivfunktionen assoziiert werden (z. B. dorsolateraler PFC) und eine granuläre Struktur aufweisen, wird kontrovers diskutiert (vgl. Text). **Modifiziert nach Wise 2008 und Wallis 2012.**

(Abk.: AC: anteriorer zingulärer Kortex, Aid: dorsaler agranulärer insulärer Kortex, Ali: inferiorer, agranulärer insulärer Kortex; All: agranulärer lateraler insulärer Kortex, Alm: medialer agranulärer insulärer Kortex, Alp: posteriorer agranulärer insulärer Kortex, Alpm: posteriomedialer agranulärer insulärer Kortex, Alv: ventraler agranulärer insulärer Kortex, AON: anteriorer Nucleus olfactorius, c: caudal, d: dorsal, i: inferior, IL: infralimbischer Kortex, l: lateral, LO: lateraler orbitaler Kortex, M1: primär-motorischer Kortex, m: medial, M2: sekundärer motorischer Kortex, MO: medialer orbitofrontaler Kortex, o: orbital, r: rostral, p: posterior, Par: parietaler Kortex, Pir: piriformer Kortex, s: sulcal, v:ventral).

Wie bei Primaten schließen sich bei Ratten verschiedene Areale des akzessorisch-olfaktorischen Systems inklusive dem piriformen Kortex und dem anterioren Ncl. olfactorius an den frontalen Kortex an, die dem Allokokortex zugeordnet werden (vgl. Abbildung 5; Wise, 2008). Wie oben bereits erwähnt ist umstritten, welche Areale des frontalen Kortex der Ratte mit Arealen im PFC von Primaten homolog oder funktionell ähnlich sind. Es gibt einigen Arbeiten, die eine Homologisierung des prä- und infralimbischen Kortex der Ratte mit dem ACC, dem Areal 32/PL und 25/IL vorschlagen (vgl. Abbildung 5; Wise, 2008; Vogt & Paxinos, 2012). Ähnlichkeiten zwischen dem OFC von Primaten und Ratten gelten darüber hinaus ebenfalls als wahrscheinlich (Balleine & O'Doherty, 2010; Wallis, 2012). Zum Beispiel liegt eine wesentliche Funktion des OFCs bei beiden Spezies in der Bewertung von Stimuli (Gallagher *et al.*, 1999; Uylings *et al.*, 2003; Wallis, 2012). Wie in Kapitel 1.5 noch näher erläutert wird, spielt der ACC bei beiden Spezies eine wichtige Rolle im Hinblick auf motivations – und belohnungsassoziertes Verhalten. Der dorsolaterale PFC hingegen übernimmt, wie oben bereits erwähnt, bei Primaten höhere kognitive Funktionen wie selektive Aufmerksamkeit, Handlungsplanung und logisches Denken (Nieuwenhuys *et al.*, 2008b). Bei Ratten führen Läsionen im mPFC u. a. zu einer Beeinträchtigung im Bereich der Handlungsflexibilität, Aufmerksamkeit und der Strategiefindung, so dass diesem Areal auch bei der Ratte komplexere kognitive Funktionen zugesprochen werden (Kolb *et al.*, 1994; Birrell & Brown, 2000; Uylings *et al.*, 2003; Floresco *et al.*, 2008a). Uylings *et al.* (2003) schlagen daher vor, dass der mPFC von Ratten funktionelle Ähnlichkeiten zum dorsolateralen PFC von Primaten aufweist. Dem stimmen anderen Autoren jedoch nicht zu, vor allem weil Ratten ein granulärer Kortex fehlt (Wise, 2008; Vogt & Paxinos, 2012).

### **1.5 Motivations- und Belohnungsverhalten**

Wie bereits zu Beginn der Einleitung beschrieben, sollte in dieser Arbeit im Speziellen untersucht werden, ob es bei Ratten nach Verschluss der ACA zu einer ähnlichen Beeinträchtigung des Motivationsverhalten kommt wie bei ACA-Patienten und ob mögliche kompensatorische Mechanismen mittels Verhaltens-PET dargestellt werden können. Wie eingangs bereits erläutert, ist diese Fragestellung von besonderem Interesse, da beim Menschen apathische Störungen wie z. B. Abulie eines der häufigsten Symptome nach einem Schlaganfall im ACA-Gebiet darstellt

(vgl. 1.3). Bei dieser Störung ist der Wille oder das Interesse, eine Aktion in die Tat umzusetzen, gemindert (Marin, 1991; Marin *et al.*, 1995; Starkstein & Leentjens, 2008). Da Motivationsverlust jedoch ein Zustand ist, der objektiv sehr schwer bewertet werden kann, definierten ihn Levy und Dubois (2006) als „quantitative Reduktion von selbstgenerierten, freiwilligen und gezielten Verhaltensweisen“. Das folgende Zitat beschreibt die Symptome der Erkrankung eindrucksvoll. Es stammt von einer Patientin, die unter akinetischem Mutismus, einer besonders schweren apathischen Störung, litt, sich aber wieder von der Krankheit erholte (Damasio & Hoesen, 1983; Holroyd & Yeung, 2012):

*“She didn’t talk because she had ‘nothing to say’. Her mind was ‘empty’. Nothing ‘mattered’. She apparently was able to follow [...] conversations even during the early period of the illness, but felt no ‘will’ to reply.”*

Das Zitat macht deutlich, dass apathische Störungen nicht motorischer oder kognitiver Natur, sondern vielmehr auf eine Willenlosigkeit bzw. eine geminderte Motivation zurückzuführen sind (Levy & Dubois, 2006; Starkstein & Leentjens, 2008).

Motivation fasst verschiedene neuronale und physiologische Faktoren zusammen, die Verhalten initiieren, regulieren und unterstützen, um Bedürfnisse zu erfüllen oder ihnen nachzugehen (Kupfermann *et al.*, 2000). Dabei sind sowohl Triebkräfte gemeint, die Bedürfnisse wie Hunger oder Durst befriedigen, als auch abstraktere Wünsche oder Ziele wie zum Beispiel die Motivation, ein Instrument spielen zu lernen, um mit anderen musizieren zu können (Bear *et al.*, 2009). Aus neurobiologischer Sicht wird Motivation daher auch als Antriebskraft zielgerichteten Verhaltens verstanden (Kim, 2013). Bei ACA-Patienten könnten apathische Störungen entsprechend dadurch zu erklären sein, dass zielgerichtete Verhaltensweisen nicht mehr adäquat initiiert werden (Paus, 2001; Rushworth *et al.*, 2004; Holroyd & Yeung, 2012). Motivationsassoziiertes Verhalten scheint zwar eng mit dem Belohnungssystem verknüpft zu sein, es gibt jedoch wenige Studien, die sich mit Motivation *per se* beschäftigen (Phillips *et al.*, 2007; Bromberg-Martin *et al.*, 2010b; Holroyd & Yeung, 2012).

In der Literatur wird besonders dem ACC und dem Dopaminsystem eine kritische Rolle in Bezug auf Motivationsverhalten zugesprochen (Bromberg-Martin *et al.*, 2010b; Holroyd & Yeung, 2012). Dies soll im Folgenden erläutert werden.

### 1.5.1 Anteriorer zingulärer Kortex

Sowohl bei Primaten als auch bei Ratten wird der ACC in der Literatur als eine Art Kontrollorgan beschrieben, dem eine wesentliche Rolle bei der Umsetzung einer Intention in eine Handlung und zum anderen bei der Handlungsüberwachung zugeschrieben wird (Paus, 2001; Walton *et al.*, 2007; Holroyd & Yeung, 2012). Wie oben erläutert umfasst der ACC beim Menschen und bei nicht-humanen Primaten die Areale 24, 25 und 32. Der ACC ist mit verschiedenen limbischen, motorischen sowie anderen präfrontalen Arealen verbunden und wird somit auch als Schnittstelle zwischen dem motorischen und kognitiven System gesehen (Paus, 2001).

Eine Funktion des ACCs im Hinblick auf die Kodierung von Fehlern wurde schon vor 20 Jahren mittels Elektroenzephalografie (EEG) nachgewiesen: hier wird ein sogenanntes *negatives Feedbacksignal* generiert, das seinen Peak etwa 100 ms nach einer Rückmeldung auf eine unkorrekte Antwortauswahl hat (Gehring *et al.*, 1993; Holroyd *et al.*, 1998). Spätere elektrophysiologische Studien konnten dann zeigen, dass Neurone im ACC auch positive Ereignisse wie den Erhalt einer Belohnung kodieren (Gehring & Willoughby, 2002; Amiez *et al.*, 2006). Der ACC scheint die Feedback-Informationen dazu zu nutzen, Handlungsstrategien weiter zu optimieren (Walton *et al.*, 2007). In einer funktionellen MRT-Studie wurde beispielsweise gezeigt, dass die Aktivität im ACC dann besonders hoch war, wenn der Konflikt zwischen verschiedenen Antwortmöglichkeiten ebenfalls besonders groß war (Botvinick *et al.*, 1999). Außerdem führen Läsionen im ACC bei Primaten dazu, dass Kosten-Risiko-Abwägungen nicht mehr optimal getroffen werden können (Kennerley *et al.*, 2006). Auch an Entscheidungen im sozialen Kontext scheint der ACC beteiligt zu sein (Hadland *et al.*, 2003; Rudebeck *et al.*, 2006). Während der Wechsel zwischen verschiedenen Antwortstrategien *per se* dem dorsolateralen PFC zugesprochen wird, scheint der ACC eher eine Überwachungsfunktion einzunehmen, um Entscheidungen zu optimieren (Rushworth *et al.*, 2004).

Ähnlich wie bei Primaten werden dem ACC von Ratten (vgl. Abbildung 5) verschiedene Funktionen hinsichtlich der Kontrolle und Überwachung von Handlungen zugesprochen (Ng *et al.*, 2007a; Totah *et al.*, 2013; Weible, 2013). Dies zeigt auch eine elektrophysiologische Studie an Ratten, in der Einzelzellen sowie lokale Feldpotentiale im ACC und im prälimbischen Kortex abgeleitet wurden, während die

Versuchstiere eine Aufmerksamkeitsaufgabe durchführten. Kurz vor der Präsentation des Stimulus, auf den die Aufmerksamkeit gerichtet werden musste, war die neuronale Aktivität im ACC dann besonders hoch, wenn die Versuchstiere im Anschluss den richtigen Stimulus auswählten und erhöhte sich noch weiter, wenn im vorherigen Durchlauf ein Fehler gemacht worden war. Die Ergebnisse dieser Studie implizieren eine Funktion des ACC zusammen mit dem prälimbischen Kortex bei der Aufmerksamkeitsfokussierung, aber auch bei der Fehlerdetektion (Totah *et al.*, 2013).

Außerdem spielt der ACC bei Ratten auch im Hinblick auf Entscheidungsverhalten eine wichtige Rolle. Dies wurde intensiv im Hinblick auf Kosten-Nutzen Abwägungen untersucht (Walton *et al.*, 2003; Floresco & Ghods-Sharifi, 2007; Salamone *et al.*, 2007; Rushworth & Behrens, 2008). Dabei werden Ratten entweder in einer operanten Konditionierungsbox oder in einer T-förmigen Arena vor die Option gestellt, für einen größeren Aufwand (mehrmaliges Bestätigen eines Hebels oder Überklettern einer Barriere) eine große Belohnung zu erhalten oder aber für eine geringere Leistung (einmaliges Betätigen eines Hebels oder Überklettern einer kleinen Barriere) nur eine kleine Belohnung zu bekommen. Während unbehandelte Ratten sich mit hoher Präferenz für den höheren Aufwand und eine größere Belohnung entscheiden, führen Läsionen oder Inaktivierungen des ACCs zu einer Entscheidungsverschiebung und der geringere Aufwand wird bevorzugt gewählt (Walton *et al.*, 2003; Schweimer & Hauber, 2005; Hosking *et al.*, 2014). Da mit weiteren Experimenten gezeigt werden konnte (Schweimer & Hauber, 2005), dass Ratten nach ACC-Läsionen den Wert der Belohnung weiterhin adäquat einschätzen können, kann aus dieser Beobachtung geschlossen werden, dass ACC-Läsionen zu einem verminderten Antrieb oder Willen führen einen höheren Aufwand in Kauf zu nehmen (Walton *et al.*, 2003; Hosking *et al.*, 2014). Eine elektrophysiologische Studie zeigte außerdem, dass ACC-Neurone bei Ratten auch Entscheidungsfindung im sozialen, kompetitiven Kontext kodieren (Hillman & Bilkey, 2012).

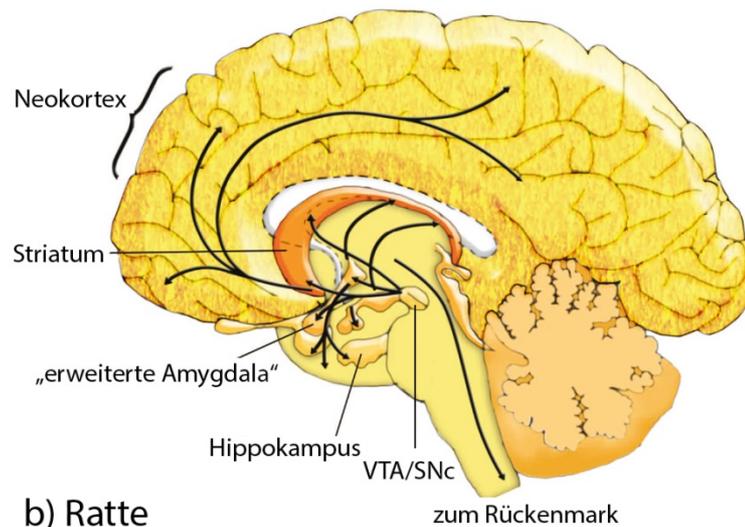
Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass der ACC bei Primaten und Ratten zielgerichtetes Verhalten auf ähnliche Art und Weise fördert.

### 1.5.2 Dopaminerges System

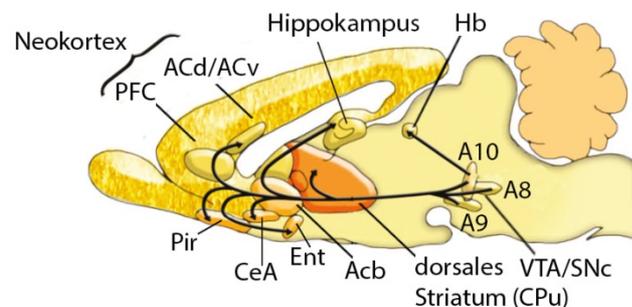
Mit einem berühmten Selbststimulationsexperiment in den 1950er Jahren konnten Olds und Milner mit Ratten zeigen, dass die Stimulation dopaminerger Bahnen einen hedonistischen Belohnungseffekt auslöst, der die Versuchstiere zur elektrischen Selbststimulation motiviert (Olds & Milner, 1954). Anhand verschiedener Selbststimulationsexperimente, pharmakologischer Studien sowie Läsionsstudien wurden dann Dopaminneurone im Ncl. Accumbens und der Area tegmentalis ventralis (VTA) als zentrale Komponenten des Belohnungssystems identifiziert (vgl. Review Haber & Knutson, 2010). Bevor näher auf funktionelle Aspekte des Belohnungssystems eingegangen wird, soll im Folgenden zunächst die Struktur des Dopaminsystems kurz erläutert werden.

Abbildung 6 zeigt das dopaminerge Belohnungssystem für den Menschen (a) und in etwas detaillierterer Form für die Ratte (b). Bei Säugetieren ist das Dopaminsystem in drei Hauptprojektionswegen organisiert und zwar dem nigrostriatalen, mesolimbischen und mesokortikalen System (Kandel, 2000). Alle drei Projektionswege haben ihren Ursprung im Mittelhirn in den Neuronengruppen A8-A10 (Bentivoglio & Morelli, 2005 vgl. Abbildung 6 b). Diese Einteilung beruht auf einer Nomenklatur von Dahlström und Fuxe (1964; Bentivoglio, 2005).

## a) Mensch



## b) Ratte



**Abbildung 6: Vergleich zwischen dem dopaminergen System beim Menschen (a) und etwas detaillierter bei der Ratte (b).** Bei Säugetieren kann das Dopaminsystem in einen nigrostriatalen, mesolimbischen und mesokortikalen Projektionsweg eingeteilt werden, die alle ihren Ursprung in den dopaminergen Zellgruppen A8-A10 des Mittelhirns haben (vgl. b). Der nigrostriatale Weg beschreibt beim Menschen die dopaminergen Projektionen von der Zellgruppe A9 in der Substantia nigra pars compacta in den Ncl. caudatus und das Putamen und bei der Ratte entsprechend in eine äquivalente Struktur und zwar das Caudate-Putamen. Das mesolimbische System hat seinen Ursprung in der Zellgruppe A10, die in der VTA liegt. Das mesolimbische System projiziert in den Ncl. Accumbens, in Kerne der Amygdala, in Nuclei der Stria terminalis, in den Hippokampus, in laterale septale Nuclei, in die Habenula, in den entorhinalen Kortex, sowie in den ACC. Das mesokortikale System hat seinen Ursprung ebenfalls in der Zellgruppe A10 der VTA, projiziert dann aber vor allem in verschiedene kortikale Areale. Allen drei Hauptprojektionswegen zugeordnet wird die Zellgruppe A8, die im retrorubalen Feld nahe der Substantia nigra pars compacta liegt und in verschiedene striatale und präfrontale Areale projiziert. In Bezug auf das Belohnungssystem ist besonders das mesolimbische und mesokortikale Projektions-system wichtig. **Modifiziert nach Lovinger 2008 und Saper, 2000.**

(**Abk.:** ACd: dorsaler anteriorer zingulärer Kortex, ACv: ventraler anteriorer zingulärer Kortex, Acb: Nucleus accumbens, CeA: Nucleus centralis amygdalae, Ent: entorhinaler Kortex, Hb: Habenula, LC: Locus coeruleus, IPBN: lateraler Nucleus parabrachialis, PFC: präfrontaler Kortex, Pir: piriformer Kortex, VTA: Area tegmentalis ventralis).

Der nigrostriatale Projektionsweg zieht beim Menschen von der Zellgruppe A9 in der Substantia nigra pars compacta in das Putamen und den Ncl. caudatus und bei der Ratte entsprechend in eine äquivalente Struktur und zwar in das Caudate-Putamen. Das Caudate-Putamen von Ratten ist dem Putamen und dem Ncl. caudatus von Primaten funktionell sehr ähnlich. Die Faserbündel verlaufen jedoch diffuser als bei Primaten, so dass das Areal anatomisch nicht unterteilt wird (White, 2009). Funktionell wird dieser Projektionsweg bei beiden Spezies vor allem mit motorischer Kontrolle in Verbindung gebracht (Saper, 2000).

Das mesolimbische System hat seinen Ursprung in den Zellkörpern A10, die in der VTA liegen, und projiziert vor allem in limbische Strukturen wie den Ncl. Accumbens, Kerne der Amygdala, den Hippokampus, laterale septale Nuclei, die Habenucla, den entorhinalen Kortex, sowie in den ACC. Das mesokortikale System hat seinen Ursprung ebenfalls in der Zellgruppe A10 der VTA, projiziert dann aber vor allem in kortikale Areale, wobei der PFC den stärksten Eingang erhält (Kandel, 2000). Es sollte beachtet werden, dass zwischen den dopaminergen Projektionen aus den Zellgruppen A9 und A10 keine strikte Trennung vorliegt und es teilweise Überschneidungen gibt (Bentivoglio & Morelli, 2005).

Die Zellgruppe A8, die ihren Ursprung im retrorubalen Feld nahe der Substantia nigra hat, wird eigentlich als Erweiterung der A9 Neuronengruppe angesehen, grenzt sich aber auch nicht deutlich von der Zellgruppe A10 ab. A8 Dopaminneurone tragen mit ihren Efferenzen zu allen drei Hauptprojektionswegen bei (Bentivoglio & Morelli, 2005). Die Funktionen des mesolimbischen und kortikalen Dopaminsystems sind komplex und liegen unter anderem in der Regulation von Motivations- und Belohnungsverhalten (Koob & Volkow, 2010; Salamone & Correa, 2012). Dies wird in Abschnitt 1.5.3 näher erläutert. Zunächst werden jedoch die charakteristischen Antwortmuster dopaminergener Neurone erläutert und weiter auf strukturelle Merkmale des Dopaminsystems eingegangen.

*In vivo* sind sowohl im wachen als auch im narkotisierten Tier drei charakteristische Hauptantworttypen dopaminergener Neurone zu beobachten, und zwar ein tonisches und ein phasisches Muster sowie ein hyperpolarisierter Zustand. Das tonische Aktivitätsmuster besteht aus langsamen, unregelmäßigen Einzelspikes mit Raten zwischen 2 und 10 Hz und wird auch als Spontanaktivität bezeichnet. Durch

tonisches Feuern wird ein stabiles Baselinelevel aufrechterhalten. Im inaktiven, hyperpolarisierten Zustand wird dagegen spontanes neuronales Feuern verhindert. Spontan aktive Neurone gehen typischerweise stimulusabhängig in die phasische Aktivität über, die aus hochfrequenten neuronalen Bursts besteht (Grace & Bunney, 1984a; b; Freeman & Bunney, 1987; Schultz, 2007; Leviel, 2011). Kritisch für die Regulation der verschiedenen Aktivitätsmuster sind vor allem Glutamat und GABA (Grace *et al.*, 2007). Die verschiedenen Zustände dopaminerger Neurone scheinen wichtig für die Regulation von zielgerichtetem Verhalten zu sein (Grace *et al.*, 2007). Es wird beispielsweise angenommen, dass Dopaminneurone über phasische Antworten den *Belohnungsvorhersagefehler* kodieren, wobei sie von einem tonischen Zustand in den phasischen übergehen (Schultz, 1998; Grace *et al.*, 2007; Schultz, 2007). Im inaktiven Zustand scheint dies hingegen nicht möglich zu sein (Grace *et al.*, 2007). Eine kritische Rolle phasischer Dopaminantworten wurde unter anderem auch in einer optogenetischen Studie herausgestellt, in der eine Verhaltenskonditionierung nur mit phasischer, aber nicht mit tonischer Stimulation dopaminerger VTA-Neurone evoziert werden konnte (Tsai *et al.*, 2009).

Dopamin aktiviert G-Protein-gekoppelte Rezeptoren der D1- und D2-Gruppe (Beaulieu & Gainetdinov, 2011). Während Rezeptoren der D1-Gruppe (D1 und D5) die Adenylatzyklase aktivieren, wirken D2-Rezeptoren (D2, D3, D4) inhibitorisch auf die cAMP (zyklische Adenosinmonophosphat)-Produktion. Die Affinität dopaminerger Rezeptoren variiert enorm: Die Bindungskonstante  $K_d$  kann Werte vom Nanomolar- bis zum Mikromolarbereich einnehmen. Es wird davon ausgegangen, dass Rezeptoren der D2-Gruppe etwa eine 10 bis 100-fach höhere Dopaminaffinität aufweisen als die D1-Rezeptorgruppe, wobei D3- und D4-Rezeptoren die höchste Affinität zugesprochen wird. Während die D1-Rezeptoren nur postsynaptisch exprimiert werden, sind D2-Rezeptoren sowohl prä- als auch postsynaptisch lokalisiert (Bentivoglio & Morelli, 2005).

Nach präsynaptischer Ausschüttung in den synaptischen Spalt wird die Dopamintransmission durch Diffusion, Wiederaufnahme oder metabolischen Abbau des Dopamins beendet (Hyland *et al.*, 2002). Die Wiederaufnahme des Dopamins in die Präsynapse durch den  $\text{Na}^+$ -abhängigen Dopamintransporter stellt den wichtigsten limitierenden Schritt zur Beendigung des Dopaminsignals dar (Hyland *et al.*, 2002; Bentivoglio & Morelli, 2005; Leviel, 2011). Dopamintransporter sind vor

allem an den Somata, Dendriten und Axonen dopaminergener Neurone zu finden (Nirenberg *et al.*, 1996; Nirenberg *et al.*, 1997). Die Verteilungsdichte entspricht bei der Ratte in etwa der Innervationsdichte (Ciliax *et al.*, 1995; Rice *et al.*, 2011), das bedeutet, dass in stark innervierten Regionen wie dem Ncl. Accumbens, dem Caudate-Putamen oder dem Tuberculum olfactorium besonders viele Dopamintransporter zu finden sind. In einer *in vivo* Studie mit Ratten konnte gezeigt werden, dass sich die Wiederaufnahme von Dopamin zwischen Arealen unterscheidet und im Caudate-Putamen und im Ncl. Accumbens schneller ist als im mPFC oder in der basolateralen Amygdala (Garris & Wightman, 1994).

Obwohl Dopaminneurone eine hohe Aktionspotentialfrequenz haben, weist der Dopamintransporter insgesamt eine relativ niedrige Wiederaufnahmerate auf (Rice *et al.*, 2011). So wurde in einer Zellkultur aus dem ventralen Mesencephalon eine Wiederaufnahmerate von 0,74 Dopaminmolekülen pro Sekunde gemessen. Dies hat zu einer relativ neuen Hypothese geführt, nach der Diffusion und weniger die Wiederaufnahme von Dopamin eine bedeutendere Rolle spielt als bisher angenommen (Hyland *et al.*, 2002; Rice & Cragg, 2008).

### **1.5.3 Funktionelle Bedeutung von Dopamin**

Wie bereits oben erwähnt gilt Dopamin als der wichtigste Neurotransmitter des Belohnungssystems. Dabei liegt die Funktion des Systems nicht in der Antwort auf die Belohnung *per se*, sondern vielmehr in der Bewertung von Belohnung, der Vorhersagbarkeit und Risikoabwägung (Schultz, 2007; Bromberg-Martin *et al.*, 2010b). Damit scheint auch die Optimierung zielgerichteten Verhaltens einher zu gehen (Wise, 2004; Salamone *et al.*, 2007).

Das Belohnungssystem wurde intensiv in Bezug auf verschiedenste belohnungsassoziierte Stimuli untersucht und viele Studien zeigen, dass die Administration verschiedener belohnender Substanzen zu einer Aktivierung des mesolimbischen Dopaminsystems führt (Koob & Volkow, 2010; Willuhn *et al.*, 2010; Baik, 2013). Auch eine zentrale Funktion des Ncl. Accumbens scheint in diesem Zusammenhang unumstritten (vgl. Review Di Chiara, 2002; Willuhn *et al.*, 2010). So führt die Selbstadministration von Drogen wie Kokain und Amphetaminen zu einer Erhöhung der extrazellulären Dopaminkonzentration im Ncl. Accumbens, was nicht nur eine

zentrale Rolle dieses Areals im Belohnungssystem, sondern auch den belohnenden Effekt von Dopamin an sich unterstreicht (Koob & Volkow, 2010; Schultz, 2010; Willuhn *et al.*, 2010). Verschiedene elektrophysiologische Arbeiten von Schultz *et al.* zeigen, dass Dopaminneurone einen *Belohnungsvorhersagefehler* kodieren, über den bewertet wird, ob die erhaltene Belohnung besser oder schlechter ausfällt als erwartet (positiver und negativer Belohnungsvorhersagefehler; Schultz, 1998; 2007). Gleichzeitig zeigen verschiedene voltammetrische Untersuchungen, dass sich die Dopaminkonzentration in belohnungsrelevanten Strukturen wie dem Ncl. Accumbens oder dem frontalen Kortex in Abhängigkeit von belohnenden Stimuli innerhalb von Sekunden ändert (vgl. Review Schultz, 2007). Ob die Funktion der Dopaminneurone jedoch hauptsächlich in der Kodierung belohnender Stimuli liegt oder aber allgemeiner in der Reaktion auf überraschende, neue und auch aversive Stimuli, ist in der Literatur umstritten (Schultz, 2007; Bromberg-Martin *et al.*, 2010a). Schultz *et al.* (2007) betont die Funktion des mesolimbischen und – kortikalen Dopaminsystems bei der Kodierung belohnender Stimuli. Es gibt jedoch Hinweise darauf, dass Dopaminneurone auch den Wert aversiver und überraschender Stimuli verschlüsseln (Seymour *et al.*, 2005; Redgrave & Gurney, 2006; Matsumoto & Hikosaka, 2009; Zweifel *et al.*, 2009). Daher schreiben andere Studien dem Dopaminsystem eher eine Funktion bei der generellen Bewertung bedeutender Stimuli zu (Joseph *et al.*, 2003; Bromberg-Martin *et al.*, 2010b; Brooks & Berns, 2013).

Funktionell könnte dies bedeuten, dass das Dopaminsystem damit Handlungsentscheidungen fördert und uns aus Erfahrungen mit unterschiedlicher Konsequenz lernen lässt (Lisman & Grace, 2005; Brooks & Berns, 2013). Matsumoto und Hikosaka (2009) konnten für Dopaminneurone in der Substantia nigra und in der VTA zeigen, dass es je nach Region Dopaminneurone gibt, die durch belohnende Stimuli erregt und durch aversive Stimuli inhibiert werden. Diese Neurone befanden sich vor allem in der dorsolateralen Substantia nigra pars compacta. Andere Neurone, die vor allem in der ventromedialen Substantia nigra pars compacta und in der VTA lokalisiert waren, zeigten hingegen unabhängig vom Stimulustyp eine exzitatorische Antwort. Dies könnte bedeuten, dass Dopaminneurone zum einen den Wert eines Stimulus kodieren und zum anderen aber auch die Salienz (Auffälligkeit; Bromberg-Martin *et al.*, 2010b). Beides ist in Bezug auf Motivationsverhalten

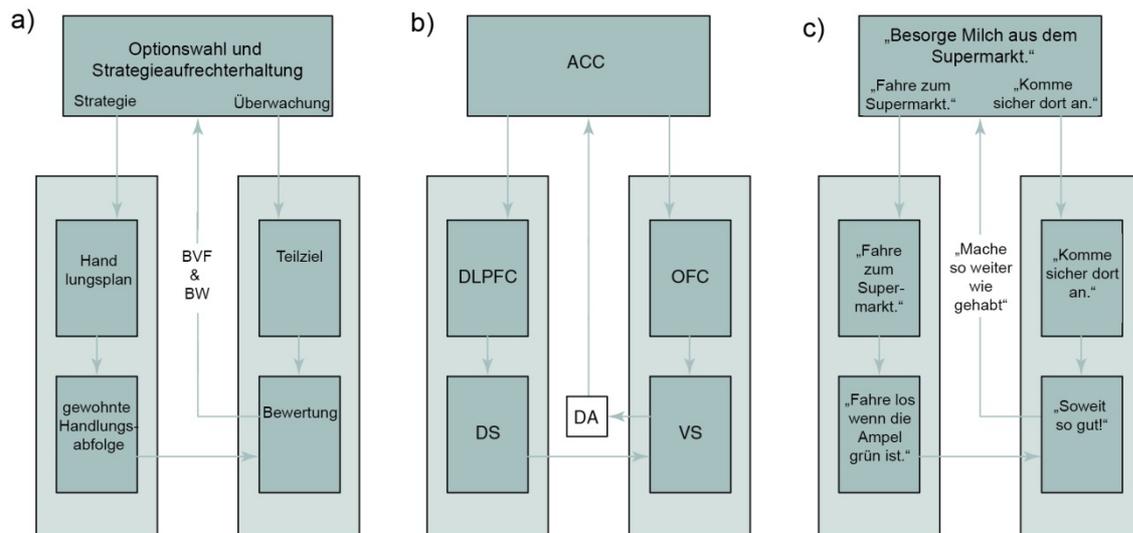
von Bedeutung, da bei Entscheidungsprozessen und Handlungsinitiierung zum einen die generelle Motivation eine Rolle spielt und zum anderen über den Wert einer Handlungsfolge bestimmt wird, ob es sich überhaupt lohnt einen gewissen Aufwand zu betreiben (Bromberg-Martin *et al.*, 2010b).

Letzteres wurde auch intensiv im Hinblick auf die Funktion von Dopamin bei Kosten-Nutzen-Abwägungen untersucht (Salamone & Correa, 2012). In Abschnitt 1.5.1 wurde dieser Verhaltensversuch bereits erläutert. Zum einen führen Läsionen durch 6-Hydroxy-Dopamin (6-OHDA), ein Neurotoxin das Dopaminneurone zerstört, im Ncl. Accumbens dazu, dass die weniger aufwendige Option mit geringer Belohnung gegenüber einer kostenaufwendigeren Option für den Erhalt einer größeren Belohnung bevorzugt gewählt wird (Salamone, 1994). Interessant scheint in diesem Zusammenhang auch, dass die Blockade von D1-, aber nicht von D2-Rezeptoren, im ACC zu einer ähnlichen Präferenzverschiebung bei Kosten-Nutzen-Abwägungen führt (Schweimer & Hauber, 2006). In beiden Arealen scheint also Dopamin kritisch für die Regulation von Kosten-Nutzen-Abwägungen zu sein. Dies steht auch im Einklang mit einem Modell von Holroyd und Yeung (2012) in dem hypothetisiert wird, dass Dopamin kritisch für die Informationsprozessierung von motivations- und entscheidungsrelevanten Stimuli sein könnte. Dieses Modell wird im Folgenden erläutert.

### **1.6 Hypothetisches Motivationsnetzwerk**

Holroyd und Yeung (2012) schlagen ein stark vereinfachtes Modell vor, das die Funktion des ACCs und das damit assoziierte neuronale Netzwerk bei der Regulation von Motivation zusammenfasst (Abbildung 7). Vorgeschlagen wird ein paralleles Netzwerk, in dem der ACC einerseits eine Entscheidung über die Auswahl zwischen verschiedenen Handlungen trifft, und andererseits die anschließende Ausführung der ausgewählten Handlung überwacht. Dieses Modell wird anhand eines anschaulichen Beispiels erklärt: Man stelle sich eine Situation vor, in der man zu Hause vor dem Kühlschrank steht und feststellt, dass keine Milch mehr da ist. Die Funktion des ACCs besteht nun nach diesem Modell darin, verschiedene Optionen und ihre Konsequenzen abzuwägen und auf dieser Grundlage eine Entscheidung zu treffen. Wird zum Beispiel die Entscheidung getroffen, Milch im Supermarkt zu besorgen, wird diese Information an den dorsolateralen PFC weitergegeben. Zu-

sammen mit dem dorsalen Striatum wird der dorsolaterale PFC in diesem Modell als *Akteur* zusammengefasst. Über den dorsolateralen PFC werden die verschiedenen Handlungsschritte geplant, die erforderlich sind, um das Ziel zu erreichen (z.B. mit dem Auto zum Supermarkt fahren). Des Weiteren werden über den dorsolateralen PFC, das dorsale Striatum und andere motorische Strukturen die ausgewählten Handlungen ausgeführt. Als Beispiel wird im Modell angeführt, dass das Gaspedal gedrückt werden muss, wenn die Ampel grün ist. Die Interaktion zwischen dem dorsolateralen PFC und dem dorsalen Striatum bei der Ausführung zielgerichteter Handlungen steht im Einklang mit anderen Studien (Fuster, 2001; O'Doherty *et al.*, 2004; Cohen & Frank, 2009). Parallel zu diesem Netzwerk ist dem Modell zufolge eine weitere Schleife für die kritische Beurteilung der Zwischenereignisse verantwortlich. Im Beispiel besteht das Teilziel darin, sicher am Supermarkt anzukommen. Über die erwähnte parallele Schleife erhält der ACC letztendlich Informationen darüber, ob alles nach Plan verläuft oder ob es Abweichungen gibt. Diese *Kritiker*-Funktion wird vor allem dem OFC und dem ventralen Striatum zugesprochen (vgl. O'Doherty *et al.*, 2004; Balleine & O'Doherty, 2010; Wallis, 2012). Dabei wird vor allem Dopamin für die Übermittlung dieser Belohnungs- und Motivationsinformationen verantwortlich gemacht. Wie bereits in Abschnitt 1.5.3 ausführlich erläutert steht dies im Einklang mit der Literatur (Berger *et al.*, 1988; Kandel, 2000, Nemeth *et al.*, 1988; Bonelli & Cummings, 2007; Bromberg-Martin *et al.*, 2010b). Die Funktion des ACCs besteht also dem Modell zufolge darin, Informationen aus dem PFC, dem Ncl. Accumbens und dem Dopaminsystem zu integrieren und damit zielgerichtetes Verhalten zu fördern (Holroyd & Yeung, 2012).



**Abbildung 7: Vereinfachtes Modell nach Holroyd und Yeung (2012) zur parallelen Organisation des anterioren zingulären Kortex und assoziierter Areale im Hinblick auf die Förderung zielgerichteten Verhaltens. a-c)** In dem hypothetisierten Netzwerk wird dem ACC einerseits eine Funktion bei der Entscheidung zwischen verschiedenen Optionen zugesprochen und andererseits bei der Überwachung der im Anschluss ausgeführten Handlung. In a sind die Funktionen der Areale aufgeführt und in b werden diese den entsprechenden anatomischen Strukturen zugeordnet. In c ist die Funktion anhand eines einfachen Beispiels erklärt. Ist die Wahl der auszuführenden Handlung im ACC getroffen worden, so wird sie vom dorsolateralen PFC geplant und durchgeführt. Über Verbindungen zum dorsalen Striatum (und anderen motorischen Arealen) werden für das Ziel erforderliche Teilziele (im Beispiel: „Fahre los wenn die Ampel grün ist“) umgesetzt. Die beiden Areale werden im Modell als *Akteure* zusammengefasst. Der OFC bewertet hingegen zusammen mit dem ventralen Striatum, ob Teilziele (im Beispiel das sichere Ankommen am Zielort) so wie erwartet erreicht wurden. Die Strukturen werden daher im Modell als *Kritiker* zusammengefasst. Über Verbindungen zwischen dem ventralen Striatum und dem ACC wird dann Feedback an den ACC weitergeleitet, anhand dessen der ACC wiederum evaluiert, ob die Handlung fortgeführt wird oder nicht. Hier spielt Dopamin eine wichtige Rolle: Sowohl der ACC als auch der Ncl. Accumbens erhalten motivations- und belohnungsrelevante Informationen, die von Dopaminneuronen im Mittelhirn kodiert werden. **Modifiziert nach Holroyd & Yeung (2012).**

(**Abk.:** ACC: anteriorer zingulärer Kortex, BVF: Belohnungsvorhersagefehler, BW: Belohnungswert, DA: Dopamin, DLPFC: dorsolateraler präfrontaler Kortex, DS: dorsales Striatum, OFC: orbitofrontaler Kortex, VS: ventrales Striatum).

An dieser Stelle ist zu bemerken, dass dies ein stark vereinfachter Erklärungsansatz ist und weitere Studien notwendig sind, um diesen Ansatz zu bestätigen (Holroyd & Yeung, 2012). Bei ACA-Patienten könnte ein fehlender Eingang aus dem ACC in andere Areale des Netzwerks bedingen, dass Handlungen nicht mehr adäquat initiiert werden können und die Patienten folglich teilnahmslos, motivationsgemindert und interessensarm wirken (Bonelli & Cummings, 2007; Holroyd & Yeung, 2012). Apathische Störungen treten jedoch auch bei anderen Krankheiten wie z. B. Alzheimer und Parkinson häufig auf (Pluck & Brown, 2002; Benoit &

Robert, 2011). Außerdem wird Apathie unter anderem bei Läsionen im mediodorsalen Thalamus und im Globus pallidus internus beobachtet (Engelborghs *et al.*, 2000; Levy & Dubois, 2006). Das pathologische Netzwerk von Apathie scheint sich je nach Krankheitsbild zu unterscheiden und ist noch weitgehend ungeklärt (Holroyd & Coles, 2002; Levy & Dubois, 2006). Verschiedene humane Studien, in denen Apathie bei Alzheimer-Patienten untersucht wurde, zeigen, dass der ACC auch bei dieser Erkrankung eine zentrale pathologische Struktur darstellt (Robert *et al.*, 2006; Bruen *et al.*, 2008). Bei Parkinson-Patienten besagt jedoch eine bekannte Hypothese, dass die apathische Störung unmittelbar auf den dopaminergen Zellverlust im Striatum zurückzuführen ist (Levy & Dubois, 2006). Generell wird davon ausgegangen, dass unabhängig von der genauen zugrundeliegenden Pathologie eine Unterbrechung der Basalganglien-Kortex-Schleifen zu apathischen Störungen führt (Levy & Dubois, 2006; Bonelli & Cummings, 2007; Jorge *et al.*, 2010).

### **1.7 Ziel der Studie**

Wie bereits erläutert, gibt es zwar inzwischen einige wenige Arbeiten, die die Folgen einer ACAo im Tiermodell näher beleuchten, Motivationsdefizite wurden bisher aber nicht explizit untersucht, obwohl verschiedene Formen apathischer Störungen zu den häufigsten Symptome nach ACAo zählen (vgl. 1.3).

Ein erstes Ziel dieser Studie bestand daher darin, einen Verhaltenstest für die operante Konditionierungsbox zu entwickeln, mit dem Motivationsverhalten bei der Ratte untersucht werden kann. Dafür sollte eine sogenannte *Motivationsaufgabe* konzipiert werden, mit der Motivationsverhalten in Abhängigkeit vom erbrachten Arbeitsaufwand gemessen werden kann. Um Hirnreale zu identifizieren, die während des Verhaltensparadigmas, d. h. vor und nach Verschluss der ACA aktiv sind, sollte die Motivationsaufgabe mit Verhaltens-PET kombiniert werden. Verhaltens-PET erlaubt es, die zelluläre Aufnahme eines Radiopharmakons während eines Verhaltensversuchs im wachen Tier zu messen (Endepols *et al.*, 2010; Rohleder *et al.*, 2014). In dieser Studie wurde das Verhaltensparadigma *Motivationsaufgabe* vor und nach Schlaganfall mit radioaktiver Glukose ([<sup>18</sup>F]-Fluordesoxyglukose (FDG)) untersucht, die ein indirekter Marker neuronaler Aktivität darstellt (Schiffer *et al.*, 2007). Das Motivationsverhalten vor und nach ACAo wurde außerdem mit einem Radiopharmakon untersucht, das die präsynaptische Dopaminakti-

vität (6-[<sup>18</sup>F]-Fluor-LDOPA; FDOPA) markiert. Da dieser Ansatz soweit uns bekannt, vorher noch nicht mit Verhaltens-PET kombiniert wurde, bestand ein weiterer Teil der vorliegenden Arbeit darin, diese Methode zu etablieren. In einer longitudinalen Schlaganfallstudie wurde dann das Motivationsverhalten vor und nach Okklusion der anterioren Zerebralarterie mit FDG- und FDOPA-Verhaltens-PET untersucht.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Versuchstiere

Alle Versuche wurden mit männlichen Long Evans Ratten (Auszuchtstamm) von Janvier® (Le Genest St Isle, Frankreich) durchgeführt. Dieser Stamm erfüllte zwei wichtige Voraussetzungen für die vorliegende Studie: Long Evans Ratten sind agil, lernwillig, bereit für Belohnung zu arbeiten und können auch komplexere Aufgaben in der operante Konditionierungsbox erlernen (vgl. 2.5.1; Floresco *et al.*, 2008a; Haluk & Floresco, 2009; Klement *et al.*, 2010). Da im Verhaltensparadigma *Motivationsaufgabe* (vgl. 2.5) akustische Stimuli verwendet wurden, war außerdem eine gute Hörfähigkeit Voraussetzung. Vorexperimente zeigten, dass die Hörschwelle von Long Evans Ratten (vgl. 2.4: 25 dB - 35 dB) im Vergleich zu anderen Stämmen wie beispielsweise Lister Hooded Ratten (65 dB-75 dB, Rohleder, 2012) relativ niedrig ist. Der Black Hooded Stamm, der in vorherigen Studien unserer Arbeitsgruppe verwendet wurde, hätte auch beide Voraussetzungen erfüllt (Rohleder, 2012). Leider wurde aber die Züchtung dieses Stamms zu Beginn dieser Arbeit eingestellt, so dass der Rattenstamm gewechselt werden musste und die Schlaganfalloperation entsprechend angepasst werden musste (vgl. 2.9.2).

Die Versuchstiere wurden jeweils zu zweit oder dritt in einem Käfig (Typ 4 Makrolon Käfige) gehalten, welcher mit einer Röhre, einem Häuschen, Nestbaumaterial (Lignocel®) sowie einem Nageholzstück ausgestattet war. Diese Art der Haltung wird als *bereicherte Umwelt* (engl. „environmental enrichment“) bezeichnet und führt zu verbesserten Lern- und Gedächtnisleistungen (vgl. Review van Praag *et al.*, 2000; Stouffer *et al.*, 2011). Die Versuchstiere mussten teilweise aufgrund aggressiven Verhaltens gegenüber dem Käfigpartner getrennt werden und wurden danach nicht neu verpartnert. Gleiches galt für den Fall des Versterbens eines Käfigpartners. Im Haltungsraum betrug die Raumtemperatur konstant  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  sowie die Luftfeuchtigkeit  $55 \pm 5\%$ . Da Ratten nachtaktiv sind, wurde der Tag/Nachtrhythmus im Rattenraum invertiert (8 - 20 Uhr Licht aus, 20 - 8 Uhr Licht an), um alle Experimente in der Dunkelphase der Versuchstiere durchführen zu können. Während die Schlafzeit von Ratten in der Lichtphase etwa 80 % beträgt, sind Ratten in der Dunkelphase deutlich aktiver und ruhen nur etwa 30 % der Zeit (Antle & Mistelberger, 2005).

Um den Tag-/Nachtzyklus der Tiere möglichst nicht zu stören, wurden alle Versuche in verdunkelten Versuchskammern durchgeführt. Als Lichtquelle im Tierstall sowie während der Experimente in den Versuchskammern wurde Rotlicht benutzt ( $> 660$  nm, 2 Lux). Ratten haben drei verschiedenen Fotorezeptortypen und zwar Stäbchen mit einem Absorptionsmaximum von  $\lambda_{\max} = 486$  nm und Zapfen mit Maxima von  $\lambda_{\max} = 358$  nm und  $\lambda_{\max} = 510$  nm (Jacobs *et al.*, 2001; Yokoyama, 2000). Oberhalb von 600 nm sind selbst die blau-grünen Zapfen kaum noch sensitiv ( $\lambda_{\max} = 510$  nm), so dass angenommen werden kann, dass Ratten Rotlicht mit einer Wellenlänge von 660 nm nicht wahrnehmen (Jacobs *et al.*, 2001).

Die Versuchstiere wurden im Alter von 8 Wochen und 3 Tage vor Beginn der Experimente auf Diät gesetzt (15 g Haltungsfutter pro Tier; R/H-M, Sniff®, Spezialdiäten GmbH, Soest, Germany). Wasser stand immer ad libitum zur Verfügung. Während des Trainings in der operanten Konditionierungsbox (vgl. 2.5.4) und bei einem Körpergewicht von über 300 g wurde die Futtermenge weiter reduziert (13 g pro Tier). Das Gewicht der Tiere wurde mindestens einmal wöchentlich kontrolliert. Zusätzlich wurden die Tiere vor allen Carbidopa Injektionen (vgl. 2.6.2.2, 2.9.1.1, 2.9.1.2) gewogen, da sich die injizierte Menge der Substanz nach dem Gewicht richtete. Alle Versuche wurden nach Genehmigung des Landesamt für Naturschutz und Umwelt durchgeführt (Tierversuchsgenehmigung: 84-02.04.2012.A304).

### 2.2 Anästhesie

Die Positronen-Emission-Tomographie (PET)- und Magnetresonanztomographie (MR)-Aufnahmen, Hörtests sowie die ACA- bzw. Scheinoperation wurden unter Narkose durchgeführt. Um den Stress für die Tiere zu reduzieren, wurden die Versuchstiere auch für einige Injektionen kurz narkotisiert, und zwar für die intravenösen Radiopharmakon-Injektionen vor den 6-[ $^{18}\text{F}$ ]-Fluor-LDOPA (FDOPA)-PET Messungen (i. v. Studie, vgl. 2.9.1.1) und für die Carbidopa-Injektionen (vgl. 2.6.2.2). Auch in der Narkose-Wach Studie war eine Narkose für einige Injektionen (vgl. 2.9.1.2) notwendig.

Die Einleitung der Narkose erfolgte in einer Inhalationsbox (Medres®, Köln, Deutschland), die mit 5 % Isofluran (Actavis®, Morpeth, UK) und einer Mischung aus 70 % Lachgas ( $\text{N}_2\text{O}$ ) und 30 % Sauerstoff ( $\text{O}_2$ ) begast wurde. Während der

Messungen bzw. der Operation wurde die Isofluranmenge auf 1,5 % - 2,5 % reduziert. Während der PET- und MR-Aufnahmen wurde ein Atemsensor (Medres®) unterhalb des Thorax positioniert, die Atemfrequenz auf einem Monitor angezeigt (Dasy Lab, MeasX®) und die Atmung bei 50-60 Atemzügen pro Minute konstant gehalten. Sowohl während der Operation als auch während der Hörtests erfolgte die Atemkontrolle durch direkte Beobachtung des Versuchstiers.

Vor Beginn jeder unter Narkose durchgeführten Messung wurde etwas Bepanthen (5 % Dexpanthenol, Bayer Vital®, Leverkusen, Deutschland) auf die Augen aufgetragen, um ein Austrocknen zu vermeiden. Die Temperatur wurde über eine rektal eingeführte Temperatursonde kontrolliert und mit Hilfe eines Wasserbads (Medres®) bei 37 ( $\pm 0,2$ ) °C konstant gehalten. Für die PET- und MR-Messung war das Wasserbad direkt in den verwendeten Tierhalter (Medres®) integriert. Für die Hörtests und die Operation wurde eine Platte mit integriertem Wasserbad (Medres®) als Unterlage für die Tiere benutzt.

### **2.3 Magnetresonanztomographie**

Die MR-Messung wurde in dieser Arbeit zur Koregistrierung der PET-Bilder (vgl. 2.6.4) sowie zur genauen Bestimmung der Läsionsgröße und -lokalisierung (vgl. 2.8.1) nach Schlaganfallinduktion genutzt. Für jedes Tier wurde vor der Operation, sowie 24 Stunden und 7 Tage nach Schlaganfall bzw. Schein-OP ein MR-Bild erstellt (vgl. 2.9.4). Sowohl in der klinischen Diagnostik als auch in Tiermodellen stellt die strukturelle MR-Bildgebung eine gängige Methode zur Lokalisation und Größenbestimmung von Infarkten dar (Baird & Warach, 1998; Dijkhuizen & Nicolay, 2003). Strukturelle Bildgebung erlaubt es, den Infarkt 12 bis 24 Stunden nach Schlaganfall zuverlässig zu detektieren. 6-12 Stunden nach Schlaganfall kann das Läsionsausmaß mit funktionellen MR-Techniken wie Perfusions- oder Diffusionsbildgebung besser eingeschätzt werden (Baird & Warach, 1998).

Bei der MRT wird ausgenutzt, dass Atome mit ungerader Protonen- oder Neutronenzahl einen Kerndrehimpuls (*Spin*) haben und daher ein magnetisches Feld (*magnetisches Moment*) erzeugen. Ein Atom, das diese Eigenschaft aufweist und zugleich im menschlichen Körper sehr häufig vorkommt, ist das Wasserstoffatom. Bei einem schwachen Magnetfeld führt die Magnetisierung einzelner Wasserstoff-

atome in der Masse zu einer Nettomagnetisierung von Null, da sich die Protonen entsprechend der günstigsten energetischen Lage etwa zur Hälfte parallel und zur Hälfte antiparallel entlang des Magnetfeldes ( $B_0$ ) ausrichten. Erst bei starken Magnetfeldern überwiegt die energieärmere parallele Ausrichtung, wodurch eine *Longitudinalmagnetisierung* des Gewebes entsteht. Die Longitudinalmagnetisierung ist jedoch nicht direkt messbar und muss daher erst in eine *Transversalmagnetisierung* überführt werden. Dies kann durch das Aussenden eines Hochfrequenzpulses (HF-Puls) im Radiowellenbereich erreicht werden, der den Magnetvektor um einen bestimmten Winkel, beispielsweise um  $90^\circ$  bei der sogenannten *Spin-Echo Sequenz*, kippt. Das Kippen des Magnetvektors entsteht dadurch, dass die ohnehin schon bestehende Auslenkung der Spin-Rotationsachse (Präzession) in ihrem Winkel vergrößert und außerdem phasenkohärent gemacht wird. Die Transversalmagnetisierung erzeugt ein messbares Signal (HF-Signal).

Unmittelbar nach Abschalten des HF-Pulses beginnen sich die Spins wieder entlang des longitudinalen Magnetfeldes auszurichten, um in den energetisch günstigsten Zustand zurückzukehren (*Relaxation*). Die Relaxationskinetik der Spins ist gewebeabhängig: Während sie in protonenreichen Geweben lange brauchen um sich auszurichten, erfolgt die Relaxation in fettreichen Geweben erheblich schneller. Die Dauer der Relaxation wird über zwei Zeitkonstanten beschrieben: Die *T<sub>1</sub>-Zeitkonstante* beschreibt die Rückkehr des Magnetvektors von der transversalen in die longitudinale Ausrichtung, wobei Energie an die Umgebung abgegeben und der Vorgang deshalb auch als *Spin-Gitter-Relaxation* bezeichnet wird. Die *T<sub>2</sub>-Zeitkonstante* beschreibt die Verringerung der Transversalmagnetisierung bedingt durch den Verlust der Phasenkohärenz der Präzession (Dephasierung) und wird deshalb auch als *Spin-Spin-Relaxation* bezeichnet. Je nachdem wie der zeitliche Abstand zwischen aufeinanderfolgenden HF-Pulsen gewählt wird, wird entweder ein T<sub>1</sub>- oder ein T<sub>2</sub>-gewichtetes MR-Bild generiert. Bei einem T<sub>1</sub>-gewichteten Bild wird die Repetitionszeit kurz, d.h. innerhalb von 200-250 ms, gewählt, um den Einfluß der Dephasierung gering zu halten. Gewebe mit einer langen T<sub>1</sub>-Zeit hat zu diesem Zeitpunkt weniger Longitudinalmagnetisierung aufgebaut als Gewebe mit einer kürzeren T<sub>1</sub>-Zeit. Folglich ist die Transversalmagnetisierung und damit das HF-Signal im Gewebe mit langer T<sub>1</sub>-Zeit stärker als im Gewebe mit kurzer T<sub>1</sub>-Zeit. Protonenarmes Gewebe wie Fett erscheint signalreich und hell,

während protonenreiches Gewebe wie zum Beispiel ein Ödem dunkel erscheint.

Umgekehrt verhält sich ein  $T_2$ -gewichtetes Bild: Die Repetitionszeit wird hier so lang gewählt ( $> 2000$  ms), dass sich auch im Gewebe mit langer  $T_1$ -Zeit bereits viel Longitudinalmagnetisierung aufgebaut hat. Die  $T_1$ -Relaxation hat nun keinen Einfluss mehr, und die Amplitude des HF-Signals wird nur noch durch die Dephasierung ( $T_2$ -Relaxation) bestimmt. Bei einer Echo-Sequenz wird die Dephasierung durch einen  $180^\circ$ -Puls aufgehoben, indem das Vorzeichen der  $90^\circ$ -Transversalmagnetisierung umgekehrt wird. Das HF-Signal hat dann ein Maximum (Spin-Echo) zu genau der Zeit nach dem  $180^\circ$ -Puls, die dem Abstand zwischen  $90^\circ$ - und  $180^\circ$ -Puls entspricht (Echo-Zeit). Bei einer  $T_2$ -gewichteten Bildgebung wird auch die Echo-Zeit lang eingestellt (60-120 ms), um eine optimale Kontrastierung zu erzielen. Protonenreiches Gewebe mit einer langen  $T_2$ -Zeit erscheint dabei signalreich und hell, protonenarmes Gewebe dagegen dunkel.

### 2.3.1 Versuchsdurchführung Magnetresonanztomographie

In dieser Arbeit wurde eine  $T_2$ -Gewichtung gewählt, da diese sich gut eignet um Ödeme darzustellen. Alle MR-Bilder wurden mit einem 11,7 T Biospec Tierscanner (Bruker BioSpin®, Billerica, USA) mit der Software Paravision 5.1 (Bruker BioSpin®) aufgenommen. Als Empfängerspule diente eine Oberflächenspule (Bruker Biospin®) in Kombination mit einem Resonator (Durchmesser: 72 mm), welche in einer Resonatorspule mit einem Durchmesser von 90 mm und einer Gradientenstärke von 745mT/m (BFG-150/90-S14, Resonance Research Inc., Billerica, MA, USA) positioniert wurde.

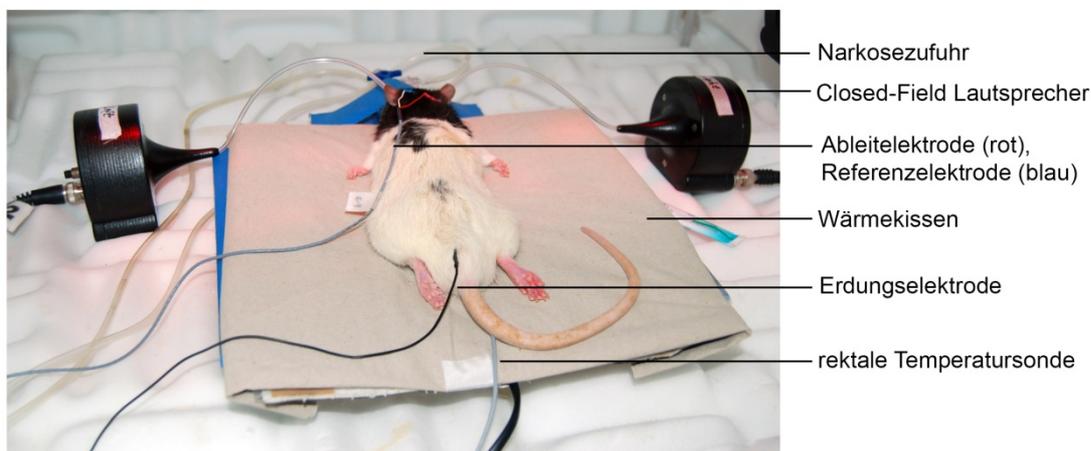
Es wurde eine  $T_2$ -gewichtete *Rapid Acquisition Spin Echo*-Sequenz zur Bildgenerierung gewählt, die eine Wiederholungsrate von 8 hatte, eine Repetitionszeit von 6500 ms und eine effektive Echozeit von 32.5 ms. Das Bild bestand aus 58 Schnitten mit einer Schichtdicke von 0,5 mm. Das *Field of View* war 3,2 x 3,2 cm groß und die Matrixgröße der resultierenden Bilder betrug  $256 \times 256$  Bildpunkte.

### 2.4 Hörtest

Die Hörfähigkeit aller Versuchstiere, die die Motivationsaufgabe durchliefen, wurde sowohl vor als auch nach der Operation getestet. Dafür wurden frühe akustische evozierte Potentiale (FAEPs; spezielle Komponenten des EEGs) von der Schädeloberfläche abgeleitet. FAEPs bestehen bei der Ratte aus vier Komponenten, die die sequenzielle Aktivierung des auditorischen Nervs, des Hirnstamms sowie auditorischer Zentren im Mittelhirn (Shaw, 1988) widerspiegeln.

Die Messung fand in einer schallisolierten Box umgeben von einem Faraday'schen Käfig, statt. Die Ratte wurde narkotisiert und wie oben beschrieben (vgl. 2.2) wurde die Körpertemperatur mit einem Wasserbad auf 37 °C konstant gehalten.

Die Ableitung der FAEPs erfolgte mittels zweier Ableitelektroden (Nadelelektroden) in Form einer Differenzableitung: Eine Elektrode wurde hinter das rechte bzw. linke Ohr über dem Mastoid (*Ableitelektrode*) und eine weitere auf dem Vertex positioniert (*Referenzelektrode*). Zur Erdung diente außerdem eine dritte Elektrode, die auf dem Rücken des Tiers kurz vor der Schwanzwurzel platziert war (vgl. Abbildung 8).



**Abbildung 8: Versuchsaufbau für die Bestimmung der Hörschwelle.** Die Ratten waren während der Testung narkotisiert und die Körpertemperatur wurde über ein Wärmekissen konstant gehalten. Die akustischen Stimuli wurden über Plastikschläuche von den Lautsprechern direkt in den Gehörgang der Ratte geleitet. Zur Ableitung der Potentiale wurde eine Nadelelektrode direkt hinter das rechte oder linke Ohr über dem Mastoid angebracht, eine zweite (Referenz-) Elektrode wurde auf dem Vertex platziert. Oberhalb der Schwanzwurzel auf dem Rücken des Tiers wurde eine dritte Elektrode zur Erdung positioniert. Die Stimuli wurden über die Software SigGen32 (TDT®) in einem Prozessor (RX6, TDT®) generiert und dann über einen Verstärker (SA1 Stereo Power Amp; TDT®) an die Closed-Field Lautsprecher weitergeleitet.

Zur Übertragung der akustischen Stimuli wurden *Closed-Field* Lautsprecher (CF1, Tucker Davis (TDT)<sup>®</sup>, Alachua, USA) benutzt, mit denen der Schall über einen Plastikschlauch direkt in den Gehörgang geleitet wurde. Als akustische Stimuli wurden Klicksignale mit einer Länge von 50  $\mu$ s verwendet. Die Stimuli bestanden aus einem Frequenzband von 1-20 kHz, so dass viele auditorische Neurone gleichzeitig stimuliert wurden.

Der Trigger wurde vom Stimmulationscomputer mittels BNC-Kabelverbindungen, welche über ein Rangierfeld (engl. „Patchpanel“, PP24,TDT<sup>®</sup>) mit dem Verstärker verbunden war, zum Datenerfassungscomputer weitergeleitet. Die vom Kopf des Tieres abgeleiteten elektrophysiologischen Signale wurden mit Hilfe eines Differenzverstärkers 1000 fach verstärkt und an den Datenerfassungscomputer weitergeleitet. Dort wurden die Eingangssignale mit der Software Dasy Lab (Dasy Lab<sup>®</sup>) digitalisiert und online präprozessiert. Die abgeleiteten Signale wurden noch einmal um das 1000-fache verstärkt und hoch- (100 Hz) und tiefpassgefiltert (3000 Hz). Die vom Stimmulationscomputer (TDT) zeitsynchron zur Präsentation der akustischen Stimuli ausgegebenen Trigger wurden bei der Präprozessierung dazu verwendet, die Einzelpotentiale über mehrere Stimmulationsdurchgänge zu mitteln. Die abgeleiteten Potentiale wurden über mindestens 300 (bis 1000) Stimmulationen pro Lautstärke gemittelt, da ab dieser Anzahl von Mittelungen rauschfreie FAEPs dargestellt werden konnten, die zur Analyse der charakteristischen Potentialkomponenten geeignet waren.

Um die individuelle Hörschwelle der Ratten zu bestimmen, wurden die akustischen Stimuli mit unterschiedlichen Lautstärken präsentiert, wobei die Messung bei 80 dB pSPL (peak sound pressure level) begonnen und dann die Lautstärke in 10 dB pSPL Schritten bis auf 20 dB pSPL reduziert wurde. Als Hörschwelle wurde in der offline erfolgenden Analyse dann der Mittelwert zwischen der Lautstärke bei der kein Potential mehr zu erkennen war und der Lautstärke bei der das letzte FAEP detektiert wurde, definiert. Wenn beispielsweise bei 30 dB pSPL noch deutliche Potentiale zu erkennen waren, bei 20 dB pSPL jedoch nicht mehr, wurde ein Wert von 25 dB pSPL als Hörschwelle angenommen.

## 2.5 Verhaltensparadigma „*Motivationsaufgabe*“

Ziel des Verhaltensparadigmas *Motivationsaufgabe* war es, einen Verhaltensaufbau zu konzipieren, bei dem die Ratte einen gewissen Arbeitsaufwand erbringen musste, um eine Belohnung zu erhalten. Die Motivation, für Belohnung zu arbeiten, sollte dann als Funktion des erbrachten Aufwands ermittelt werden.

Die Aufgabe der Ratte bestand darin, die Nase für die Dauer eines akustischen Stimulus in eine sogenannte *Nosepoke-Einheit* (Vertiefungsloch mit Lichtschranke, vgl. Abbildung 9) zu halten. Über die Trägerfrequenz des akustischen Stimulus wurde den Versuchstieren angekündigt, ob die Nase für eine kurze, mittlere oder lange *geforderte Wartezeit* in der *Nosepoke-Einheit* belassen werden musste (vgl. 2.5.3). Ein Ton von 9 kHz signalisierte beispielsweise eine geforderte Wartezeit von 400 ms. Nur wenn die Zeit eingehalten wurde, folgte im Anschluss eine belohnungsassoziierte Diskriminierungsaufgabe (vgl. 2.5.3). Die *Motivationsaufgabe* und alle vorherigen Trainingsschritte (vgl. 2.5.4) wurden von mir konzipiert und die dafür notwendigen Skripte zur Ansteuerung der Konditionierungsbox programmiert.

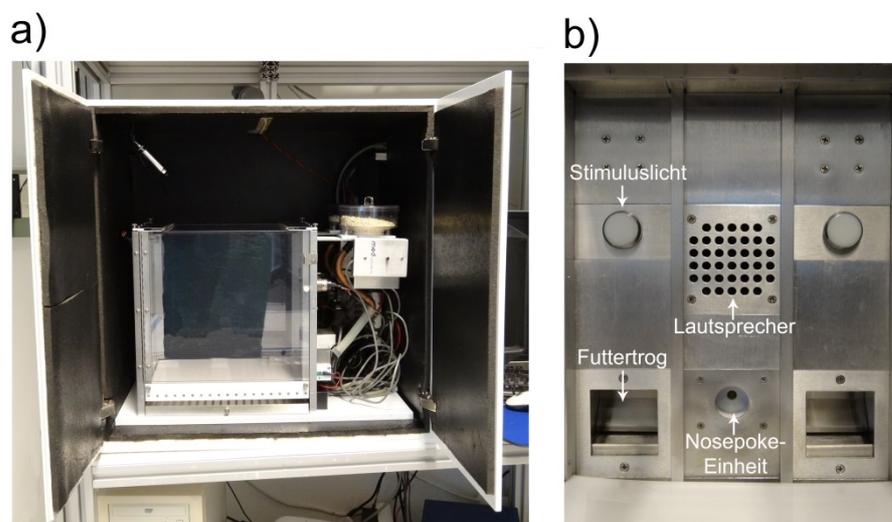
### 2.5.1 Aufbau der operanten Konditionierungsbox

Um das Motivationsverhalten unter möglichst reizarmen und vom Experimentator unabhängigen Bedingungen durchführen zu können, wurde eine operante Konditionierungsbox als Versuchskammer gewählt (Maße: 0,5 cm × 24,1 cm × 21,0 cm, Med associates Inc.<sup>®</sup>, Georgia, VT, USA). Als Belohnung wurden in allen Experimenten Zuckerpellets verwendet (45 mg, Bioserv<sup>®</sup>, Frenchtown (NJ), USA). Die operante Konditionierungsbox wurde über das Software Programm Med-PC (Med associates Inc.<sup>®</sup>) gesteuert. Die *Motivationsaufgabe* sowie die vorherigen Trainingsschritte (vgl. 2.5.4) wurden in dem Programm Trans IV (Med associates Inc.<sup>®</sup>) programmiert, das die Dateien in DLL Dateien konvertiert, so dass die Programme dann über die Software Med PC (Med associates Inc.<sup>®</sup>) abgespielt werden konnten.

Wie oben erläutert, wurden alle Versuche bei Beleuchtung mit Rotlicht durchgeführt (vgl. 2.1). Die operante Konditionierungsbox stand in einer lichtundurchlässigen Kammer (Abbildung 9 a), die innen zusätzlich mit etwas schalldämpfendem

Schaumstoff ausgekleidet war. In der Kammer war eine Kamera (Logitech®, Apples, Schweiz) angebracht, über die das Versuchstier während des Versuchs beobachtet werden konnte. Um ausreichend Licht für die Kameraüberwachung zu haben, war während des Versuchs das Hauslicht in der Box eingeschaltet, das mit einer roten Farbfolie (Super Gel Fire®, Rosco, UK), die nur für Licht mit einer Wellenlänge von über 600 nm durchlässig ist, umwickelt war.

Abbildung 9 b zeigt den Versuchsaufbau für die Motivationsaufgabe. Die Module waren alle auf der gleichen Querseite der Konditionierungsbox (Modulwand, Abbildung 9 b) angebracht, mit Ausnahme des Hauslichts (hier nicht zu sehen), das sich gegenüber von der Modulwand befand. Auf der rechten und linken Seite der Modulwand war jeweils ein Futtertrög eingebaut, der über eine Kupferröhre mit einem Futterspender verbunden war (Abbildung 9 a). Oberhalb der Futtertröge waren rechts und links jeweils Stimuluslichter angebracht. Mittig befanden sich die Nosepoke-Einheit und oberhalb davon ein Lautsprecher.



**Abbildung 9: Aufbau der operanten Konditionierungsbox. a)** Die operante Konditionierungsbox stand in einer lichtundurchlässigen, schalldämpfenden Box, die mit einer Kamera ausgestattet war. **b)** Versuchsaufbau der Motivationsaufgabe: Die Module waren alle auf der gleichen Seite der Konditionierungsbox angebracht, mit Ausnahme des Hauslichts (hier nicht zu sehen), das sich gegenüber von der Modulwand befand. Mittig war die Nosepoke-Einheit und oberhalb davon der Lautsprecher positioniert. Rechts und links waren jeweils zwei Futtertröge eingebaut, die mit einem Futterspender verbunden waren (vgl. a). Oberhalb der Futtertröge befand sich jeweils ein Stimuluslicht.

Die Daten, die während des Versuchs gemessen wurden (Reaktionszeiten, Antworttyp etc., vgl. 2.5.6), wurden von der Software Med PC in Texteditordateien geschrieben und wurden dann über das Programm Med PC to Excel (Med associates Inc.®) in Excel (Microsoft Office®, 2010) übertragen.

### 2.5.2 Akustische Stimuli

Für die Motivationsaufgabe wurden drei Töne unterschiedlicher Frequenz verwendet (9 kHz, 12 kHz, 15 kHz), die alle im idealen Hörbereich von Ratten liegen (Borg, 1982). Die Töne wurden mit einem Schallpegelmessgerät auf eine Lautstärke von 75 dB SPL (Typ: NL:32, Rion Co Ltd.®, Japan) kalibriert. Für die Kalibrierung der Töne wurde das Mikrophon unmittelbar vor der Nosepoke-Einheit (Abbildung 9 b) positioniert.

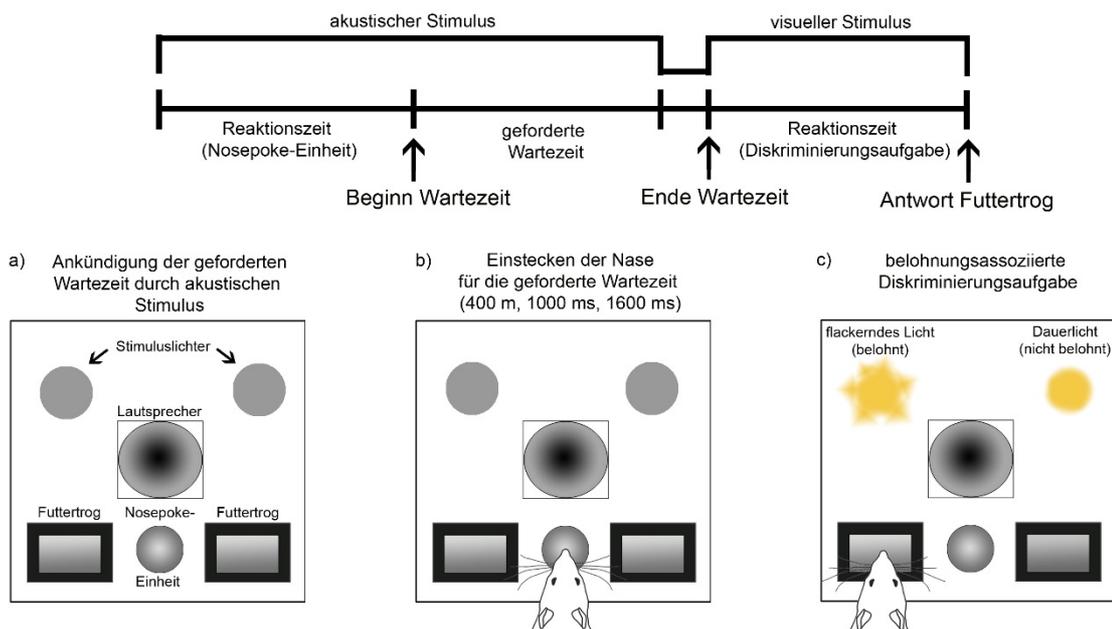
### 2.5.3 Ablauf der Motivationsaufgabe

Im Folgenden wird der Ablauf der Motivationsaufgabe erläutert. Eine Versuchseinheit dauerte insgesamt 30 min und alle Durchläufe waren wie im Anschluss beschrieben aufgebaut. Der Ablauf der Motivationsaufgabe kann in drei Schritte eingeteilt werden (vgl. Abbildung 10):

**Schritt 1 (Abbildung 10 a):** Ein Durchlauf begann mit der Präsentation eines akustischen Stimulus (Sinuston), der über die Trägerfrequenz die Länge der geforderten Wartezeit, d.h. kurz, mittel, lang, ankündigte (Abbildung 10a; 9 kHz: 400 ms; 12 kHz: 1000 ms; 15 kHz: 1600 ms). Das Ende des Tons signalisierte dem Tier entsprechend, dass die geforderte Wartezeit erreicht war. Die Länge der Wartezeiten wurde in Vorexperimente bestimmt. Während eine Nosepoke-Zeit von 400 ms für die Ratten eher kurz zu sein scheint, erforderte eine Länge von 1600 ms bereits mehr Geduld. In den Vorversuchen getestete Wartezeiten von 2-4 s wurden wieder verworfen, weil die Ratten sie nur selten einhalten konnten. Die Abfolge der geforderten Wartezeiten wurde im Skript (pseudo-) randomisiert und blieb dann in allen Experimenten gleich. Dabei wurde allerdings vorgegeben, dass die gleiche geforderte Wartezeit nicht mehr als dreimal in direkter Folge vorkommen durfte.

Die Zeit zwischen Beginn des akustischen Stimulus und der Antwort der Ratte an der Nosepoke-Einheit wurde als „Reaktionszeit“ betrachtet. Antwortete das Versuchstier nicht innerhalb von 10 s wurde der Durchlauf beendet und einer neuer begann unmittelbar (nicht beantworteter Durchlauf).

**Schritt 2 (Abbildung 10 b):** Nachdem die Ratte ihre Nase in die Nosepoke-Einheit gesteckt hatte, bestand ihre Aufgabe darin, solange dort zu verweilen, bis die geforderte Wartezeit erreicht war. Die Lichtschranke in der Nosepoke-Einheit wurde beim Einführen der Nase unterbrochen, so dass die Dauer, für die das Versuchstier die Nase dort beließ, gemessen werden konnte. War die geforderte Wartezeit erreicht, endete der akustische Ton. Wenn die Ratte die Nase schon vor Erreichen der geforderten Wartezeit herauszog, wurde der Durchlauf beendet, die Ratte erhielt keine Belohnung und es folgte zusätzlich eine Strafzeit von 5 s, in der keine Stimuli präsentiert wurden. Danach begann ein neuer Durchlauf (Schritt 1).



**Abbildung 10: Ablauf der Motivationsaufgabe.** **a)** Ein Durchlauf begann mit einem akustischen Stimulus, der erstens den Beginn des Durchlaufs signalisierte und zweitens über die Trägerfrequenz die Länge der geforderten Wartezeit ankündigte (9 kHz: 400 ms; 12 kHz: 1000 ms; 15 kHz: 1600 ms). **b)** Die Aufgabe der Ratte bestand darin, die Nase für die Dauer des akustischen Tons in der Nosepoke-Einheit zu belassen. Der Ton endete, sobald die geforderte Wartezeit erreicht war. **c)** Nur wenn das Tier die geforderte Wartezeit einhielt, folgte eine belohnungsassoziierte Diskriminierungsaufgabe. Andernfalls blieb der Durchlauf unbelohnt und es begann ein neuer. In der anschließenden Diskriminierungsaufgabe wurde das Tier belohnt, wenn es den Futtertrog unterhalb des flackernden Lichts wählte.

**Schritt 3 (Abbildung 10 c):** Wenn die geforderte Wartezeit eingehalten wurde, folgte eine belohnungsassoziierte Diskriminierungsaufgabe. In dieser wurden zwei verschiedene Stimuli (Stimulus 1: flackerndes Licht: 3,33 Hz und Stimulus 2: Dauerlicht) randomisiert rechts oder links (s. o.) präsentiert. Die Ratten mussten dabei lernen, dass nur einer der beiden Stimuli mit einer Belohnung assoziiert war, welche sie im Futtertrog unterhalb des jeweiligen Stimuluslichts erhalten konnten. Ein Durchgang wurde beantwortet, indem die Lichtschranke des Futtertrogs unterhalb der Stimuluslichter mit der Nase unterbrochen wurde. In diesem Versuch führte nur die Wahl des Stimulus 1 zu einer Belohnung (1 Pellet, 45 mg, Bioserv®). Um zu verhindern, dass die Ratten zufällig antworteten ohne die visuellen Stimuli zu beachten, wurden die Lichter erst 3 s lang präsentiert, bevor bei richtiger Stimulusauswahl eine Belohnung erfolgte. Gemessen wurde neben der Antwortwahl (richtig oder falsch) die Reaktionszeit am Futtertrog (*Reaktionszeit Diskriminierungsaufgabe*). Erfolgte schon vor den 3 s eine Antwort am Futtertrog, wurde die Zeit nur dann als Reaktionszeit gewertet, wenn die Ratte sich nicht noch vor Ablauf der 3 s für den anderen Stimulus entschied. Bei Antwort am richtigen Futtertrog startete ein neuer Durchlauf unmittelbar nachdem die Belohnung abgeholt wurde (Schritt 1). Bei falscher Antwort begann der neue Durchlauf erst nach 5 s. Aus vorherigen eigenen Experimente und auch aus der Literatur war bekannt, dass Ratten diese kurze Pause schon als Strafe wahrnehmen (Broersen & Uylings, 1999).

### 2.5.4 Training Motivationsaufgabe

Für das Verhaltensparadigma Motivationsaufgabe wurden die Versuchstiere zunächst schrittweise trainiert. Das Training wurde montags bis freitags täglich wiederholt bis das Trainingsziel vollständig erreicht war. Die erste Trainingseinheit dauerte nur 15 min, alle anderen 30 min. Ein Teil des Trainings wurde nicht von mir sondern von Christiane Schäfer (biologisch-technische Assistentin, MPI f. n. F. Köln) und Daniel Kleineberg (SHK, MPI f. n. F. Köln) durchgeführt. Am Tag vor Beginn des Trainings wurde in jeden Käfig ein Schälchen mit den im Versuch verwendeten Zuckerpellets gestellt, damit sich die Ratten vorab mit der Belohnung vertraut machen konnten. Am ersten Trainingstag wurden die Tiere dann an die operante Konditionierungsbox gewöhnt, indem 15 min lang alle 10 s ein Pellet über den Futterspender in den Futtertrog fiel. Die Ratten lernten dabei, die Gerä-

sche des Pellet-Spenders und das Fallen der Pellets nicht als bedrohlich wahrzunehmen. Nach der Gewöhnung an die Konditionierungsbox begann das eigentliche Training: Das erste Ziel bestand darin, den Versuchstieren beizubringen, ihre Nase in die Nosepoke-Einheit zu halten und dort für die kürzeste geforderte Wartezeit zu verbleiben (Trainingsschritt 1). Als nächstes sollten die Tiere lernen, dass nur einer der visuellen Stimuli in der Diskriminierungsaufgabe zu einer Belohnung führte (Trainingsschritt 2). Im Anschluss wurde die geforderte Wartezeit auf 1000 ms (Trainingsschritt 3) und 1600 ms (Trainingsschritt 4) verlängert.

Das Training wurde nach dem Lernerfolg des einzelnen Versuchstieres ausgerichtet und dauerte insgesamt zwischen 2 und 3 Monaten. Sobald die Versuchstiere alle Trainingsziele erreicht hatten, begannen sie mit der eigentlichen Motivationsaufgabe (s. o.). Auch nach der Operation wurde das Training nicht wiederholt, sondern nur noch die Motivationsaufgabe durchgeführt (vgl. 2.9.4). Die Trainings-schritte und die jeweiligen Lernkriterien werden im Folgenden kurz dargestellt:

**Nosepoken für 400 ms (Dauer: 30 min):** Wie in der Motivationsaufgabe wurde der Beginn des Nosepokes mit einem akustischen Ton angekündigt (9 kHz Ton). Wurde die geforderte Wartezeit eingehalten, startete die Diskriminierungsaufgabe. Wurde zunächst am Futtertrog unterhalb des nicht belohnten Stimulus geantwortet, konnte die Antwort noch korrigiert werden. Die Ratte erhielt also nach jedem erfolgreichen Durchlauf eine Belohnung. Dieser Trainingsschritt wurde so oft wiederholt, bis sie innerhalb einer Trainingseinheit in mindestens 150 Durchläufen die geforderte Wartezeit eingehalten hatte.

**Nosepoke für eine geforderte Wartezeit von 400 ms und Training der Diskriminierungsfähigkeit (Dauer: 30 min):** Nach erfolgreichem Durchlauf (Einhalten der geforderten Wartezeit von 400 ms) folgte die eigentliche Diskriminierungsaufgabe (vgl. 2.5.3). Die Ratte wurde also nur bei Wahl des flackernden Lichts belohnt und konnte die Antwort am Futtertrog nicht mehr korrigieren. Um die Versuchstiere nicht zu sehr an die kurze geforderte Wartezeit zu gewöhnen, wurde dieser Trainingsschritt nur dreimal wiederholt. Die Diskriminierungsfähigkeit verbesserte sich jedoch auch noch im weiteren Training.

**Nosepoken für 1000 ms (Dauer: 30 min):** Die geforderte Wartezeit verlängerte sich nun auf 1000 ms. Dieser Trainingsschritt wurde mindestens dreimal aber so

oft durchgeführt, bis in mindestens 100 Durchläufen (innerhalb einer Trainingseinheit) die geforderte Wartezeit eingehalten wurde.

**Nosepoken für 1600 ms (Dauer: 30 min):** Die geforderte Wartezeit betrug nun 1600 ms. Dieser Trainingsschritt wurde mindestens dreimal aber so oft durchgeführt, bis in mindestens 50 Durchläufen (innerhalb einer Trainingseinheit) die geforderte Wartezeit eingehalten wurde.

**Motivationsaufgabe (wie in 2.5.3 beschrieben):** Die Motivationsaufgabe wurde fünfmal im Training durchgeführt, bevor mit den eigentlichen Verhaltenstestungen begonnen wurde.

### 2.5.5 Versuchsbedingungen

Die Motivationsaufgabe wurde, soweit nicht anders beschrieben, immer mit hungrigen Tieren durchgeführt, d. h. die letzte Fütterung lag mindestens 16 Stunden zurück. Im Folgenden wird dieser Zustand als *hohes Motivationslevel* bezeichnet. Die Versuchstiere erhielten ihre normale Tagesration (vgl. 2.1) jeweils nach den Experimenten und verzehrten diese auch sogleich.

Zusätzlich wurde die Motivationsaufgabe auch direkt nach der Fütterung mit 25 g Zuckerpellets (gleiche Pellets wie im Verhaltensversuch) durchgeführt (vgl. 2.6.2.1). Für das Fressen der Pellets wurde den Ratten eine Zeit von 25 min eingeräumt. Die übriggebliebenen Pellets wurden ausgewogen und die Motivationsaufgabe wie zuvor beschrieben durchgeführt. Diese Bedingung wird im Folgenden als Messung im *reduzierten Motivationslevel* bezeichnet.

### 2.5.6 Auswertung der Motivationsaufgabe

Während der Motivationsaufgabe wurden verschiedene Parameter automatisch aufgenommen und anschließend ausgewertet. Wie oben beschrieben wurde die Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit (Motivationsaufgabe) und die Reaktionszeit am Futtertrog (Diskriminierungsaufgabe) gemessen. Reaktionszeiten von unter 130 ms wurden aus der Auswertung ausgeschlossen, da angenommen wurde, dass diese durch eine vorzeitige Reaktion, wie z. B. das Einführen der Nase in die Nosepoke-Einheit vor dem Erklingen des akustischen Stimulus, zustande kamen (Courtiers *et al.*, 2007). Außerdem wurde während des Einsteckens der Nase in die

Nosepoke-Einheit die Zeit gemessen, die das Tier tatsächlich in der Nosepoke-Einheit verblieb (*tatsächliche Wartezeit*). Alle Zeiten wurden mit der maximalen zeitlichen Auflösung, die das System zuließ, aufgezeichnet (10 ms).

Ausgehend davon, ob die geforderte Wartezeit eingehalten wurde oder nicht, wurde die absolute Anzahl sowie der prozentuale Anteil der erfolgreich und der nicht erfolgreich absolvierten Durchläufe ausgewertet. Darüber hinaus wurden nicht beantwortete Durchläufe, d.h. Durchläufe, in denen keine Antwort an der Nosepoke-Einheit innerhalb von 10 s erfolgte, hinsichtlich absoluter Anzahl und prozentualem Anteil ausgewertet. Unterschieden wurde hier auch zwischen der Länge der geforderten Wartezeiten (400 ms, 1000 ms, 1600 ms).

Um ein möglichst geeignetes Maß für die Beurteilung des Motivationslevels jedes einzelnen Versuchstiers zu erhalten, wurde zudem eine individuelle Motivationschwelle bestimmt. Dafür wurde der prozentuale Anteil erfolgreicher Durchläufe jeweils für die kurze, mittlere und lange Wartezeit bestimmt. Aus der geforderten Wartezeit und dem prozentualen Anteil erfolgreicher Wartedurchläufe wurde dann mit Hilfe einer dynamischen Regression ( $y = y_0 + ax + bx^2$ ) (Sigma Plot®, San Jose, USA) die Wartezeit ermittelt, bei der das Versuchstier genau 70 % der Durchläufe erfolgreich beendet haben würde (vgl. Ergebnisse 4.2.1). Die Motivationswellen der einzelnen Versuchstiere konnten so mit einem einzigen numerischen Wert zwischen verschiedenen Durchläufen (z.B. präoperativ versus postoperativ) sowie innerhalb der Gruppe verglichen werden. Weiterhin wurden die Anzahl und der prozentuale Anteil belohnter Durchläufe ausgewertet.

Um zu ermitteln, ob der Schlaganfall im Versorgungsgebiet der ACA einen Effekt auf das Verhalten in der Motivationsaufgabe hatte, wurde für die verschiedenen Verhaltensparameter die prozentuale Änderung im Vergleich zur präoperativen Messung errechnet. Dies erleichtert die Interpretation der Verhaltensdaten, weil nur die Änderung von der präoperativen (a) zur postoperativen Messung (b) pro Tier angegeben wird und daher initiale Unterschiede zwischen den Tieren keine Rolle spielen. Die prozentuale Änderung wurde mittels *Mittelpunktberechnung* (engl. „midpoint“) bestimmt:  $(a-b)/(\frac{a+b}{2})$ . Prozentwerte und mittlere Reaktionszeiten wurden nur dann berechnet, wenn die Versuchstiere innerhalb einer Testung mindestens 20 Durchläufe machten. Andernfalls wurde die entsprechende Mes-

sung des Versuchstiers ausgeschlossen. Hierauf wird im entsprechenden Ergebnisteil (vgl. 4.2) näher eingegangen. An dieser Stelle soll noch hinzugefügt werden, dass nur Messungen mit reduziertem Motivationslevel ausgeschlossen werden mussten.

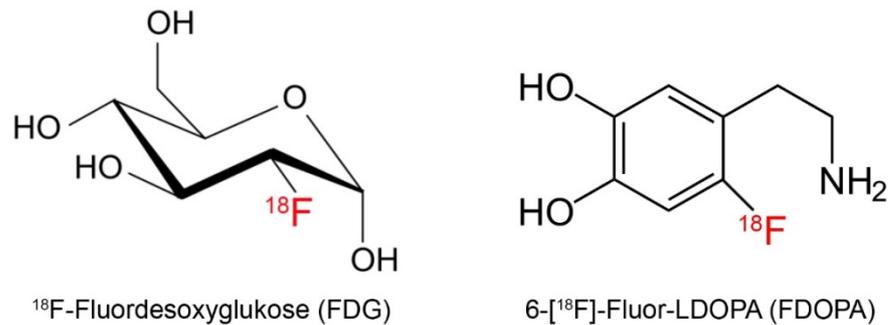
## 2.6 FDG und FDOPA Verhaltens-Positronen-Emission-Tomographie

### 2.6.1 Prinzip der Positronen-Emissions-Tomographie

PET ist ein metabolisches bildgebendes Verfahren, mit dem Schnittbilder lebender Organismen aufgenommen werden können, indem die Verteilung einer radioaktiv markierten Substanz (Radiopharmakon) im Organismus sichtbar gemacht wird. Je nachdem welches Radiopharmakon verwendet wird, können mit Hilfe dieser Methode unterschiedliche biochemische und physiologische Prozesse dargestellt werden. In der vorliegenden Arbeit wurden zwei  $^{18}\text{F}$ -Fluor markierte Radiopharmaka verwendet und zwar  $^{18}\text{F}$ -Fluordesoxyglukose (FDG) und 6- $^{18}\text{F}$ -Fluor-LDOPA (FDOPA).

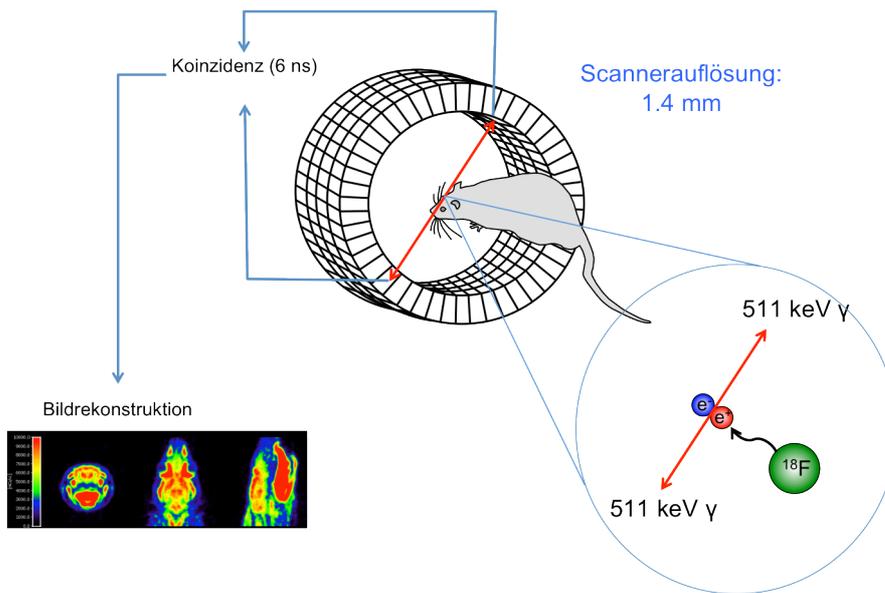
Abbildung 11 zeigt die Strukturformeln von FDG und FDOPA. Bei der Synthese von FDG werden Glukosemoleküle verwendet, bei denen die Hydroxylgruppe am  $\text{C}_2$ -Atom durch  $^{18}\text{F}$  ausgetauscht wird. Die Strukturformel von FDOPA gleicht LDOPA (L-3,4-Dihydroxyphenylalanin; Vorstufe von Dopamin), wobei am  $\text{C}_1$ -Atom des Benzolrings die Hydroxylgruppe durch ein  $^{18}\text{F}$ -Molekül ausgetauscht ist. LDOPA ist die Vorstufe von Dopamin und wird über die aromatische-L-Aminosäure-Decarboxylase in Dopamin umgewandelt. LDOPA (bzw. FDOPA) kann die Blut-Hirnschranke überqueren, Dopamin jedoch nicht, so dass radioaktiv markiertes Dopamin (z. B.  $^{18}\text{F}$ -Fluor-Dopamin), für diese Studie ungeeignet gewesen wäre.

Die Halbwertszeit von  $^{18}\text{F}$  beträgt 109,8 min (Raichle, 1979). Damit hat  $^{18}\text{F}$  eine wesentlich längere Halbwertszeit als andere gängige PET-Nuklide wie  $^{15}\text{O}$  (122 s) oder auch  $^{11}\text{C}$  (22,64 min), was die Versuchsdurchführung des Verhaltens-PETs erheblich erleichtert (vgl. 2.6.2). Dies ist vor allem im Hinblick auf die Kombination der PET-Bildgebung mit Verhaltensversuchen entscheidend (vgl. 2.6.2). Beide Radiopharmaka wurden von der Radiochemie des Instituts (Uniklinik Köln und MPI f. n. F. Köln) synthetisiert und zur Verfügung gestellt.



**Abbildung 11: Strukturformeln der verwendeten  $^{18}\text{F}$ -Fluor Radiopharmaka FDG (links) und FDOPA (rechts).** Der Präkursor von FDG ist Glukose, bei der die Hydroxylgruppe am C<sub>2</sub>-Atom durch  $^{18}\text{F}$  ausgetauscht wird. Die Strukturformel von FDOPA gleicht LDOPA (Vorstufe von Dopamin), wobei am C<sub>1</sub>-Atom des Benzolrings die Hydroxylgruppe durch ein  $^{18}\text{F}$  Molekül ausgetauscht ist.

In Abbildung 12 ist die PET-Bildgebung vereinfacht dargestellt. Das Prinzip der PET besteht darin, dass beim radioaktiven Zerfall des  $^{18}\text{F}$  Positronen ( $\beta$ -Zerfall) entstehen. Trifft das Positron mit einem Elektron zusammen, entstehen zwei hochenergetische  $\gamma$ -Photonen (511 keV), die in einem Winkel von  $180^\circ$  ausgestrahlt werden. Dieser Prozess wird auch als *Annihilation* bezeichnet (Vernichtungsstrahlen). Der PET-Scanner verfügt über  $4 \times 48$  ringförmig angeordnete Detektorelemente, die die Vernichtungsstrahlen räumlich und zeitlich messen können. Zwei Vernichtungsstrahlen werden als *koinzident* (zeitliches Zusammentreffen von Ereignissen) betrachtet, wenn sie innerhalb von 6 ns auf zwei gegenüberliegende Detektorelemente ( $180^\circ$ ) treffen. Über die Messung der Koinzidenzen kann dann ein räumliches Schnittbild erzeugt werden. Die physikalische Auflösung des verwendeten  $\mu\text{PET}$ -Focus 220 Scanner (concorde Microsystems<sup>®</sup>, Knoxville, TN, USA) betrug 1,4 mm. Als Software diente der microPET Manager<sup>®</sup> (Version 2.5.0, Siemens Preclinical Solutions<sup>®</sup>, Knoxville, TN, USA).



**Abbildung 12:** Beim radioaktiven Zerfall des  $^{18}\text{F}$  entstehen Positronen. Treffen diese mit einem Elektron zusammen, entstehen hochenergetische Photonen (511 KeV,  $\gamma$ -Strahlen), die in einem Winkel von  $180^\circ$  ausgestrahlt werden (Vernichtungsstrahlen). Treffen diese innerhalb von 6 ns auf zwei gegenüberliegende Detektorelemente, werden sie als koinzident betrachtet. Über die Messung der Koinzidenzen kann dann ein räumliches Schnittbild erzeugt werden (Die Abbildung wurde freundlicherweise von Heike Endepols zur Verfügung gestellt).

## 2.6.2 Verhaltens-Positronen-Emissionstomographie

Mit dem Verhaltens-PET kann die zelluläre Aufnahme des Radiopharmakons (FDG oder FDOPA) während eines Verhaltensversuchs im wachen Tier gemessen werden. Das Radiopharmakon akkumuliert während der Durchführung des Verhaltensversuchs in der Zelle und verbleibt dort (vgl. dazu 2.6.2.1 und 2.6.2.2). Nach Beendigung des Verhaltensparadigmas kann dann die PET-Aufnahme im narkotisierten Tier durchgeführt werden. Die Methode des Verhaltens-PET und die verwendeten Protokolle werden im Folgenden zunächst für FDG und anschließend für FDOPA näher erläutert.

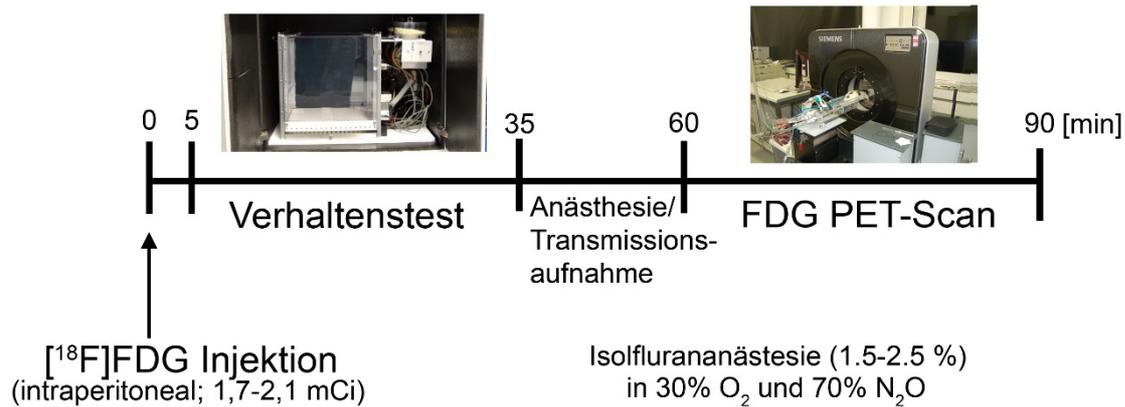
### 2.6.2.1 FDG-Verhaltens-PET

FDG ist ein indirekter Marker für neuronale Aktivität, da in den aktiven Zellen der Glukose- und Sauerstoffbedarf erhöht ist (Schiffer *et al.*, 2007; Raichle & Mintun, 2006) und so die FDG-Aufnahme durch die Aktivierung von Zellen im Vergleich zum Ruhezustand gesteigert ist.

Wie Glukose wird FDG über den Glukosetransporter aus dem Blut in die Zelle aufgenommen. Im ersten Schritt der Glykolyse kann die Hexokinase das FDG wie üblich in  $^{18}\text{F}$ -Desoxyglukose-6-Phosphat (FDG-6-P) umwandeln. Die weitere Metabolisierung im Glukosestoffwechsel ist ab dem zweiten Schritt der Glykolyse aber nicht mehr möglich: Die Glucose-6-Phosphat-Isomerase müsste für die Katalyse in Fruktose-6-Phosphat an die Hydroxylgruppe des  $\text{C}_2$ -Atoms binden, diese ist aber durch das  $^{18}\text{F}$  ersetzt (vgl. Abbildung 11). Es findet folglich keine weitere Metabolisierung im Glukosestoffwechsel mehr statt, das FDG-6-P akkumuliert in der Zelle und wird nur sehr langsam abgebaut. Die zelluläre Akkumulation des FDG-6-P wird beim Verhaltens-PET ausgenutzt. Da keine weitere Metabolisierung stattfindet und das FDG in der Zelle verbleibt, kann ein Verhaltensparadigma durchgeführt werden und im Anschluss bleibt genug Zeit, um die radioaktiv markierten Moleküle im Körper der Versuchstiere zu detektieren.

#### **2.6.2.1.1 Versuchsdurchführung des FDG-Verhaltens-PET**

Abbildung 6 zeigt den Ablauf des FDG-Verhaltens-PETs so wie er für die vorliegende Arbeit verwendet wurde. Zur Applikation des FDG wurde eine intraperitoneale (i. p.) Injektion gewählt. Nach Schiffer *et al.* (2007) steigt bis zu 15 min nach i. p. Injektion von FDG die Plasmakonzentration des Radiopharmakons stetig an, fällt dann langsam ab und stagniert 60 min nach Injektion. Um eine möglichst hohe FDG-Akkumulation während des Versuchs zu erreichen, begann der Verhaltensversuch 5 min nach intraperitonealer Injektion in die Bauchhöhle. Zu diesem Zeitpunkt ist bereits eine adäquate Plasmakonzentration erreicht (Schiffer *et al.*, 2007). Die injizierte Aktivität (radioaktiver Zerfall pro Zeiteinheit) betrug 1,7-2,1 mCi in einem Volumen von 500  $\mu\text{l}$ , wobei je nach Aktivität der Stammlösung mit NaCl verdünnt werden musste. Um Narkoseeffekte bei der Verhaltensmessung zu vermeiden (vgl. 2.9.1.2), wurde das FDG ohne Narkose injiziert. Um das Verletzungsrisiko durch starke Bewegung der Tiere zu minimieren, welches beispielsweise zum Umknicken der Injektionsnadel während der Injektion führen könnte, wurde der Ratte ein Strumpf (beide Ende offen) über Kopf und Oberkörper gestülpt und das Tier von einer zweiten Person für die Injektion festgehalten. Die Prozedur dauerte nur wenige Sekunden und wurde von den Ratten gut toleriert.

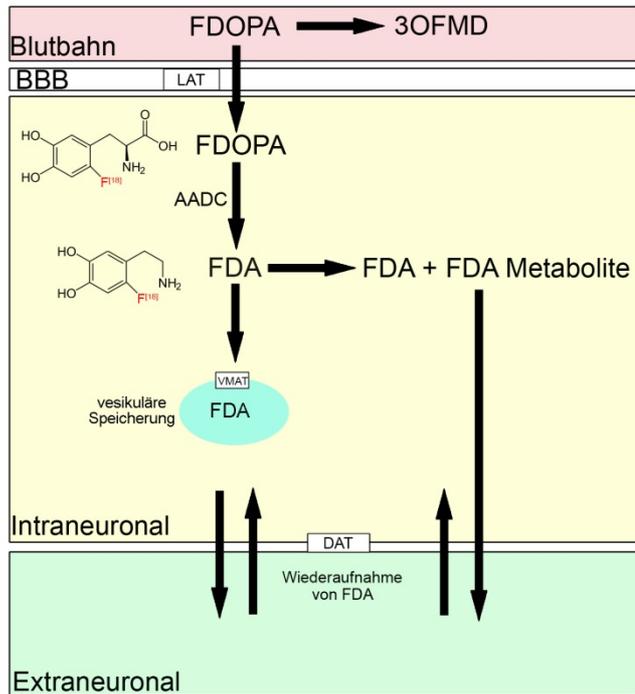


**Abbildung 13:** 5 min nach der FDG-Injektion begann der 30-minütige Verhaltensversuch. Im Anschluß wurde die Ratte narkotisiert und 60 min nach Injektion wurde dann ein 30-minütiger Emissionsscan durchgeführt. Zur Korrektur der Strahlungsabschwächung durch das Versuchstier wurde zwischen dem Verhaltenstest und der FDG-Aufnahme noch eine Transmissionsaufnahme mit einer rotierenden Punktquelle ( $^{57}\text{Co}$ ) in gleicher Position erstellt.

Nach dem 30-minütigen Verhaltensversuch wurde das Tier anästhesiert und in den Tierhalter eingespannt (vgl. 2.2). Durch das Tier selbst wird die Strahlung etwas abgeschwächt, wobei dieser Effekt nahe der Körpermittellinie am stärksten ist. Um den Effekt der Strahlungsabschwächung zu minimieren wurde eine Transmissionsaufnahme mit einer rotierenden  $^{57}\text{Co}$ -Quelle durchgeführt (Dauer: 10 min) und die PET-Aufnahme bei der Rekonstruktion entsprechend korrigiert (vgl. 2.6.4). 60 min nach Injektion begann dann eine 30 minütige FDG-Aufnahme.

### 2.6.2.2 FDOPA-Verhaltens-PET

FDOPA spiegelt die Aktivität der aromatischen-L-Aminosäure-Decarboxylase (AADC) wider (DeJesus *et al.*, 2000; Kumakura & Cumming, 2009) und stellt damit ein Radiopharmakon der präsynaptischen Dopaminsynthese dar. In Abbildung 14 ist der Metabolismus von FDOPA vereinfacht dargestellt. Genau wie LDOPA kann auch FDOPA die Blut-Hirnschranke passieren. Intraneuronal wird FDOPA dann von der AADC in  $^{18}\text{F}$ -Fluordopamin (FDA) umgewandelt und über den Typ 2 vesikulären Monoamintransporter (VMAT2) vesikulär aufgenommen.



**Abbildung 14: Metabolismus von FDOPA.** FDOPA kann wie LDOPA die Bluthirnschranke überqueren. Präsynaptisch wird es dann von der aromatischen-L-Aminosäure Decarboxylase (AADC) in  $^{18}\text{F}$ -Fluordopamin (FDA) umgewandelt. Das FDA wird zwar vesikulär gespeichert, jedoch muss beachtet werden, dass die Speicherung nicht vollständig irreversibel ist. Es kann schon vor der Speicherung metabolisiert werden und so in den extraneuronalen Raum gelangen. FDA kann über den DAT wieder präsynaptisch aufgenommen werden, ein anderer Teil wird jedoch weiter abgebaut und gelangt so in die Blutbahn. Das FDOPA Signal lässt sich also nicht nur durch FDA, sondern auch durch seine

Abbauprodukte erklären. **Modifiziert nach DeJesus *et al.*, 2000.**

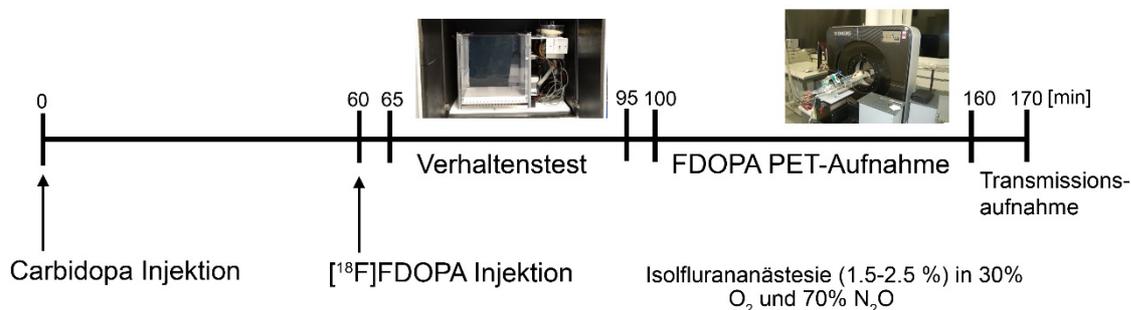
(**Abk:** 3 OFMD: 3-O-Methyl-6-Fluoro-L-DOPA, AADC: aromatischen-L-Aminosäure-Decarboxylase, BBB: Bluthirnschranke, DAT: Dopaminetransporter, LAT: L-Aminosäure-Transporter, FDA:  $^{18}\text{F}$ -Fluordopamin, VMAT: vesikulärer Monoamintransporter)

Die Speicherung des FDAs ist aber nicht wie beim FDG vollständig irreversibel (vgl. Abbildung 14; DeJesus *et al.*, 2000; Kumakura & Cumming, 2009). FDA kann, wie auch Dopamin, ausgeschüttet werden, an DA-Rezeptor binden und über den Dopamintransporter (DAT) wieder in die Zelle aufgenommen werden (DeJesus *et al.*, 2000). Es wird davon ausgegangen, dass der größte Anteil des ausgeschütteten FDOPAs wieder in die Zelle aufgenommen wird (DeJesus *et al.*, 2000). Intra-neuronal kann FDOPA außerdem schon vor der vesikulären Aufnahme über die Monoaminoxidase (MAO) in FDA-Metabolite abgebaut werden (De Jesus, 2000), wobei die Umwandlung in den ersten 5 min nach Injektion besonders hoch ist (Deep, 1997). Hinzu kommt, dass FDOPA ein besseres Substrat für die Catechol-Methyltransferase (COMT) zu sein scheint als LDOPA (Kumakura & Cumming, 2009): FDOPA wird vor dem Überschreiten der Bluthirnschranke sowie im Gehirn intra- und extrazellulär und auch teilweise schon zu 3-O-Methyl-6-Fluoro-L-DOPA (3-OFMD) abgebaut (vgl. Abbildung 14, Kumakura & Cumming, 2009). Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass sich das FDOPA-Signal nicht nur durch vesikulär gespeichertes FDA erklären lässt, sondern auch durch seine Abbauprodukte.

### 2.6.2.2.1 Versuchsdurchführung des FDOPA-Verhaltens-PET

Das in dieser Arbeit verwendete Protokoll für das FDOPA-PET (Abbildung 17) wurde an die Erkenntnisse aus der Literatur angepasst. Um den Abbau des FDOPAs vor Überschreiten der Blut-Hirnschranke möglichst gering zu halten, wurde den Versuchstieren 60 min vor der Injektion des Radiopharmakons Carbidopa (Bioserv®, Rostock, Deutschland) verabreicht. Carbidopa ist ein LDOPA-Decarboxylasehemmer, der den peripheren Abbau von FDOPA hemmt. Sowohl bei intraperitonealer als auch bei intravenöser Injektion hat die Carbidopagabe Einfluss auf die Qualität der FDOPA-Bilder. Bei oraler Gabe wurde dies hingegen, vermutlich auf Grund der geringen Absorption im gastrointestinalen Trakt, nicht beobachtet (Chan *et al.*, 1995). Es wurden 25 mg/kg Carbidopa in 0,5 ml NaCl (Emulsion) intraperitoneal unter kurzer Narkose injiziert (vgl. 2.2).

Die FDA-Konzentration im Striatum ist ab der 12. min bis zur 34. min nach Injektion besonders hoch und nimmt danach ab (Deep *et al.* 1997). Der Verhaltensversuch wurde daher wie beim FDG-Verhaltens-PET von der 5. bis zur 35. Minute nach Injektion durchgeführt.



**Abbildung 15:** Eine Stunde vor FDOPA Injektion wurde Carbidopa i.p. injiziert. 5 min nach der FDOPA Injektion begann der 30-minütige Verhaltensversuch. Direkt im Anschluß wurde das Tier narkotisiert und mit dem 60-minütigen FDOPA-Scan begonnen. Danach folgte ein Transmissionscan.

Das FDOPA wurde in den Vorexperimenten (vgl. 2.9.1) unter Narkose über einen Katheter (Braun®, Melsungen, Deutschland) in die Schwanzvene der Ratten injiziert. Da die Narkose jedoch erheblichen Einfluss auf das Verhalten der Tiere im Paradigma hatte (vgl. Ergebnisse 3), wurde das Radiopharmakon in allen darauffolgenden Experimenten (vgl. 2.9.3 und 2.9.4) genau wie im FDG-Verhaltens-PET intraperitoneal und ohne Narkose appliziert (vgl. 2.6.2.1.1).

Um einen möglichen Einfluss von FDOPA auf das Verhalten der Tiere relativ konstant zu halten, wurde immer die gleiche Menge und zwar 0,6 mg FDOPA pro ml injiziert. Die Injektionsmenge betrug 0,6-1 ml. Da die Ausbeute der FDOPA-Synthese geringer war als beim FDG (5,4 mCi versus 54,05 mCi), variierte die Radioaktivität der injizierten Menge zwischen den Tieren etwas stärker (0,95-2,2 mCi). Die injizierte Aktivitätsmenge für die verschiedenen Bedingungen, in denen jedes Tier gemessen wurde (vgl. 2.6.3), wurde jedoch möglichst konstant gehalten, indem die Versuchstiere immer in der gleichen Reihenfolge gemessen wurden. Das Lösungsmittel des FDOPAs war wie folgt zusammengesetzt: 0,1 % Essigsäure mit Zusatz von L-Ascorbinsäure (100 mg/l) und Na-EDTA (400 g/l) mit einem pH-Wert von etwa 4.

Mit der anschließenden PET-Aufnahme wurde nicht wie beim FDG-PET nach 60 min begonnen, sondern direkt im Anschluss an das Verhaltensparadigma (40. Minute). Die FDA-Metabolitenkonzentration ist zu diesem Zeitpunkt noch sehr gering, nimmt aber mit der Zeit ab (DeJesus *et al.*, 2000). Da das Signal-Rausch-Verhältnis beim FDOPA-PET schlechter ist als beim FDG dauerte die anschließende PET-Aufnahme 60 min, statt wie beim FDG-Verhaltens-PET 30 min. Im Anschluss an den PET-Scan wurde dann die Transmissionsaufnahme (vgl. 2.6.2.1.1) in gleicher Position erstellt.

### **2.6.3 Verhaltens-PET Bedingungen**

Um die Glukoseutilisation und die dopaminerge Aktivität während der Motivationsaufgabe zu untersuchen, wurden sowohl im FDG- als auch im FDOPA-PET drei verschiedene Bedingungen durchgeführt: In der Testbedingung war die Ratte wie üblich hungrig (hohes Motivationslevel, vgl. 2.5.5). Als Kontrollbedingung wurde die operante Konditionierungsaufgabe im reduzierten Motivationslevel durchgeführt (vgl. 2.5.5). Mit dem Vergleich der beiden Bedingungen sollten Areale identifiziert werden, die während des Verhaltensversuchs in Abhängigkeit des Motivationslevel unterschiedlich stark aktiv waren.

Nach Vorfütterung (reduziertes Motivationslevel) sank die Motivation der Tiere mitzuarbeiten teilweise so stark, dass die Anzahl an Durchläufen deutlich niedriger war als in den Versuchen mit hohem Motivationslevel. Mögliche Unterschiede zwi-

schen den beiden Bedingungen könnten daher nicht unmittelbar auf das Motivationsverhalten, sondern auch auf die unterschiedliche Anzahl an Durchläufen und der dabei erhaltenen Belohnungen zurückzuführen sein. Daher wurde jedes Versuchstier in einer weiteren Kontrollbedingung getestet: In einer zweiten Kontrollbedingung wurden die Versuchstiere zwar hungrig getestet, die Anzahl der erlaubten Durchläufe entsprach aber exakt der Anzahl der Durchläufe in der Messung unter reduziertem Motivationslevel (Durchlaufkontrolle). Hatte ein Tier die Anzahl an Durchläufen erreicht, stoppte das Programm und das Tier blieb bis zum Ablauf der 30 minütigen Versuchsdauer in der operanten Konditionierungsbox.

Die Reihenfolge, in der die PET-Bedingungen durchgeführt wurden, wurde so gewählt, dass die Hälfte der Tiere mit der Messung im hohen Motivationslevel begann und die andere Hälfte im reduzierten Motivationslevel. Die Durchlaufkontrolle musste immer nach der Messung im reduzierten Motivationslevel stattfinden, so dass für die Hälfte der Gruppe, die mit dieser Bedingung begannen, die Durchlaufkontrolle die zweite Bedingung war und bei allen anderen die letzte. Um Narkose- und Sättigungseffekte durch die vorherige Messung zu vermeiden, wurde zwischen den PET-Bedingungen eines Versuchstiers immer mindestens ein Tag pausiert.

### **2.6.4 Auswertung der Verhaltens-PET Bilder**

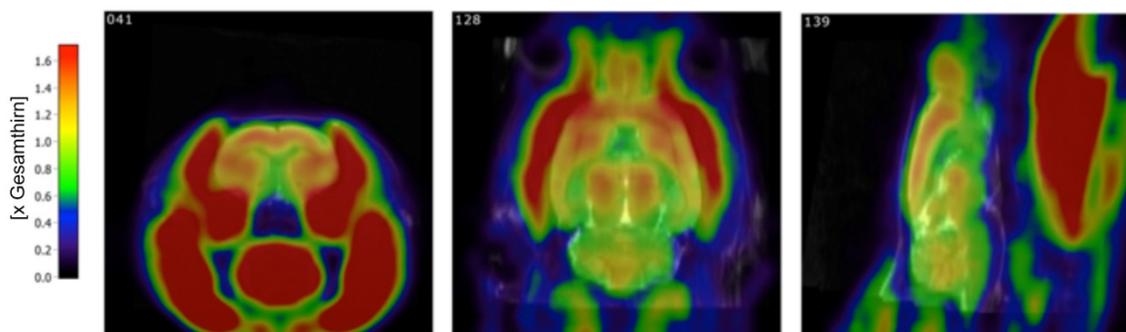
Für alle PET-Messungen wurden mit Hilfe der OSEM3D/MAP-Methode (Qi *et al.*, 1998) unter Berücksichtigung der Transmissionsaufnahme ein Summenbild über die Dauer der Bildaufnahme generiert. Die resultierenden Voxelgrößen des rekonstruierten PET-Bildes betragen  $0,38 \times 0,38 \times 0,82$  mm. Das gesamte Rattengehirn umfasste etwa 19.000 Voxel.

Die Auswertung der Verhaltens PET-Daten erfolgte mit VINCI (ab Version 3.01., MPI f. n. F. Köln, Vollmar *et al.*, 2007). Die FDOPA Bilder wurden zunächst mit einem Gaußfilter (1,2 mm) geglättet. Die FDG- und FDOPA PET-Bilder wurden dann identisch positioniert (*Koregistrierung*). Als Referenzbild diente eine MR-Aufnahme einer gewichts- und altersangepassten Ratte. Die Position der einzelnen Bilder wurde außerdem an die entsprechende individuelle MR-Aufnahme des Versuchstiers angepasst und anatomische Abweichungen wie z. B. vergrößerte Ventrikel entsprechend berücksichtigt. Die FDG- und FDOPA-Bilder wurden an-

schließlich intensitätsnormalisiert (vgl. 2.6.4.1 und 2.6.4.2). Schließlich wurden mögliche Unterschiede zwischen den Bedingungen sowie den Testzeitpunkten errechnet, indem der prozentuale Unterschied über die Mittelpunktberechnung (vgl. 2.5.6) bestimmt und im Anschluss die Versuchsgruppen mittels statistischer Verfahren verglichen wurden. Die statische Auswertung der Verhaltens-PET Daten ist in Abschnitt 2.10.2 detailliert beschrieben.

#### 2.6.4.1 Intensitätsnormalisierung der FDG-Daten

Alle FDG-Bilder wurden mit Hilfe einer VOI (Volume of Interest), die das gesamte Gehirn umfasste, intensitätsnormalisiert, d.h. jedes Bild wurde durch die mittlere Aktivität des Gesamthirns geteilt. Das Fressen der Belohnung während des Versuchs führte zu einer Einstrahlung der metabolischen Aktivität der Kaumuskelatur in das Gehirn. Ausgehend von dem Bild mit der stärksten Muskeleinstrahlung wurde die Gesamthirn-VOI so angepasst, dass diese Bereiche entsprechend aus der Auswertung ausgeschlossen wurden. Im Ergebnisteil sind diese entsprechend gekennzeichnet. Ein Beispiel für ein koregistriertes, intensitätsnormalisiertes FDG-Bild ist in Abbildung 16 dargestellt.



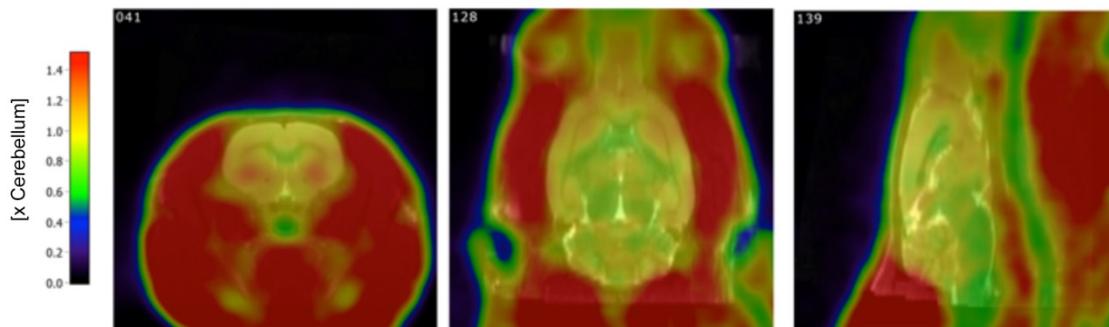
**Abbildung 16: Beispiel für ein koregistriertes, intensitätsnormalisiertes FDG-Bild.** Die FDG-Verhaltens-PET Bilder wurden zunächst mit Hilfe eines Referenzbildes identisch positioniert. Im Anschluss wurden die Bilder mit einer Gesamthirn-VOI intensitätsnormalisiert.

#### 2.6.4.2 Intensitätsnormalisierung der FDOPA-Daten

Da sich die dopaminerge Innervation je nach Areal stark unterscheidet, eignete sich das Gesamthirn für die Normalisierung der FDOPA-Bilder nicht. Voraussetzung für die Normalisierung ist, dass die Aktivität des entsprechenden Referenzareals zwischen den Messungen vergleichbar ist und die Bilder nach der Normlisie-

rung eine vergleichbare Intensität haben. Beim Menschen wird entweder der Okzipitallappen oder das Cerebellum als Referenzareal benutzt (Kumakura & Cumming, 2009). Es wird angenommen, dass die Konzentration von 3-O-Methyl-6-Fluoro-L-DOPA (vgl. 2.6.2.2) im Referenzareal (Okzipitallappen oder Cerebellum) genauso hoch ist wie in Regionen mit starker Dopamininnervation (Kumakura & Cumming, 2009).

Da das Cerebellum bei der Ratte nur über wenige, sehr dünne dopaminerge Eingangsfasern verfügt, ist die Dopaminaufnahme hier gering, so dass dieses Areal sich zur Normalisierung eignet (Panagopoulos *et al.*, 1991). Die Normalisierung über den Okzipitallappen wurde in dieser Arbeit auch ausprobiert. Diese führte aber nicht dazu, dass die Intensität der FDOPA Bilder nach der Normalisierung vergleichbar aussah, so dass dieses Referenzareal sich als ungeeignet herausstellte. Es wurden daher alle FDOPA Bilder auf das Cerebellum normalisiert. Abbildung 17 zeigt ein Beispiel für ein koregistriertes und intensitätsnormalisiertes FDOPA-Bild.



**Abbildung 17: Beispiel für ein koregistriertes und intensitätsnormalisiertes sowie ein normalisiertes FDOPA-Bild.** Die FDOPA-Verhaltens-PET Bilder wurden zunächst gaußgefiltert (1,2 mm) und mit Hilfe eines Referenzbildes identisch positioniert. Im Anschluss wurden die Bilder auf das Cerebellum intensitätsnormalisiert.

### 2.6.5 Benennung der Hirnstrukturen

Die Benennung der Hirnareale im Ergebnisteil erfolgte einheitlich nach dem Rattenatlas von Paxinos und Watson (2005). Da die Einteilung des zingulären Kortex in diesem Atlas jedoch auf einer alten Nomenklatur beruht und eine Aktualisierung des Atlases von den Autoren bereits angekündigt wurde (Uylings *et al.*, 2003; Vogt & Paxinos, 2012), wurde dieses Areal nach Vogt *et al.* (2004) in den anterioren, mittleren und retrosplenialen Kortex unterteilt.

## 2.7 Weitere Verhaltensversuche

Um nach Verschluss der ACA mögliche behaviorale Beeinträchtigungen in der Motivationsaufgabe besser interpretieren zu können, wurden die ACA- und scheinoperierten Versuchstiere auch noch in weiteren Verhaltensversuchen (Open Field, erhöhte Plus-Arena, Cat Walk) getestet.

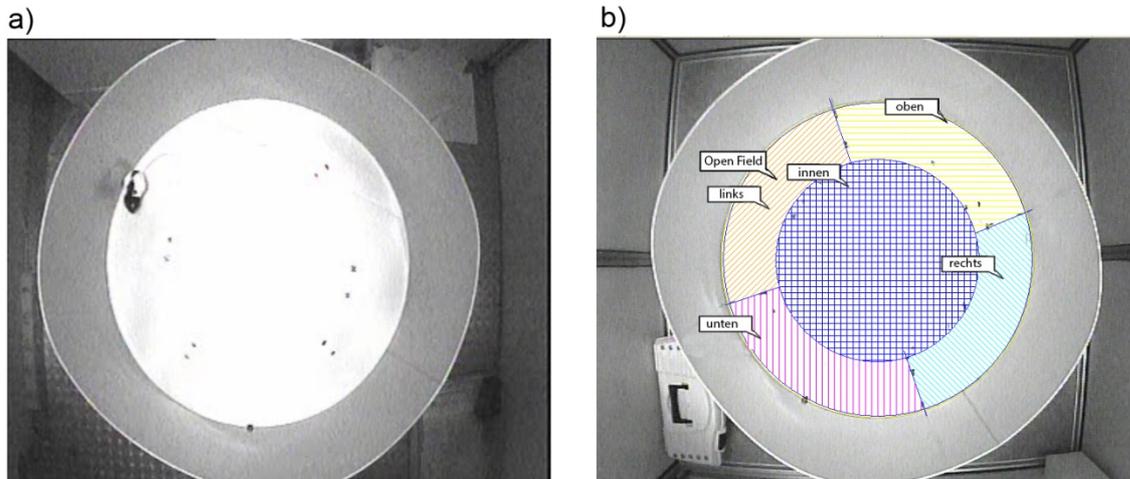
Um den Tag-Nacht-Zyklus der Ratten nicht zu stören, wurden auch diese Versuche ausschließlich bei Beleuchtung mit Rotlicht durchgeführt. Der Open Field- und der erhöhte Plus-Arena-Test fanden in einer separaten Kammer (1,7 m x 1,7 m) statt, die, um ausreichend Licht für Videoaufnahmen mit einer Kamera zu haben, mit Rotlicht beleuchtet war (> 660 nm, 3 Lux, vgl. 2, Beleuchtungssystem: Medres® und MPI Köln f. n. F.). Der Cat Walk stand in einer lichtundurchlässigen Box (Eigenherstellung des MPI f. n. F. Köln).

### 2.7.1 Open Field

Der Open Field-Versuch wurde ursprünglich von Hall (1934) beschrieben und stellt schon seit Jahrzehnten ein etabliertes Messinstrument dar, das für die verschiedensten psychiatrischen und neurologischen Tiermodelle verwendet wird (Walsh & Cummins, 1976). Neben lokomotorischen Parametern kann das explorative Verhalten der Versuchstiere in einer unbekanntem Umgebung untersucht werden (Archer, 1973; Walsh & Cummins, 1976). In diesem Zusammenhang wurde auch das sogenannte *Homebase*-Verhalten beschrieben (Eilam & Golani, 1989). Unter einer *Homebase* versteht man den Ort innerhalb einer neuen Umgebung, an dem sich das Versuchstier bevorzugt aufhält, und zu dem es auch nach Erkundungsgängen der neuen Umgebung immer wieder zurückkehrt.

Abbildung 18 zeigt die in der vorliegenden Arbeit verwendete Open Field-Arena (Durchmesser: 1,2 m, Wandhöhe: 0,58 m). Die Ratten wurden zu Beginn des Versuchs immer an der gleichen Stelle in die Arena gesetzt (untere Zone) und durften diese dann für 10 min frei explorieren. Der Versuch wurde für die spätere Auswertung als digitales Video (Kamera: Panasonic®) aufgezeichnet. Die Videos wurden im Anschluss mit *Ethovision* analysiert (Noldus®, Wageningen, Niederlande), wobei ein im Programm implementierter Algorithmus über den Kontrast zwischen dem Hintergrund und der Ratte den Laufweg des Versuchstiers automatisch nachver-

folgte. Wie in Abbildung 18 b dargestellt, wurden eine innere sowie vier äußere Zonen (unten, links, oben, rechts) festgelegt. So konnten die gewünschten Parameter dann auch für die Zonen separat ausgegeben werden.



**Abbildung 18: Open Field Arena. a)** In der Open Field Arena durfte die neue Umgebung für 10 min frei exploriert werden. Der Versuch fand in einer separaten Kammer statt und wurde als Video aufgezeichnet. **b)** Für die Auswertung wurde die Open Field Arena in Zonen eingeteilt in eine innere und vier äußere Zone eingeteilt (unten, links, oben, rechts). Der Laufweg der Ratte wurde vom Auswertungsprogramm (Ethovision®) über den Kontrast zwischen dem Hintergrund und der Ratte automatisch nachverfolgt und die verschiedenen Messparameter für die einzelnen Zonen separat bestimmt.

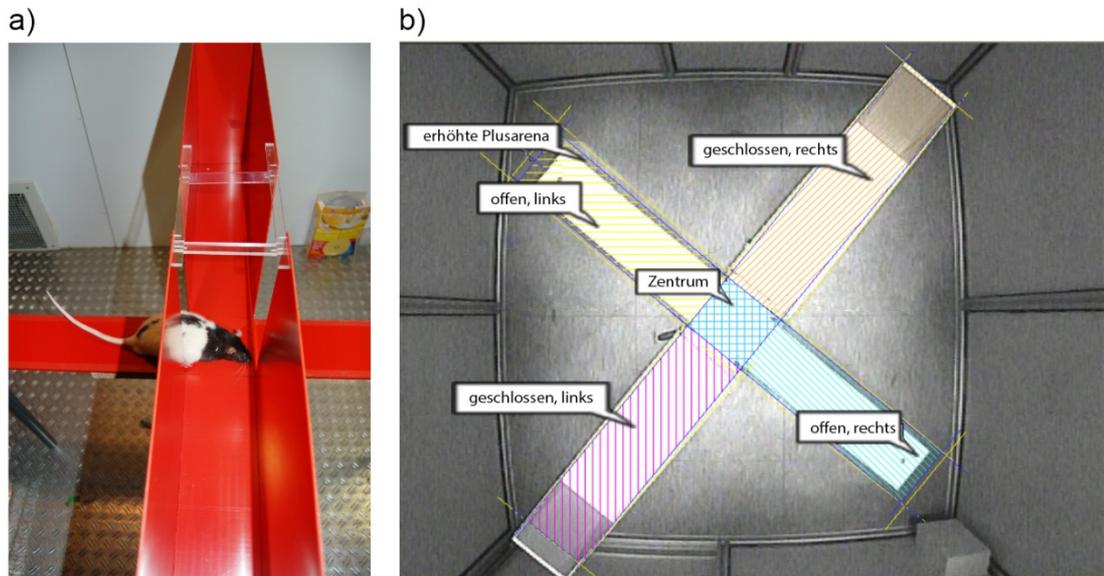
Ausgewertet wurden für die ersten 5 min des Versuchs folgende Parameter: Zurückgelegte Distanz (innere und äußere Zone), Laufgeschwindigkeit (innere und äußere Zone), Aufenthaltsdauer in den äußeren Zonen (unten, links, oben, rechts) sowie die Frequenz, mit der die inneren Zone betreten wurde.

### 2.7.2 Erhöhte Plus-Arena

Der erhöhte Plus-Arena Test besteht aus zwei geschlossenen und zwei offenen Armen (Abbildung 19) und stellt eine etablierte Methode zur Untersuchung von Angstverhalten in verschiedenen Tiermodellen dar (Rodgers & Dalvi, 1997; Korte & De Boer, 2003). Die Ratten können auch hier die Arena für die gesamte Versuchsdauer frei explorieren. Dabei wird die prozentuale Aufenthaltsdauer auf den beiden offenen Armen als inverses Maß für die Ängstlichkeit eines Tieres angesehen (Pellow *et al.*, 1985).

Abbildung 19 a zeigt die verwendete plusförmige Arena (Höhe: 0,5 m) bestehend aus zwei gegenüberliegenden geschlossenen (0,5 m x 0,12 m x 0,24 m) und zwei

offenen Armen (0,5 m x 0,12 m), die über eine zentrale Plattform (0,12 m x 0,12 m) verbunden sind. Zu Beginn des Versuchs wurde das Tier immer an die gleiche Stelle der Arena gesetzt und zwar auf die Kreuzung der Arme (vgl. Abbildung 19 b: „Zentrum“). Die Explorationsdauer betrug 10 min. Der Versuch wurde mit einer Kamera (Panasonic®) aufgezeichnet.

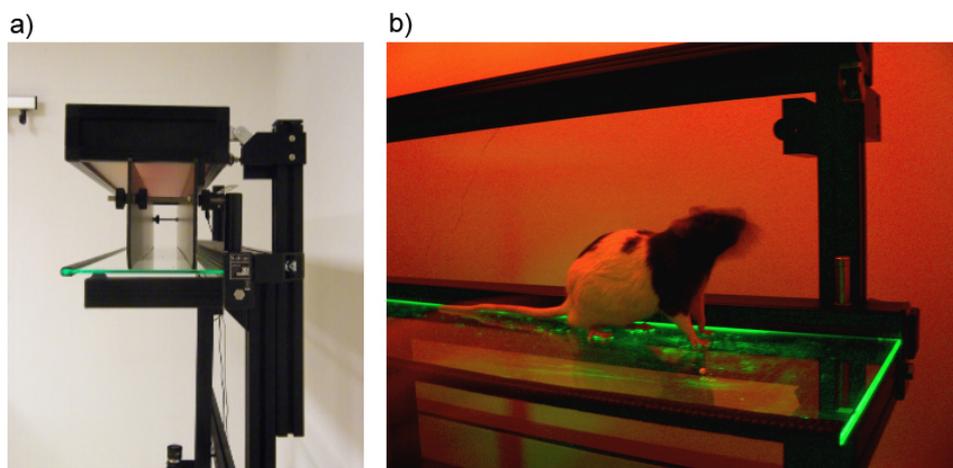


**Abbildung 19: Erhöhte Plus-Arena.** a) Die plusförmige Arena setzt sich aus zwei offenen und zwei geschlossenen Armen zusammen, die über ein Platte mittig der Arena verbunden sind („Zentrum“). Die Ratte durfte die Arena für 10 min frei explorieren. Der Versuch wurde auf Video aufgezeichnet. b) Die Auswertung erfolgte mit dem Programm Ethovision. Die Software erlaubt die Einteilung in verschiedene Zonen (rechter offener Arm, linker offener Arm, rechter geschlossener Arm, linker geschlossener Arm) für die dann verschiedene Parameter (z. B. Geschwindigkeit, Aufenthaltsdauer) ausgegeben werden können.

Die Auswertung erfolgte wie beim Open Field-Versuch mit dem Programm Ethovision (Noldus®, vgl. 2.7.1). Die Arena wurde in fünf Zonen eingeteilt: zwei geschlossene (links, rechts), zwei offene (links, rechts), sowie das Zentrum (Abbildung 19 b). Für die Analyse wurden beide geschlossenen und beide offenen Arme zusammengefasst. Ausgewertet wurden für die ersten 3 min des Versuchs folgende Parameter: prozentuale Aufenthaltsdauer auf den offenen Armen, zurückgelegte Distanz (offene, geschlossene Arme) und die Wechselfrequenz zwischen den Armen (Frequenz mit der das Zentrum betreten wird).

### 2.7.3 Cat Walk Methode

Die Cat Walk Methode (Noldus®, Wageningen, Niederlande) ermöglicht die automatisierte Analyse des Laufverhaltens von Ratten und Mäusen. Neben zeitlichen Parametern kann die Koordination der Laufschriffe, die räumliche Beziehung zwischen den Pfoten, sowie der einzelnen Pfotenabdruck analysiert werden. In verschiedenen neurologischen und neurodegenerativen Tiermodellen, wie zum Beispiel Parkinson- oder Schlaganfallmodellen, sowie bei Rückenmarksverletzungen, stellt die Cat Walk Methode eine etablierte Methode dar (Koopmans *et al.*, 2005; Vandeputte *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2013). Diese Methode wurde hinzugezogen, um z. B. zeitliche Laufparameter oder auch die interlimbische Koordination zu überprüfen.

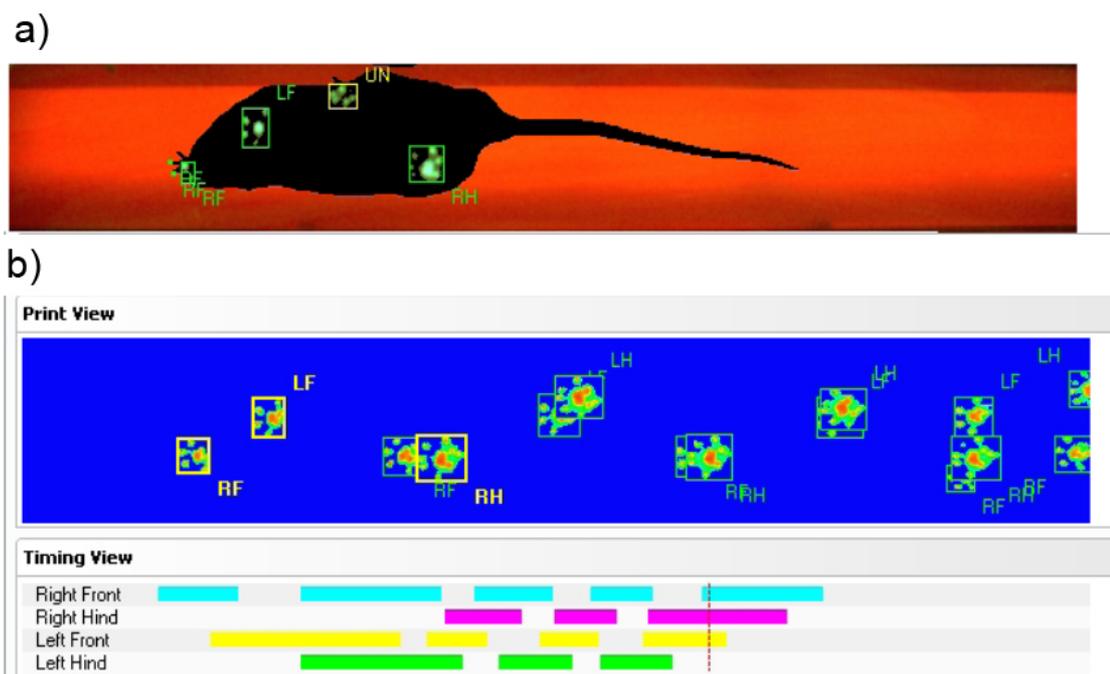


**Abbildung 20: Cat Walk System (Noldus®) zur Überprüfung der Lokomotorik von Ratten und Mäusen. a und b)** Die Versuchstiere laufen über eine Glasplatte, die seitlich von grün fluoreszierendem Licht durchleuchtet wird. Das Licht wird an der Glasoberfläche reflektiert (Totalreflexion). Beim Übertreten der Glasplatte wird leichter Druck auf die Platte ausgeübt, so dass das Licht gebrochen wird und folglich streut. Die Pfotenabdrücke konnten so von einer hochauflösenden Kamera, die 61,5 cm unterhalb der Glasplatte angebracht war, aufgenommen und später analysiert werden. Von oben wird die Glasplatte zusätzlich mit Rotlicht beleuchtet. In a) ist die Laufwegbegrenzung dargestellt, die bei der Aufnahme in b) der Übersicht halber nicht angebracht war.

Die Versuchstiere laufen über eine Glasplatte (Abbildung 20 b; Länge: 1,3 m), die seitlich (lange Seite) von grün-fluoreszierendem Licht durchleuchtet wird. Das Licht wird an der Glasoberfläche reflektiert (Totalreflexion), so dass es innerhalb der Glasplatte verbleibt. Beim Übertreten der Glasplatte wird leichter Druck auf die Platte ausgeübt, was dazu führt, dass das Licht bricht und die Glasplatte senkrecht zur Pfote (nach unten) verlässt. Die Pfotenabdrücke konnten so von einer hochauflösenden Kamera, die 61,5 cm unterhalb der Glasplatte angebracht war,

aufgenommen und an den Computer übermittelt werden. Um die Zuordnung der Abdrücke zu den vier Pfoten zu erleichtern, wurde der Laufweg außerdem von oben durch eine Rotlichtfläche beleuchtet, sodass die Silhouette der Ratte sichtbar wurde.

Mit Hilfe der Software Cat Walk XT 9.0 konnten die Pfotenabdrücke dann nach dem Versuch der jeweiligen Pfotenposition zugeordnet werden (vgl. Abbildung 21; rechte, linke Vorderpfote; rechte, linke Hinterpfote). Nach der manuellen Markierung wurden die gewünschten Parameter dann von der Software automatisch generiert.



**Abbildung 21: Cat Walk Methode** a) Die Pfotenabdrücke der Ratte beim Überqueren der Glasplatte werden von einer Kamera unterhalb der Glasplatte aufgenommen. b) Im Anschluss an die Messung müssen die Pfotenabdrücke dann den entsprechenden Pfotenpositionen (linke Vorderpfote, rechte Vorderpfote, linke Hinterpfote, rechte Hinterpfote) zugeordnet werden. Nach der Klassifizierung werden die gewünschten Analyseparameter für die einzelnen Pfoten bestimmt.

(Abk.: RF: rechte Vorderpfote, LF: linke Vorderpfote, RH: rechte Hinterpfote, LH: linke Hinterpfote, UN: undefinierter Pfotenabdruck).

Um zu verhindern, dass die Versuchstiere vom Cat Walk stürzen oder zu stark vom Laufweg abkommen, wurde dieser durch seitliche Wände (Höhe: 14,5 cm, Breite: 9,4 cm), sowie an den kurzen Enden durch Gitterstäbe begrenzt. Der Laufweg betrug 1,17 m, es wurden allerdings nur Pfotenabdrücke über eine Länge von 60 cm in die Laufanalyse einbezogen. Die Einschränkung des auswertbaren Laufweges war notwendig, weil ein Lauf vom Cat Walk System nur automatisch als beendet

registriert wird, wenn die Ratte den zuvor festgelegten Bereich komplett verlassen hat. Auf Grund der Schwanzlänge war die maximale Laufweglänge daher mit den oben genannten Maßen erreicht.

Die Tiere wurden zunächst an den Cat Walk gewöhnt und trainiert, über die Glasplatte zu laufen. Zur Verstärkung der Motivation wurden die Ratten nach jedem Lauf mit einem Zuckerpellet belohnt. Diese Belohnungsassoziation wurde den Versuchstieren in 1-2 Trainingseinheiten beigebracht. Es wurde vor und nach ACA- bzw. Schein-OP jeweils sechs Läufe aufgenommen und ausgewertet (vgl. 2.9.4). Die Laufzeit durfte maximal 5 s betragen und die maximale Varianz der Laufgeschwindigkeit nicht größer als 60 % sein. Analysiert wurde die mittlere Geschwindigkeit, die mittlere Schrittfrequenz, sowie die Schrittlänge jeder Pfote, d.h. der Abstand zwischen dem jeweiligen Pfotenabdruck einer Pfote und dem darauffolgenden Pfotenabdruck.

### **2.8 ACA-Okklusion und Schein-OP**

Die ACA wurde mit dem Vasokonstriktor Endothelin (ET-1, Sigma Aldrich, St. Louis, USA) okkludiert. Die Injektion von ET-1 führt zu bilateralen Läsionen im Versorgungsgebiet der ACA (vgl. Einleitung 1.3.1; Ward *et al.*, 1998; Höfener, 2010; Cordova *et al.*, 2014; Endepols *et al.*, 2014). In einer vorherigen Studie unserer Arbeitsgruppe wurde bis zu 2 Stunden nach Injektion von ET-1 in unmittelbarer Nähe der ACA mit [<sup>15</sup>O]H<sub>2</sub>O-PET eine Blutflussreduktion von bis zu 70 % gemessen. Diese war im zingulären Kortex am höchsten und normalisierte sich nach etwa 4 Stunden wieder (Endepols *et al.*, 2014).

Nach der Einleitung der Narkose (vgl. 2.2) wurde das Versuchstier mit Hilfe von metallenen Ohrstäbchen und einer Zahnhalterung in einem stereotaktischen Rahmen fixiert. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Schädeloberfläche waagrecht und der Schädel somit zu keiner Seite geneigt eingespannt war. Zur Schmerzlinde- rung wurde dann 5 mg/kg Carprofen (Rimadyl®, Pfizer®, New York, USA) subkutan injiziert. Anschließend wurde das Kopffell rasiert, um einen sagittalen Skalpellschnitt entlang der Mittellinie des Schädels zu setzen und die Haut über dem Operationsgebiet mittels Krokodilklemmen aufzuspannen. Im Anschluss wurde das auf dem Schädel verbleibende Binde- und Fettgewebe mit einer 5 %-igen Wasserstoff-

peroxidlösung entfernt, bis die Schädelnähte gut sichtbar waren. 1,5 mm anterior von Bregma wurde dann mit einem Zahnarztbohrer (Prolab Basic, Bien Air® Medical Technologies, Schweiz) ein Loch in den Schädel (Durchmesser: 1 mm) gebohrt. Eine im stereotaktischen Rahmen befestigte Hamiltonspritze wurde von der Dura mater ausgehend 3,3 mm ventral in die unmittelbare Nähe der ACA geführt. Um einen bilateralen Verschluss der ACA zu induzieren, wurden 300 pmol ET-1 (1 mg ET-1 in 810 µl NaCl) in einem Injektionsvolumen von 0,6 µl injiziert. Die Spritze wurde dann 10 min in situ belassen, um zu vermeiden, dass das ET-1 in den Stichkanal diffundiert, statt in der unmittelbaren Nähe der ACA zu verbleiben.

Bei den Kontrolltieren (Schein-OP) wurde die gleiche Prozedur durchgeführt. Statt ET-1 wurde jedoch, unter Verwendung der gleichen stereotaktischen Koordinaten, 0,6 µl NaCl injiziert.

Nach dem Herausziehen der Spritze wurde das Bohrloch mit Knochenwachs verschlossen (Johnson & Johnson, New Brunswick, USA) und die Haut zugenäht. Abschließend wurde dem Tier ein weiteres Schmerzmittel und zwar das Analgetikum Metamizol (100 mg/kg, Novalgin®, Sanofi, Paris, Frankreich) sowie 5 ml NaCl subkutan injiziert, um einem Flüssigkeitsmangel durch die Narkose entgegen zu wirken.

Zur Schmerzlinderung wurde in den ersten drei Tagen nach der Operation täglich einmal 5 mg/kg Carprofen subkutan injiziert. Zusätzlich zur üblichen Fütterung bekamen die Tiere bis zu drei Tage postoperativ außerdem Breinahrung (BEBA®, Nestlé, Deutschland). Die Wundfäden wurden fünf Tagen nach der Operation unter Narkose entfernt.

### **2.8.1 Bestimmung der Läsionsgröße**

Wie in 2.3 erläutert, wurde 24 Stunden sowie 7 Tage nach der ACA- bzw. Schein-OP eine MR-Aufnahme erstellt (vgl. auch 2.9.4). Dafür wurden die MR-Aufnahmen zunächst in VINCI (MPI-Köln) koregistriert. Mit Hilfe des ersten MR-Bildes, welches 24 Stunden postoperativ aufgenommen wurde, wurde dann manuell mit dem Programm VINCI eine VOI gezeichnet, die sich mit der Läsion deckte. Anschließend wurde die VOI mit der späteren MR-Aufnahme abgeglichen und, sofern die Läsion sich verändert hatte, die VOI entsprechend so angepasst, dass sie der mittleren

Läsionsgröße zwischen den beiden Bildern entsprach. Über die Größe der VOI konnte so die Läsionsgröße (in mm<sup>3</sup>) bestimmt werden.

## **2.9 Studien**

### **2.9.1 Vorexperimente**

#### **2.9.1.1 FDOPA-Verhaltens-PET-(i. v.)-Studie**

Um zu überprüfen, ob sich FDOPA als Verhaltens-PET Tracer eignet wurden in einer ersten Studie sechs Ratten für die Motivationsaufgabe trainiert (vgl. 2.5.4) und im Verhaltens-PET getestet. Die spezifische Aktivität von FDOPA ist im Gegensatz zu FDG gering (vgl. 2.6.2.2). Um ein möglichst gutes Signal-Rausch-Verhältnis zu erzielen, wurde das FDOPA zunächst intravenös in die Schwanzvene injiziert (vgl. 2.6.2.2). Jedes Versuchstier durchlief die drei verschiedenen Verhaltens-PET Bedingungen (vgl. 2.6.3; hohes Motivationslevel, reduziertes Motivationslevel, Durchlaufkontrolle).

Da sich in dieser Vorstudie herausstellte, dass die Tiere nach intravenöser Applikation im Verhaltensversuch deutlich schlechter mitmachten als im Verhaltensversuch ohne PET (vgl. Ergebnisse 3.1.2), wurde in einer weiteren Studie getestet, ob entweder LDOPA oder aber die Narkose das Verhalten der Versuchstiere beeinflusste (Narkose-Wach-Experiment).

#### **2.9.1.2 Narkose-Wach-Experiment**

Dafür wurden sechs Long-Evans Ratten in fünf verschiedenen Bedingungen getestet, wobei alle Teilversuche ohne Vorfütterung (hohes Motivationslevel, vgl. 2.5.5) durchgeführt wurden. Es wurden unterschiedliche Injektionsmethoden (i. p. in die Bauchhöhle, i. v. in die Schwanzvene) sowie Narkoseeffekte (wach versus Narkose) getestet. Bei jeder Bedingung wurden 1 mg/l LDOPA (Sigma Aldrich®) in dem gleichen Lösungsmittel gelöst wie das für FDOPA verwendete (vgl. 2.6.1, von der Radiochemie Köln zur Verfügung gestellt). Das Injektionsvolumen betrug 0,8 ml.

1. keine Injektion
2. Intraperitoneale LDOPA Injektion ohne Narkose (LDOPA i. p. (wach))
3. Intraperitoneale LDOPA Injektion unter Kurznarkose (LDOPA i. p. (Narkose))
4. Intravenöse LDOPA Injektion in die Schwanzvene unter Narkose (LDOPA i. v. (Narkose))
5. Intravenöse NaCl Injektion (NaCl i. v. (Narkose))

Da die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass nicht das LDOPA, sondern die Narkose dazu führte, dass die Versuchstiere schlechter mitmachten (vgl. Ergebnisse 3.1.2), wurden alle folgenden Radiopharmakainjektionen im wachen Tier und ohne Narkose durchgeführt (vgl. 2.6.2.1.1 und 2.6.2.2.1).

### **2.9.2 Anpassung der ACA-Operation**

Das Operationsprotokoll von PD Dr. Endepols (Endepols *et al.*, 2014) für den Rattenstamm Black hooded, musste wie oben erwähnt angepasst werden (vgl. 2.1), weil die gleichen Injektionsparameter bei Long Evans Ratten nur zu minimalen Läsionen führten. Dafür wurden Operationen mit unterschiedlichen stereotaktischen Parametern durchgeführt. 24 Stunden nach der Operation wurde dann eine MR-Aufnahme erstellt. Es wurde sowohl die ET1-Injektionsmenge (0,3 µl, 0,6 µl, 1,2 µl) variiert, als auch verschiedene Injektionsstellen (1,3 mm, 1,5 mm und 1,7 vor Bregma; 2,7, 3,0, 3,3, 3,5, 3,8 mm, 4,0 mm ventral der Dura mater) getestet. Wie MR-Aufnahmen zeigten, führte die Injektion bei 1,5 mm vor Bregma und 3,5 mm – 4,0 mm ventral der Dura mater mit einem Injektionsvolumen von 0,6 µl zu bilateralen Okklusionen der ACA. Allerdings stellte sich heraus, dass die Mortalitätsrate der Versuchstiere mit diesen Parametern extrem hoch (ca. 50 %) und nicht tolerierbar war. Die Injektionsparameter 1,5 mm vor Bregma und 3,3 mm ventral der Dura mater führte zwar zu etwas heterogeneren Läsionen, die Mortalitätsrate war jedoch deutlich niedriger (ca. 10 %), so dass sich diese Parameter mit einer Injektionsmenge von 0,6 µl für Long Evans Ratten als geeignet herausstellten. Die letztgenannten Parameter wurden im Anschluss für alle weiteren Operationen verwendet.

### **2.9.3 FDG/FDOPA-Verhaltens-PET im unbehandelten Versuchstier**

Zunächst wurden die während der Motivationsaufgabe aktiven Areale bei unbehandelten Ratten (n = 10) in Kombination mit FDG- und FDOPA-Verhaltens PET untersucht.

Der Vergleich zwischen den FDG- und FDOPA-Verhaltens-PET-Messungen diente dazu, belohnungs- und motivationsassoziiertes Verhalten im unbehandelten Tier und beteiligte Hirnareale mittels PET zu identifizieren. Auch sollten die beiden Radiopharmaka in diesem Zusammenhang verglichen werden. Neben den Verhaltens-PET-Bedingungen wurde das Motivationsverhalten (ohne PET) bei hohem und reduziertem Motivationslevel überprüft. Außerdem wurden beide Bedingungen nach Injektion von LDOPA getestet. Der Ablauf des Experiments wurde in Abschnitt 2.9.1.2 für die LDOPA-Injektion ohne Narkose bereits detailliert beschrieben. Mit dieser Versuchsgruppe wurden im Anschluss auch die postoperativen Versuche durchgeführt (vgl. 2.9.4).

### **2.9.4 Longitudinale Schlaganfallstudie**

Es wurden 22 Versuchstiere präoperativ getestet, davon verstarben vier jedoch während der ACAo-Operation. In die Auswertung und den Vergleich prä- versus postoperativ wurden daher nur 18 Long Evans Ratten (ACAo: n = 13, Schein-OP: n = 5) eingeschlossen.

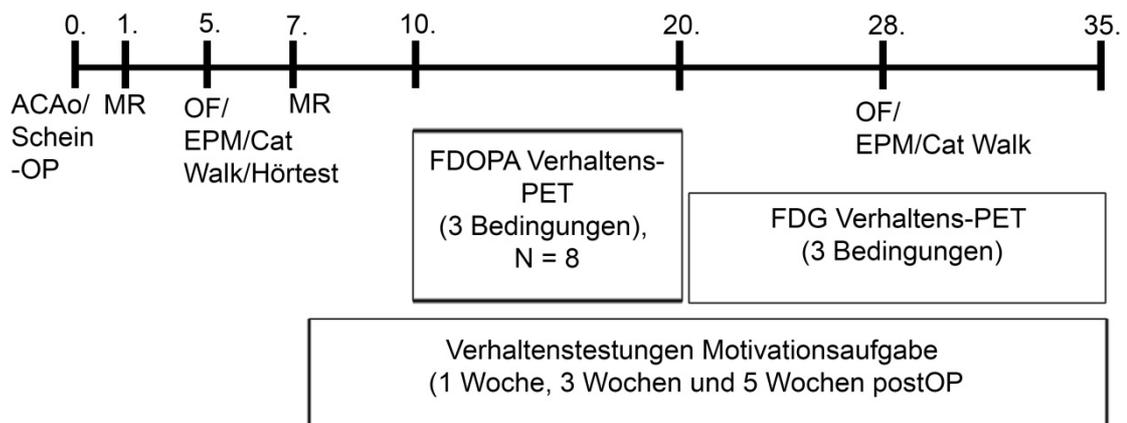
Jedes Versuchstier durchlief alle im Folgenden beschriebenen Testungen mit Ausnahme des FDOPA-PETs: Da die letztgenannte Methode sehr aufwendig ist (u. a. auch kostenintensive Produktion) und in der vorliegenden Arbeit erstmals in Kombination mit Verhaltens-PET durchgeführt wurde, wurden für diesen Versuchsteil nur 10 Versuchstiere gemessen. Um eine bessere Aussage im Hinblick auf den Effekt der ACAo zu treffen, wurde bei allen im FDOPA-PET gemessenen Versuchstieren die ACA-OP durchgeführt. Da zwei Tiere postoperativ verstarben, konnten nur acht Tiere in die Auswertung der longitudinalen Schlaganfallstudie eingeschlossen werden.

Präoperativ wurde die Hörfähigkeit (vgl. 2.4) überprüft und eine MR-Aufnahme erstellt (vgl. 2.3). Außerdem wurden die Verhaltens-PET-Bedingungen wie in 2.6.3 beschrieben durchgeführt und das Motivationsverhalten bei hohem und reduziertem Motivationslevel getestet. Zusätzlich wurden präoperative Messungen im O-

pen Field, auf der erhöhten Plus-Arena sowie auf dem Cat Walk durchgeführt (vgl. 2.7).

In Abbildung 22 ist der postoperative Ablauf der Studie graphisch zusammengefasst. Die anatomischen MR-Aufnahmen wurden wie beschrieben ein und sieben Tage postoperativ erstellt (vgl. 2.3 und 2.8.1). Die Testungen auf dem Open Field, der erhöhten Plus-Arena und auf dem Cat Walk fanden fünf Tage sowie vier Wochen postoperativ statt. Fünf Tage postoperativ, im Anschluss an die Verhaltensversuche, wurde die Hörfähigkeit erneut überprüft.

Mit dem Training in der operanten Konditionierungsbox wurde sieben Tage postoperativ wieder begonnen. Das Motivationsverhalten nach eine Woche (8. Tag), nach drei Wochen (19.-22.) und nach fünf Wochen (32.-35.) unter hohem Motivationslevel (ohne PET) getestet.



**Abbildung 22: Zeitliche Abfolge der postoperativen Messungen in der longitudinalen Schlaganfallstudie.** Am 1. und 7. postoperativen Tag wurde eine MRT-Aufnahme erstellt. Fünf Tage nach der Operation wurden die Versuchstiere im Open-Field, auf der erhöhten Plus-Arena sowie auf dem Cat Walk getestet. Die FDOPA-Messungen fanden zwischen dem 10. und 20. postoperativen Tag statt. Das FDG-Verhaltens-PET im Anschluss zwischen dem 20. und 25. Tag postop. Eine Woche, drei Wochen und fünf Wochen nach der Operation wurde das Verhalten bei hoher Motivation (ohne PET) getestet.

(**Abk.:** EPM: erhöhte Plus-Arena, MR: Magnetresonanztomographieaufnahme, OF: Open Field)

Zwischen dem 10. bis zum 20. Versuchstag wurden zunächst die FDOPA-Messungen durchgeführt. Im Anschluss daran fanden dann die FDG-Verhaltens-PET-Messungen (20.-35. postoperativer Tag) statt. Da das FDOPA nur zweimal und das FDG nur dreimal wöchentlich synthetisiert werden konnte, wurden die verschiedenen Bedingungen über einen Zeitraum von zwei bis drei Wochen gemessen. Hinzu kamen technische Probleme bei der Produktion der Radiopharmaka.

Für die einzelnen Versuchstiere wurde jedoch darauf geachtet, dass sowohl die FDG- als auch die FDOPA-Verhaltens-PET-Bedingungen in einem Zeitraum von sieben bis zehn Tagen gemessen wurden. Die zeitliche Verschiebung der PET-Messungen bedingte auch, dass Verhaltensmessungen drei und fünf Wochen postoperativ nicht exakt am gleichen Tag stattfinden konnten (s. o.). Die Experimente wurden so geplant, dass zwischen den Messungen nach Vorfütterung (reduziertes Motivationslevel) oder einer Narkose im PET keine Testungen stattfanden.

### **2.10 Statistik**

Als Signifikanzniveau wurde  $p < 0,05$  gewählt, d.h. die Nullhypothese wurde abgelehnt und ein Unterschied zwischen zwei oder mehr Versuchsgruppen als signifikant betrachtet.

#### **2.10.1 Statistische Auswertung der Verhaltensdaten**

Die Statistik für alle Verhaltensdaten wurde mit SPSS (SPSS Statistics 21 und 22, SPSS®, Inc., IBM company, USA) durchgeführt. Alle Prozentdaten wurden Arkussinus (arcsin)-transformiert. Üblicherweise wird bei nicht-normalverteilten Stichproben auf nicht-parametrische Tests zurückgegriffen. Hier stellt sich aber das Problem, dass bei kleiner Stichprobengröße, wie es in der vorliegenden Arbeit der Fall war (5 - 10 pro Gruppe) die Normalverteilung nur schlecht geprüft werden kann. Außerdem bringen nicht-parametrische Tests mit sich, dass sie bei kleinen Stichproben (< 6) keine sinnvollen Ergebnisse liefern, parametrische Tests hingegen schon (Bland & Altman, 2009). Hinzu kommt, dass SPSS für mehrfaktorielle, nicht-parametrische Vergleiche keine Post-Hoc Analysen anbietet. Aus diesen Gründen wurden die statistischen Vergleiche (soweit nicht explizit anders beschrieben) in der vorliegenden Arbeit mit parametrischen Tests durchgeführt.

Durch mehrfaches Testen erhöht sich der  $\alpha$ -Fehler (falsch-positive Entscheidung). Abhängig von der Anzahl der durchgeführten Tests werden die p-Werte vor allem in klinischen Studien üblicherweise auf multiples Testen korrigiert (z. B. Bonferoni Korrektur). Bei der Korrektur nach Bonferoni wird der p-Wert mit der Gesamtanzahl an Tests multipliziert. Dies gestaltet sich bei Tierstudien jedoch schwierig, da die Gesamtanzahl an durchgeführten Tests, wie auch in der vorliegenden Arbeit sehr hoch ist (Motivationsaufgabe, Open Field, EPM, Cat Walk etc.), und entspre-

chend keine signifikanten Unterschiede mehr ermittelt werden können. Daher wurden in der vorliegenden Arbeit nur dann p-Werte korrigiert, wenn für einen einzelnen Verhaltensparameter mehrere statistische Tests durchgeführt werden mussten. In diesem Fall wurde die Bonferreni-Korrektur verwendet.

Die verschiedenen Verhaltensparameter wurden meist mit einer zwei- oder dreifaktoriellen gemischten ANOVA verglichen. Selten konnte ein einfacher T-Test verwendet werden. Welcher Test im Einzelnen durchgeführt wurde, wird im entsprechenden Ergebnisteil erwähnt.

Eine Voraussetzung der ANOVA mit Messwiederholung ist die Annahme der Varianzgleichheit zwischen den sich wiederholenden Faktoren (Sphärizitätsannahme). Die Sphärizitätsannahme wurde mit dem Mauchly-Test überprüft. Wenn die Annahme verletzt ist, können die Freiheitsgrade (engl. „degrees of freedom“ = df) korrigiert werden. Nach Field (2009) sollte dafür die Greenhouse-Geisser Korrektur verwendet werden. Beträgt der Korrekturfaktor  $\epsilon > 0,75$ , ist diese Korrektur jedoch zu konservativ, so dass die Huynh-Feldt Korrektur vorgeschlagen wird. Im Ergebnisteil wird entsprechend erwähnt, wenn die Sphärizitätsannahme verletzt war und welche Methode zu Korrektur angewandt wurde. Auch zwischen sich nicht-wiederholenden Faktoren (z. B. Faktor „Gruppe“) wird die Sphärizität vorausgesetzt. Diese wurde mit dem Levene-Test überprüft. War die Annahme verletzt, so wurde der Datensatz transformiert. Die Transformationen wurden in folgender Reihenfolge durchgeführt: Log-transformation, Reziproke-Transformation, Quadratwurzeltransformation. Wenn keine der Transformationen erfolgreich war, so wurde das statistische Ergebnis des nicht-transformierten Datensatzes angegeben und entsprechend vorsichtig interpretiert.

Die postoperativen Änderungen der Motivationsaufgabe wurden zusätzlich mit der Läsionsgröße korreliert. Da die Stichprobengröße hier größer war ( $n = 13$ ) wurde die Daten auf Normalverteilung überprüft (Kolmogorov-Test). Für normalverteilte Daten wurde die Pearson-Korrelation verwendet und für nicht-normalverteilte Datensätze die Spearman-Korrelation.

### 2.10.2 Statistische Auswertung der Verhaltens-PET-Bilder

Die statistische Auswertung der Verhaltens-PET Bilder wurde mit VINCI (ab Version 4.01, MPI-Köln) durchgeführt. Der statistische Vergleich erfolgte auf Voxel Ebene mit Hilfe einer ANOVA. Die Protokolle für die statistische Berechnung in VINCI wurden von Herrn Sué (MPI Köln) und PD Dr. Endepols entwickelt. Die Posthoc-Analyse erfolgte dann mit der Tukey-HSD-Methode. Für alle Vergleiche wurden dann sogenannten q-Wertkarten erstellt, die die signifikanten Aktivitätsunterschiede für die verschiedenen Vergleiche auf Voxel Ebene, z. B. für den Vergleich zwischen prä- und postoperativer Messung bei hohem Motivationslevel angeben. Die entsprechenden kritischen q-Werte werden im jeweiligen Ergebnisteil erwähnt.

Trotz der Mehrfachvergleiche wurden die p-Werte nicht korrigiert, da für ein PET-Bild aus 19.000 Voxeln eine Korrektur nicht möglich ist: Der p-Wert müsste mit der Anzahl an Tests (19.000) multipliziert werden, was folglich keine Signifikanzen mehr ergeben würde.

Die FDOPA Messungen der Vorexperimente (vgl. 2.9.1.1) wurden statistisch mit einer einfaktoriellen ANOVA mit Messwiederholung (Faktor: Bedingung) verglichen.

Präoperativ (vgl. 2.9.3) wurden sowohl die FDG- als auch FDOPA-Verhaltens-PET-Daten ( $n = 10$ ) mit Hilfe einer einfaktorieller ANOVA verglichen (Faktor: Bedingung). Diese Verhaltens-PET-Bilder wurden außerdem mit den Verhaltensdaten korreliert. Dafür wurde der Pearson-Korrelationskoeffizient bestimmt und alle signifikanten Voxel in Form einer t- (bzw. r-) Wertkarte dargestellt. Für die signifikanten Voxel wurde sowohl der t- Wertskala als auch die r-Wertskala angegeben.

Da die derzeitige mögliche statistische Auswertung in VINCI keine ungleichen Stichprobengrößen zulässt, wurde die postoperativen FDG-Verhaltens-PET-Daten in der longitudinalen Schlaganfallstudie (vgl. 2.9.4) nur innerhalb der Gruppen (Schein-OP oder ACA-Gruppe, vgl. Ergebnisteil 6.5) verglichen. Auch hier wurde keine p-Wertkorrektur durchgeführt, obwohl die Gruppe mit mehreren ANOVAs verglichen wurde. Beim Verhaltens-PET kann der Differenzwert zwischen den Bedingungen für die einzelnen Versuchstiere sehr unterschiedlich sein. Daher hat die Gruppengröße einen starken Einfluss darauf, ob die Unterschiede auf Voxel Ebene

signifikant sind. Eine p-Wert Korrektur hätte diesen Effekt weiter verstärkt und den  $\beta$ -Fehler erhöht (falsch-negative Entscheidung; vgl. auch 2.10.1).

Für jede Gruppe wurde eine zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholung (Faktoren: Testzeitpunkt, Bedingung) berechnet. Die Messung bei hohem Motivationslevel (vgl. 2.6.2.1) wurde außerdem zwischen der scheinoperierten Gruppe und der ACA-Gruppe mit großer Läsion (beide  $N = 5$ ) mit einer gemischten zweifaktoriellen ANOVA mit Messwiederholung (Faktoren: Testzeitpunkt, Gruppe) verglichen.

Die postoperativen FDOPA-Verhaltens-PET-Daten wurden ebenfalls mit einer zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholung (Faktoren: Testzeitpunkt, Bedingung) verglichen. Des Weiteren wurden die postoperativen FDG- und FDOPA-Verhaltens-PET-Daten auf Voxelebene mit der Läsionsgröße korreliert (Pearson-Korrelation, s. o.).



### 3 Vorexperimente

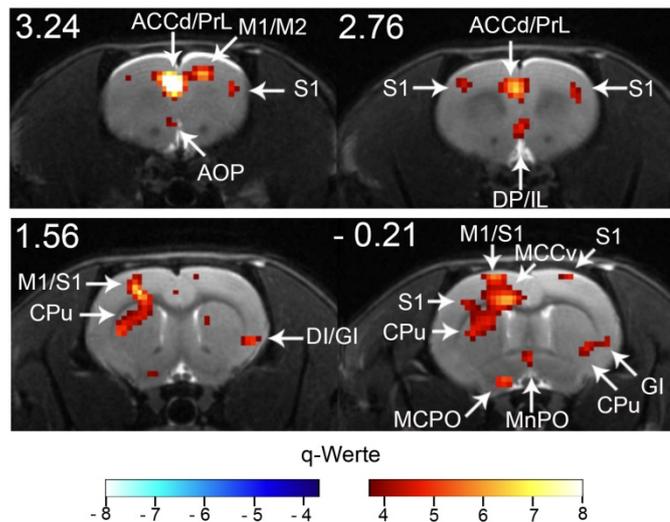
#### 3.1 Ergebnisse

##### 3.1.1 Etablierung des FDOPA-Verhaltens-PETs

Das FDOPA-Verhaltens-PET in Kombination mit der Motivationsaufgabe wurde zunächst in einer Vorstudie mit acht unbehandelten Versuchstieren durchgeführt. Alle Tiere wurden in drei verschiedenen Bedingungen getestet (hohes Motivationslevel, reduziertes Motivationslevel, Durchlaufkontrolle). Wie im Material und Methodenteil ausführlich erläutert (vgl. 2.9.1.1), wurde das FDOPA zunächst intravenös (i. v.) injiziert bevor die Applikationsform schließlich auf intraperitoneal (i. p.) umgestellt wurde.

Die i. v. Applikation hat gegenüber der i. p. Injektion unter anderem den Vorteil, dass das Radiopharmakon direkt in die Blutbahn und schließlich schneller im Gehirn ankommt. Folglich wird weniger FDOPA peripher, vor Überschreiten der Blut-Hirnschranke, abgebaut. Daher wurde das FDOPA vor der Verhaltens-PET Messung in der Vorstudie zunächst i. v. appliziert. Die i. v. Injektion erfordert jedoch, dass das Tier für die Positionierung einer Injektionskanüle und die darauffolgende Injektion narkotisiert wird (vgl. Material und Methoden 2.9.1.1; Narkosezeit etwa 2-3 min).

Abbildung 23 zeigt den Vergleich zwischen der Messung bei hohem und reduziertem Motivationslevel als q-Wertkarte (einfaktorielle ANOVA mit Messwiederholung, Faktor: Bedingung). Q-Werte  $> \pm 3,7$  (mit  $df = 14$ ) waren signifikant. Alle signifikanten Effekte spiegeln eine erhöhte dopaminerge Aktivität bei hoher Motivation im Vergleich zur Messung nach Vorfütterung wider. Dies war in folgenden Arealen der Fall: im dorsalen anterioren zingulären Kortex (ACC), im ventralen mittleren zingulären Kortex (MCC), im prälimbischen Kortex, im primären und sekundären motorischen Kortex, im primären somatosensorischen Kortex, im anterioren olfaktorischen Nucleus, im dorsalen peduncularen Kortex, im Caudate-Putamen, im insulären Kortex (dysgranulärer und granulärer Teil) und im Hypothalamus (Nucleus (Ncl.) praeopticus medialis, Ncl. praeopticus pars magnocellularis).



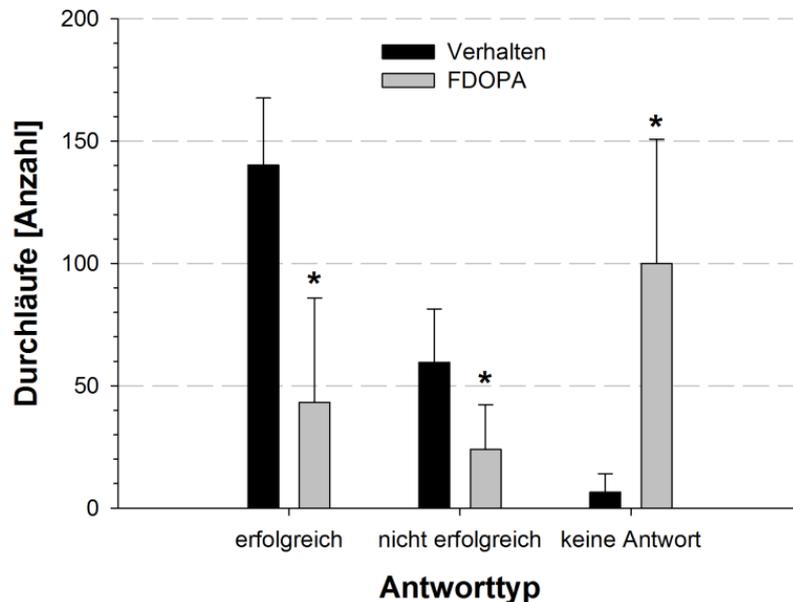
**Abbildung 23: Vergleich zwischen der FDOPA-Verhaltens-PET-Bedingung bei hoher und reduzierter Motivation.** Das FDOPA wurde in einer Vorstudie zunächst i. v. injiziert. Mit allen Versuchstieren (N = 8) wurden drei FDOPA-PET-Bedingungen durchgeführt (hohes Motivationslevel, reduziertes Motivationslevel, Durchlaufkontrolle). Der statistische Vergleich erfolgte mittels einfaktorieller ANOVA mit Messwiederholung (Faktor: Bedingung). Der kritische q-Wert betrug  $\pm 3,7$ . Alle signifikanten Unterschiede kamen durch eine höhere dopaminerge Aktivität bei hohem Motivationslevel im Vergleich zur Messung nach Vorfütterung zustande (in Rot dargestellt). Die FDOPA-Aktivität war in folgenden Arealen höher, wenn die Motivation hoch war: dorsaler ACC und ventraler MCC, prälimbischer Kortex, primärer und sekundärer motorischer Kortex, primärer somatosensorischer Kortex, anteriorer olfaktorischer Nucleus, dorsaler peduncularer Kortex, Caudate-Putamen, insulärer Kortex (dysgranulärer und granulärer Teil) und Hypothalamus (Ncl. praeopticus medialis, Ncl. praeopticus pars magnocellularis).

(**Abk:** AOP: anteriorer olfaktorischer Nucleus, ACCd: dorsaler anteriorer zingulärer Kortex, CPu: Caudate-Putamen, DP: dorsaler peduncularer Kortex, DI: insulärer Kortex (dysgranulär), GI: insulärer Kortex (granulär), IL: infralimbischer Kortex, M1: primärer motorischer Kortex, M2: sekundärer motorischer Kortex, MCCv: ventraler mittlerer zingulärer Kortex, MCPO: Ncl. praeopticus pars magnocellularis (Hypothalamus), MnPO: Ncl. praeopticus medialis (Hypothalamus), PrL: prälimbischer Kortex, S1: primärer somatosensorischer Kortex)

Auch der Vergleich zwischen der Durchlaufkontrolle und der Messung nach Vorfütterung zeigte deutliche Unterschiede in belohnungsrelevanten Arealen (hier nicht gezeigt), wobei das Aktivitätsmuster ähnlich war wie im Vergleich zwischen hohem und reduziertem Motivationslevel.

Um einen möglichen Einfluss der i. v. FDOPA-Injektion unter Narkose zu untersuchen, wurde das Verhalten nach FDOPA-Injektion mit einer Verhaltensmessung ohne FDOPA-Injektion verglichen (Abbildung 24). Der Vergleich ergab, dass die absolute Anzahl an Durchläufen nach intravenöser FDOPA-Injektion deutlich niedriger war als in der Verhaltensmessung ohne vorherige Injektion. Wie aus Abbildung 24 hervorgeht, traf dies sowohl auf die erfolgreichen als auch auf die nicht erfolgreichen Durchläufe zu (erfolgreiche Durchläufe:  $t = 7,45$ ,  $p < 0,001$ ; nicht er-

folgreiche Durchläufe:  $t = 3,56$ ,  $p = 0,009$ ). Die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe war entsprechend in der FDOPA-Verhaltens-PET Bedingung deutlich höher ( $t = - 5,01$ ,  $p < 0,001$ ) als in der Verhaltensmessung ohne PET.



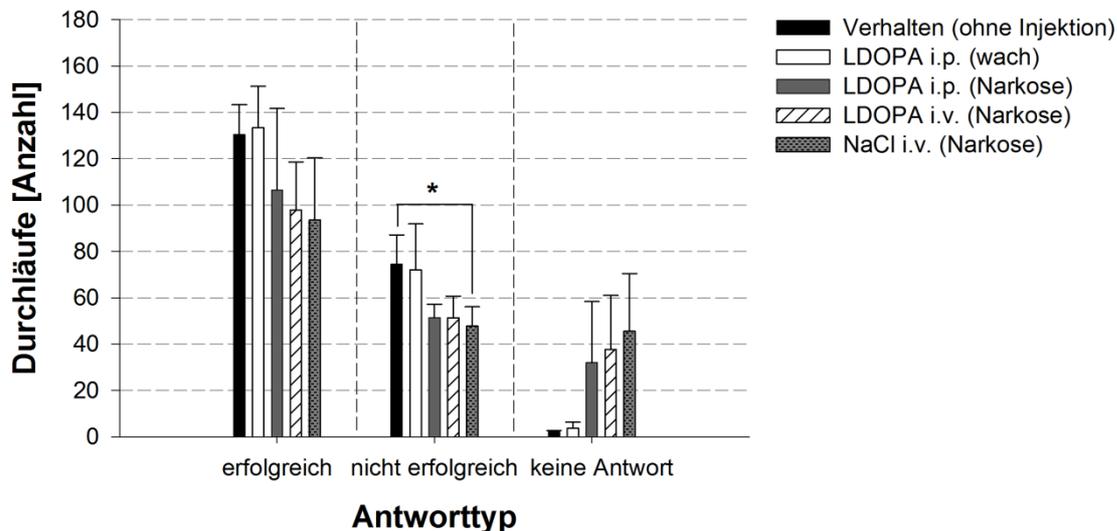
**Abbildung 24: Vergleich zwischen der Anzahl erfolgreicher, nicht erfolgreicher und nicht beantworteter Durchläufe bei hoher Motivation in der Verhaltensmessung ohne PET und der FDOPA-Verhaltens-PET-Bedingung.** Während die Anzahl erfolgreicher und nicht erfolgreicher Durchläufe in der FDOPA-Verhaltens-PET Bedingung (i. v. Injektion) signifikant niedriger war als in der Verhaltensmessung (erfolgreiche Durchläufe:  $t = 7,45$ ,  $p < 0,001$ ; nicht erfolgreiche Durchläufe:  $t = 3,56$ ,  $p = 0,009$ ), stieg die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe in der FDOPA-Verhaltens-PET Bedingung deutlich an ( $t = - 5,01$ ,  $p < 0,001$ ).

### 3.1.2 Ergebnisse der Narkose-Wach-Studie

Da die Versuchstiere im FDOPA-Verhaltens-PET, wie im vorherigen Abschnitt gezeigt, im Verhaltensversuch deutlich schlechter mitmachten als ohne vorherige Injektion, wurden in einer weiteren Vorstudie (Narkose-Wach-Studie) mögliche Ursachen für die Verhaltensänderung überprüft.

Es wurde getestet, ob die Narkose vor der Injektion des Radiopharmakons, die Injektionsmethode (i. v. oder i. p.) oder aber das im FDOPA enthaltene LDOPA zu Verhaltensänderungen führte. Dafür wurden die Versuchstiere ( $N = 6$ ) in fünf verschiedenen Bedingungen getestet, wobei als Verhaltensversuch immer die Motivationsaufgabe bei hohem Motivationslevel durchgeführt wurde. Das LDOPA wurde 1. nicht injiziert 2. intraperitoneal ohne Narkose injiziert, 3. intraperitoneal mit

Narkose, 4. intravenös mit Narkose verabreicht. Außerdem wurde die Motivationsaufgabe 5. nach intravenöser NaCl-Injektion (ohne Zusatz von LDOPA) durchgeführt (vgl. 2.9.1.2). Die Anzahl erfolgreicher, nicht erfolgreicher und nicht beantworteter Durchläufe in den verschiedenen Versuchsbedingungen wurde mit einer einfaktoriellen ANOVA (Faktor Versuchsbedingung) verglichen (Abbildung 25).



**Abbildung 25: Anzahl erfolgreicher, nicht erfolgreicher und nicht beantworteter Versuchsdurchläufe in Abhängigkeit von der Versuchsbedingung.** Für die nicht erfolgreichen und nicht beantworteten Durchläufe gab es signifikante Haupteffekte zwischen den Bedingungen. Die Posthoc Analyse ergab aber nur für die nicht erfolgreichen Durchläufe einen signifikanten Effekt (\*:  $p = 0,017$ ). In der Tendenz unterschied sich die Anzahl nicht erfolgreicher Durchläufe jedoch zwischen der Verhaltensmessung ohne Injektion und der LDOPA Messung nach i. p. Injektion unter Narkose ( $p = 0,05$ ) und nach i. v. Injektion ( $p = 0,059$ ). Die Posthoc Analyse zeigte jedoch, vermutlich auf Grund der hohen Standardabweichungen nach intravenöser Injektion, keine signifikanten Unterschiede zwischen den Bedingungen.

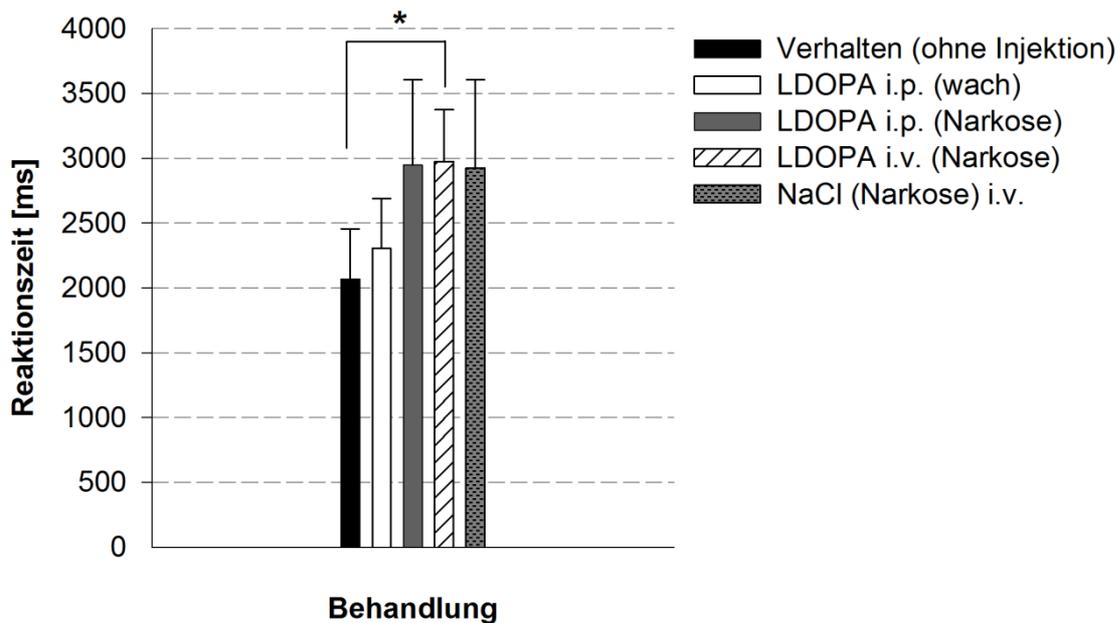
Die Anzahl der erfolgreichen Versuchsdurchläufe war nach i. v. Injektion zwar etwas niedriger als nach i. p. Injektion (wach), dieser Unterschied war aber nicht signifikant ( $F(1,91, 3,06) = 3,488, p = 0,074$ ; Abbildung 25). Da die Sphärizitätsannahme verletzt war ( $p < 0,001$ ), wurden die Freiheitsgrade Greenhouse-Geisser korrigiert ( $\epsilon = 0,477$ ).

Für die Anzahl nicht erfolgreicher Durchläufe gab es dagegen einen signifikanten Effekt: (Mauchly-Test ( $p = 0,028$ ), Greenhouse-Geisser Korrektur, ( $\epsilon = 0,503$ );  $F(2,01, 10,07) = 10,837, p = 0,003$ ). Die Auflösung des Effekts durch die Posthoc-Analyse zeigte dann, dass in der Bedingung Narkose i. v. signifikant weniger Durchläufe nicht erfolgreich waren als in der Verhaltensmessung ohne Injektion (Narko-

se i. v.:  $p = 0,017$ ). Die anderen beiden Bedingungen, in denen eine Narkose erforderlich war, unterschieden sich zumindest tendenziell von der Verhaltensmessung (Verhalten vs. LDOPA i. p.:  $p = 0,05$ ; Verhalten vs. LDOPA i. v.:  $p = 0,059$ ). Nach i. p. Injektion ohne Narkose verhielten sich die Versuchstiere im Mittel dagegen ähnlich wie im Test ohne Injektion (vgl. Abbildung 25).

Die Reduktion nicht erfolgreicher Durchläufe ging einher mit einer Erhöhung nicht beantworteter Durchläufe nach einer Injektion von LDOPA oder NaCl mit Narkose. Auch hier gab es einen signifikanten Haupteffekt der Versuchsbedingungen (Mauchly-Test:  $p < 0,002$ , Greenhouse-Geisser:  $\epsilon = 0,499$ ,  $F(2, 9,98) = 5,51$ ,  $p = 0,025$ ). Die Posthoc-Analyse zeigte aber keine signifikanten Unterschiede oder Tendenzen zwischen den Bedingungen, vermutlich auf Grund der hohen Standardabweichungen. Wie aus Abbildung 25 jedoch hervorgeht, war die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe im Mittel nach Injektion unter Narkose (LDOPA i. p., LDOPA i. v., NaCl i. v.) höher als nach LDOPA-Injektion im wachen Tier (i. p.) und in der Verhaltensmessung ohne vorherige Injektion.

In Abbildung 26 ist die Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit für die verschiedenen Bedingungen aufgetragen. Da der Mauchly-Test signifikant war ( $p = 0,009$ ), wurden die Freiheitsgrade nach Greenhouse-Geisser korrigiert ( $\epsilon = 0,541$ ). Die Art der Behandlung vor der Durchführung der Motivationsaufgabe hatte einen signifikanten Effekt ( $F(1, 5) = 11,51$ ,  $p = 0,002$ ). Die Posthoc-Analyse zeigte, dass dieser Effekt dadurch zustande kam, dass die Reaktionszeiten nach LDOPA-i. v. Injektion länger waren als bei der Verhaltensmessung ohne Injektion ( $p = 0,045$ ). In der Tendenz war dies auch für den Vergleich zwischen der LDOPA i. v. Injektion unter Narkose und der LDOPA i. p. Injektion im wachen Tier der Fall ( $p = 0,062$ ).



**Abbildung 26: Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit zu Beginn eines Durchlaufs für die verschiedenen Behandlungen.** Unabhängig von der Injektionsmethode (i p. oder i. v.) verlängerten sich die Reaktionszeiten signifikant, wenn LDOPA unter Narkose verabreicht wurde (\*:  $p = 0,045$ ).

Im Mittel verlängerten sich die Reaktionszeiten im Vergleich zur Verhaltensmessung nach allen Injektionen mit Narkose um etwa 800 ms. Nach i. p. Injektion im wachen Tier war die mittlere Reaktionszeit dagegen im Mittel vergleichbar mit der Verhaltensmessung ohne Injektion. Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass die Narkose, aber nicht das LDOPA per se zu einer signifikanten Verlängerung der Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit führte.

Die Ergebnisse der Narkose-Wach-Studie zeigten also, dass nicht das LDOPA per se, sondern vielmehr die Narkose die Motivation zur Mitarbeit beeinflusste. Zusammen mit den Ergebnissen aus der FDOPA-Studie (vgl. 3.1.1) führten die Ergebnisse dieser Studie zu dem Entschluss, sowohl das FDG als auch das FDOPA in allen weiteren Experimenten der vorliegenden Arbeit und im wachen Tier i. p. zu applizieren (vgl. Material und Methoden 2.6.2.1.1 und 2.6.2.2.1).

### 3.2 Diskussion der Vorexperimente

Die Vorexperimente wurden mit dem Ziel durchgeführt, einen geeigneten methodischen Ablauf für das FDOPA-Verhaltens-PET zu etablieren, um für die anschließende longitudinale Schlaganfallstudie ein optimales Protokoll zu haben. Außerdem musste getestet werden, ob sich FDOPA überhaupt im Verhaltens-PET eignet, da dies soweit uns bekannt, vorher noch nie für diese Methode verwendet wurde.

Verhaltens-PET ist eine relativ neue Methode und in bisherigen Studien unserer Arbeitsgruppe wurde FDG als radioaktiver Marker verwendet (Endepols *et al.*, 2010; Rohleder *et al.*, 2014). Wie auch im Material und Methodenteil (vgl. 2.6.2.1.1) erläutert, eignet sich i. p. Injektion in die Bauchhöhle für FDG gut, da die Aufnahme des Radiopharmakons in den ersten 15 min stetig steigt und danach nur langsam abfällt. Die ersten 30-40 min nach der Injektion können daher gut genutzt werden, um einen Verhaltensversuch im wachen Tier durchzuführen. Wie auch in vorherigen Arbeiten unserer Arbeitsgruppe gezeigt, reicht die Aktivität des verabreichten FDGs außerdem vollkommen aus, um sehr gute Verhaltens-PET Bilder zu erhalten (Endepols *et al.*, 2010; Rohleder *et al.*, 2014). Die i. p. Injektionsmethode hat gegenüber der i. v. Injektion den Vorteil, dass das Radiopharmakon auch im wachen Tier appliziert werden kann oder alternativ unter sehr kurzer Narkose. Für die i. v. Injektion muss hingegen ein Katheter in die Schwanzvene gelegt werden, so dass die Narkosezeit etwas länger ist und sich die Gefahr erhöht, dass der anschließende Verhaltensversuch dadurch beeinflusst wird.

Für FDOPA ist die Wahl einer geeigneten Injektionsmethode diffiziler, da, wie im Material und Methodenteil erläutert (vgl. 2.6.2.2), die spezifische Aktivität deutlich geringer ist. Über die vorherige Injektion des LDOPA-Decarboxylasehemmer Carbidopa (vgl. 2.6.2.2.1) wird die periphere Umwandlung von FDOPA in  $^{18}\text{F}$ -Fluordopamin (FDA) zwar reduziert, aber es ist davon auszugehen, dass immer noch ein Teil des FDOPAs peripher abgebaut wird (Kumakura & Cumming, 2009). Eine i. v. Injektion des Radiopharmakons wie es auch in den Vorexperimenten getestet wurde, hat also den Vorteil, dass mehr FDOPA über die Blutbahn ins Gehirn gelangt. Theoretisch führt dies auch zu einer kleineren Varianz zwischen den verschiedenen Messungen, weil das FDOPA immer in etwa gleich schnell die Bluthirnschranke passiert. Bei der i. p. Injektion muss das FDOPA dagegen zunächst vom

Bauchraum in die Blutbahn gelangen um dann schließlich im Gehirn anzukommen.

In den Vorexperimenten wurde FDOPA daher zunächst i. v. verabreicht. Die Versuchstiere wurden bei hoher und reduzierter Motivation sowie in der Durchlaufkontrolle in Kombination mit Verhaltens-PET getestet. Der Vergleich der PET-Bilder zwischen der Messung bei hoher und reduzierter Motivation zeigte bereits, dass sich FDOPA prinzipiell als Radiopharmakon für die Verhaltens-PET-Methode eignet: Bei hoher Motivation war die FDOPA-Aktivität in einigen motivations- und belohnungsrelevanten Strukturen wie dem ACC, dem prälimbischen Kortex und dem Hypothalamus signifikant höher. Bei einigen Tieren traf dies auch auf den Ncl. Accumbens zu (nicht gezeigt), obwohl es innerhalb der Gesamtgruppe in diesem Areal keine signifikanten Unterschiede gab. Außerdem war die FDOPA-Aktivität in einigen motorisch-assoziierten Arealen wie dem Caudate-Putamen und dem primären Motorkortex höher, wenn die Versuchstiere hoch motiviert waren. Wie in Abschnitt 5.2 noch weiter aufgeführt wird, entsprechen diese Verhaltens-PET Ergebnisse auch Erkenntnissen aus der Literatur (Salamone *et al.*, 2007; Haber & Knutson, 2010).

Um zu überprüfen, ob die FDOPA-Injektion einen Einfluss auf das Verhalten der Versuchstiere hat, wurden die Verhaltensergebnisse während des FDOPA-Verhaltens-PETs bei hoher Motivation mit Verhaltensmessungen außerhalb des PET-Kontextes verglichen. Dieser Vergleich zeigte, dass die Versuchstiere nach der FDOPA-Injektion deutlich schlechter mitmachten. Zum einen antworteten die Versuchstiere seltener an der Nosepoke-Einheit und zum anderen nahm die Erfolgsrate ab, das heißt die geforderte Wartezeit wurde seltener eingehalten. Wie auch die hohen Standardabweichungen zeigen, war außerdem die Varianz im FDOPA-Verhaltens-PET höher als in der Verhaltensmessung ohne PET. Hoch variable Verhaltensergebnisse erschweren die Interpretation der FDOPA-Bilder unterschiedlicher Versuchsbedingungen. Ein Grund dafür ist die schlechte zeitliche Auflösung des Verhaltens-PETs: Das Radiopharmakon akkumuliert während des Verhaltensversuchs in den Zellen, aber die PET-Aufnahme beginnt erst im Anschluss an den Versuch. Dadurch liegt nur das kumulative Endergebnis (Summenbild) vor, nicht aber einzelne Zeitabschnitte der Tracer-Einlagerung. Wie im Material und Methodenteil (vgl. 2.6.2.2) erläutert, kommt erschwerend hinzu, dass das FDOPA-PET-Signal nicht nur durch FDA, sondern auch durch seine Metabolite zu erklären

ist (DeJesus *et al.*, 2000). Der Versuchsaufbau wurde zwar so gewählt, dass die FDA-Konzentration während des Verhaltensversuchs möglichst hoch ist (vgl. Material und Methoden 2.6.2.2.1), aber nach einer Studie von Deep *et al.* (1997), ist die FDA-Konzentration beispielsweise 5 min nach Injektion noch etwas niedriger als nach 10 min. Wenn die Versuchstiere nun zu unterschiedlichen Zeitpunkten damit beginnen, im Versuch mitzuarbeiten, ist davon auszugehen, dass es größere Schwankungen im Verhaltens-PET-Bildern gibt. Hinzu kommt, dass die hohe Anzahl nicht beantworteter Durchläufe dazu führt, dass das FDOPA-Signal schlechter auf das Verhalten der Versuchstiere in der Motivationsaufgabe zurückzuführen ist.

Die geringere Motivation der Versuchstiere nach der FDOPA-Applikation mitzumachen kann entweder auf die Narkose oder aber das FDOPA *per se* zurückzuführen sein. Die letztere Annahme beruht darauf, dass Dopamin als Neurotransmitter nicht nur eine modulatorische Wirkung innerhalb des zentralen Nervensystems hat (Bromberg-Martin *et al.*, 2010b), sondern auch außerhalb. So werden Dopamin u. a. verschiedene physiologische Funktionen, die den gastrointestinalen Trakt oder das Herz-Kreislaufsystem betreffen, zugesprochen (van Rooyen & Offermeier, 1981). Aus der Literatur ist außerdem bekannt, dass bei Parkinsonpatienten, die mit LDOPA therapiert werden, häufig Nebenwirkungen auftreten, die den Magen- und Darmtrakt und das kardiovaskuläre System betreffen (Bouhaddi *et al.*, 2004; Muller, 2012). So wurde nach LDOPA-Gabe bei Parkinsonpatienten z. B. eine Reduktion der Herzfrequenz beobachtet (Bouhaddi *et al.*, 2004). Hinzu kommt, dass der pH-Wert des verwendeten FDOPAs nur bei etwa 4 lag (pers. Kommunikation Dr. Wagner, Radiochemie, MPI f. n. F.). Für die Humananwendung sind Lösungen zur Peritonealspülung mit einem pH-Wert von 4 durchaus gebräuchlich (z.B. Patent EP0337420), da hierbei das Keimwachstum effektiv gehemmt und das Risiko einer Peritonitis z.B. bei regelmäßiger Peritonealdialyse minimiert wird. Vorübergehende Reizungen der Schleimhaut können jedoch nicht ausgeschlossen werden, und es könnte auch zu einem initialen Injektionsschmerz kommen (vgl. Abschnitt 3.2).

Um die Ursachen für die Verhaltensergebnisse näher zu beleuchten, wurde die Narkose-Wach-Studie durchgeführt. In dieser Vorstudie wurde nicht radioaktives LDOPA unter Verwendung des gleichen Lösungsmittels wie bei der FDOPA-Synthese (vgl. 2.6.2.2.1) i. p. und i. v. unter Narkose injiziert. In einer weiteren

Test-Bedingung wurde NaCl i. v. verabreicht. Diese Messungen wurden mit dem Verhalten ohne vorherige Injektion und nach einer i. p. LDOPA-Injektion im wachen Tier verglichen (vgl. Material und Methoden 2.9.1.2). Die Ergebnisse dieser Vorstudie bestärkten die Annahme, dass die Narkose die Motivation der Versuchstiere im Versuch mitzumachen, reduzierte. Auch wenn die Effekte nicht so deutlich waren wie nach den oben diskutierten FDOPA-Verhaltens-PET Ergebnissen zu erwarten gewesen wäre, war die Motivation der Versuchstiere in allen Narkosebedingungen geringer als im Verhaltensversuch ohne vorherige Injektion oder nach LDOPA-Injektion im wachen Tier. Wie vor allem der Vergleich zwischen den Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit zeigte, war dieser Effekt nach i. v. Injektion von LDOPA oder NaCl am stärksten, was vermutlich wie oben erwähnt damit zusammenhängt, dass die Narkosezeit etwas länger war. Andererseits unterstreicht dies aber auch, dass nicht das LDOPA *per se* die Ergebnisse aus der vorherigen FDOPA-Verhaltensstudie erklären kann.

Die Ergebnisse der Vorstudien ergaben demzufolge, dass die Narkose und nicht das LDOPA die Motivation im Versuch mitzuarbeiten deutlich reduzierte. Daher wurde in allen folgenden Versuchen sowohl das FDG, als auch das FDOPA i. p. und ohne Narkose appliziert (vgl. Material und Methoden 2.6.2.1.1, 2.6.2.2.1). Andererseits zeigte der Vergleich zwischen den FDOPA-Bildern aber auch, dass FDOPA-PET prinzipiell als Verhaltens-PET-Radiopharmakon geeignet ist.

## 4 Präoperative Ergebnisse

### 4.1 Hörfähigkeit

Vor der Operation wiesen alle Versuchstiere eine gute Hörfähigkeit auf. Für das linke Ohr wurde eine mittlere Hörschwelle von 25 ( $\pm 0$ ) dB SPL und für das rechte Ohr von 25 ( $\pm 5$ ) dB SPL ermittelt.

### 4.2 Motivationsaufgabe - Präoperative Verhaltensergebnisse

Im Folgenden werden zunächst die Verhaltensergebnisse der Motivationsaufgabe im unbehandelten Tier (präoperative Messungen) erläutert. Die entsprechenden präoperativen Verhaltens-PET-Daten werden im Anschluss im Abschnitt 1.3 vorgestellt.

Die präoperativen Messungen dienten zum einen dazu, das Verhaltens-PET in Kombination mit FDG und FDOPA für die Motivationsaufgabe zu etablieren und zum anderen als präoperative Basis-Messung vor der ACA- oder Schein-OP (vgl. Material und Methoden 2.9.3).

Mit jedem Versuchstier ( $N = 10$ ) wurde die Motivationsaufgabe bei hohem Motivationslevel sowie nach vorheriger Fütterung (reduziertes Motivationslevel) in vier Bedingungen (Verhalten, FDG, FDOPA, LDOPA) durchgeführt.

Soweit nicht anders angegeben, wurden die Verhaltensdaten mittels mehrfaktorieller ANOVA statistisch analysiert (Faktoren: Versuchsbedingung, Motivationslevel). Hinzu kam je nach Verhaltensparameter als weiterer Faktor die geforderte Wartezeit (dreifaktorielle ANOVA mit Messwiederholungen).

Um einen signifikanten statistischen Haupteffekt, zum Beispiel für den Faktor Versuchsbedingung, genauer aufzulösen, wurde eine Posthoc-Analyse (Sidak) durchgeführt. Auch bei einem signifikanten Interaktionseffekt, z. B. zwischen der Versuchsbedingung und dem Motivationslevel, wurde eine Posthoc-Analyse (Sidak) zur weiteren Aufschlüsselung verwendet. Außerdem wurden Interaktionsgraphen hinzugezogen (vgl. Material und Methoden 2.10.1).

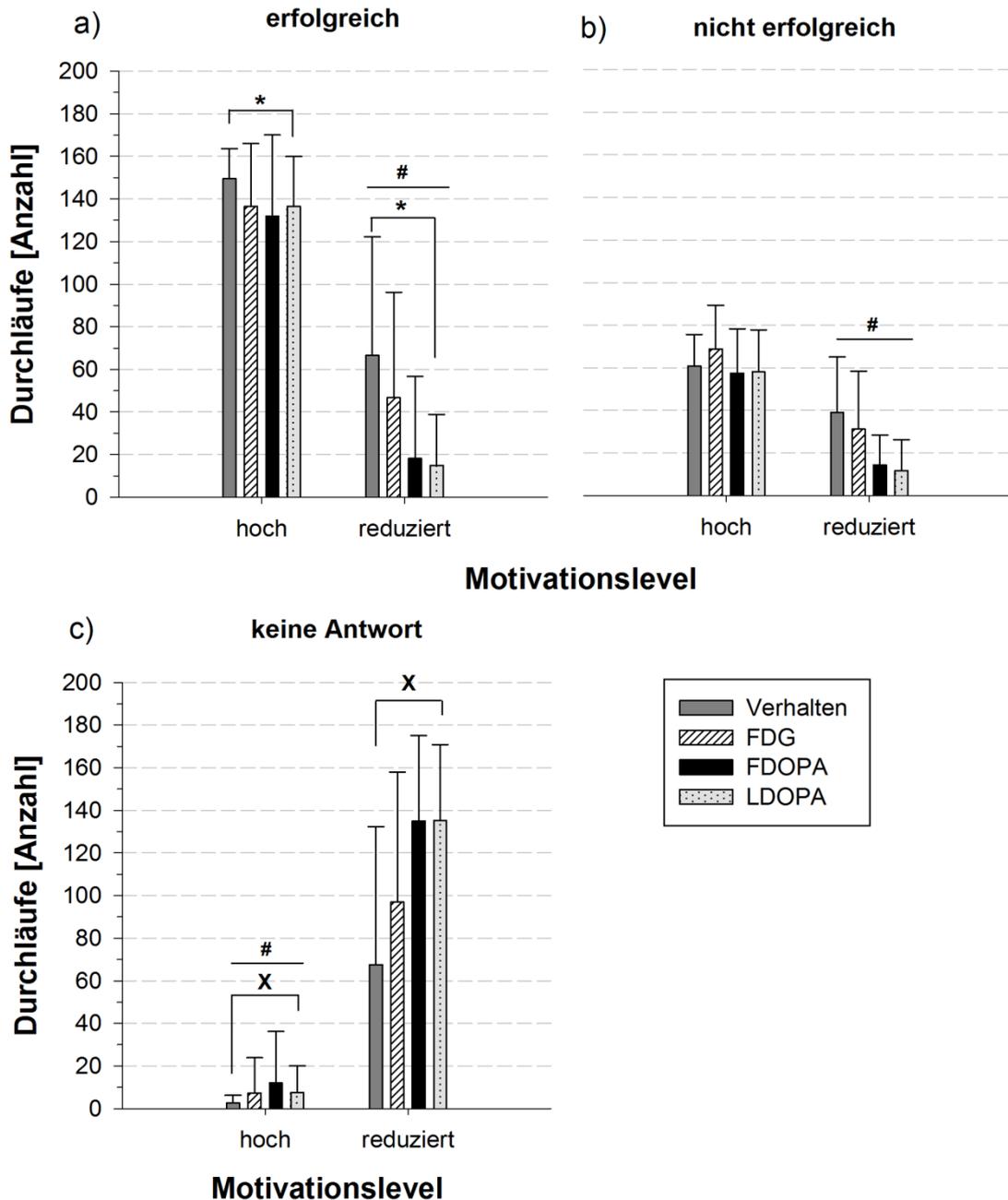
#### 4.2.1 Antworten an der Nosepoke-Einheit

Die Anzahl erfolgreicher (geforderte Wartezeit eingehalten), nicht erfolgreicher (geforderte Wartezeit nicht eingehalten) und nicht beantworteter Durchläufe (keine Antwort an der Nosepoke-Einheit innerhalb von 10 s nach Beginn des Durchlaufs) war abhängig vom Motivationslevel und der Versuchsbedingung (Abbildung 27). Es gab jedoch in keinem Fall eine signifikante Interaktion zwischen den beiden Faktoren. Während die Anzahl erfolgreicher und nicht erfolgreicher Durchläufe nach Vorfütterung (reduziertes Motivationslevel) signifikant abnahm (erfolgreiche Durchläufe:  $F(1, 9) = 185,85, p < 0,001$ , nicht erfolgreiche Durchläufe:  $F(1, 9) = 39,38, p < 0,001$ ) stieg die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe an ( $F(1, 9) = 170,18, p < 0,001$ ).

Unabhängig von der Versuchsbedingung führte die Vorfütterung also zu einer Abnahme an Durchläufen (für alle  $p < 0,001$ ). Wie aus Abbildung 27 a-b hervorgeht, reduzierte sich die Anzahl der Durchläufe nach Vorfütterung unabhängig vom Erfolg um ca. 50 %. Umgekehrt stieg die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe im Mittel von unter 10 auf über 100 Durchläufe an (Abbildung 27 c).

Ob und mit welchem Erfolg an der Nosepoke-Einheit geantwortet wurde, hing auch von der Versuchsbedingung ab (Abbildung 27 a-c). Es gab für alle Antworttypen einen signifikanten Haupteffekt (erfolgreiche Durchläufe:  $F(1, 9) = 6,09, p = 0,003$ ; nicht erfolgreicher Durchläufe: ( $F(1, 9) = 4,26, p = 0,014$ ); keine Antwort an der Nosepoke-Einheit: ( $F(1, 9) = 5,63, p = 0,004$ )).

Die Posthoc-Analyse Sidak zeigte, dass der Effekt zwischen den Bedingungen für erfolgreiche und nicht beantwortete Durchläufe durch einen Unterschied zwischen der reinen Verhaltensmessung und der LDOPA-Messung zustande kam. Die Anzahl erfolgreicher Durchläufe war in der Verhaltensmessung ohne Injektion höher als nach LDOPA-Gabe ( $p = 0,033$ ). Gleichzeitig stieg die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe nach LDOPA-Injektion und war signifikant höher als in der Verhaltensmessung ohne Injektion ( $p = 0,041$ ). Tendenziell traf beides auch auf den Vergleich zwischen der Verhaltens- und FDOPA-Messung zu (erfolgreiche Durchläufe:  $p = 0,05$ ; keine Antwort:  $p = 0,059$ ).



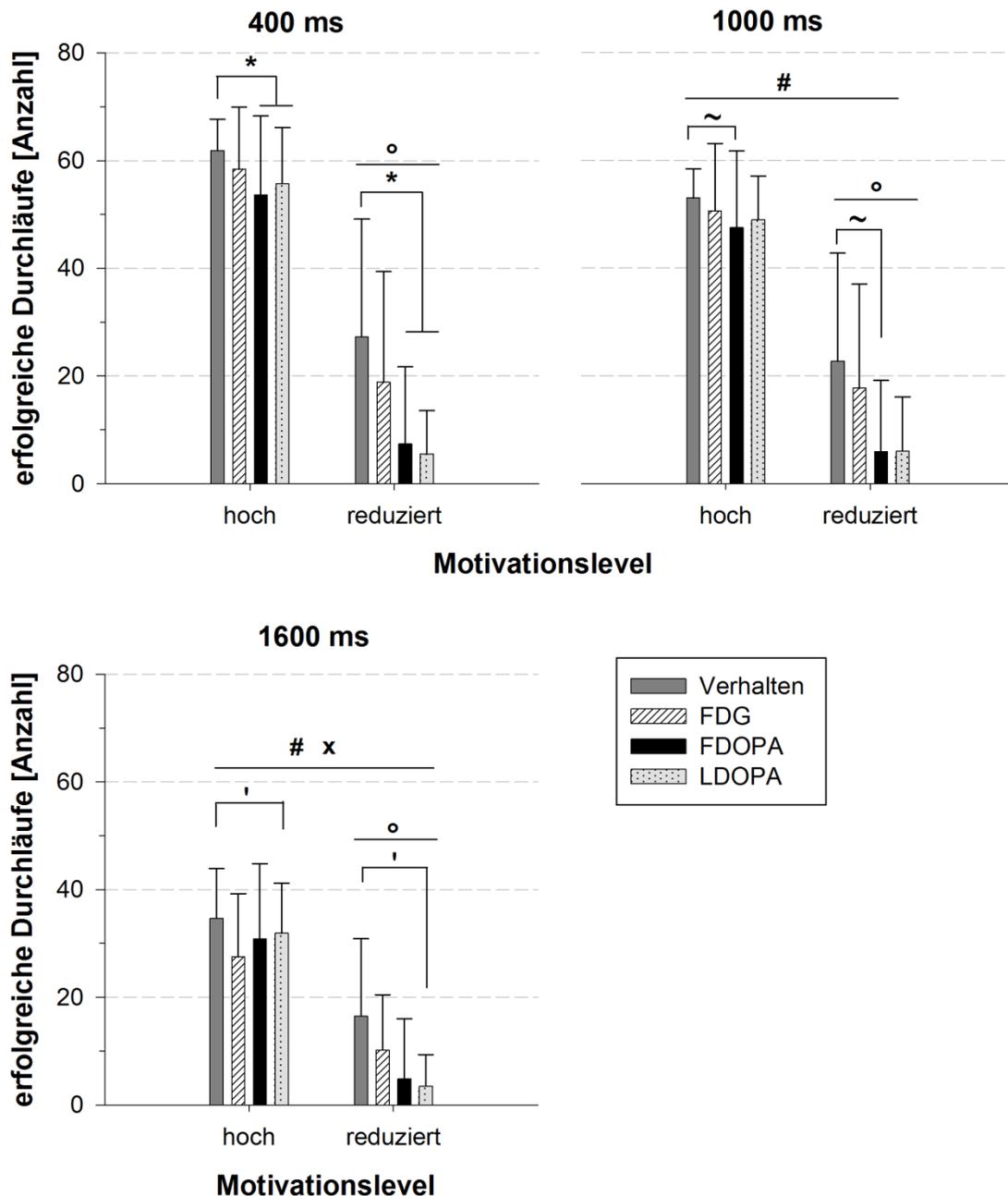
**Abbildung 27: Anzahl erfolgreicher (a) und nicht erfolgreicher Durchläufe (b) sowie nicht beantworteter Durchläufe (c) für die Versuchsbedingungen Verhalten, FDG, FDOPA und LDOPA.** Es gab für alle Antworttypen einen signifikanten Haupteffekt für den Faktor Motivationslevel (#: für alle Vergleiche:  $p < 0,001$ ). Bei reduzierter Motivation war die Anzahl erfolgreicher und nicht erfolgreiche Durchläufe geringer (a und b), die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe stieg hingegen an (c). Für den Faktor Versuchsbedingung wurden ebenfalls signifikante Effekte beobachtet. Nach LDOPA Gabe waren die Versuchstiere im Vergleich zur reinen Verhaltensmessung (\*:  $p = 0,033$ ) seltener erfolgreich (a, geforderte Wartezeit wurde nicht eingehalten). Gleichzeitig stieg die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe an (c, x:  $p = 0,041$ ).

Die nicht erfolgreichen Durchläufe (geforderte Wartezeit nicht eingehalten) unterschieden sich trotz des signifikanten Haupteffekts für den Faktor Versuchsbedingung, in der Posthoc-Analyse nicht signifikant. Es gab lediglich in der Tendenz einen Unterschied zwischen der Verhaltensmessung und der Messung nach LDOPA-Injektion ( $p = 0,096$ ).

In Abbildung 28 ist die Anzahl erfolgreicher Durchläufe in Abhängigkeit vom Motivationslevel, der Bedingung und der geforderten Wartezeit (400 ms, 1000 ms, 1600 ms) aufgetragen. Hier gab es einige signifikante Haupteffekte und Interaktionen. Die Anzahl erfolgreicher Durchläufe hing von der Länge der geforderten Wartezeit ab: Da die Sphärizitätsannahme verletzt war (Mauchly-Test, ( $p = 0,002$ )), mussten die Freiheitsgrade nach der Greenhouse-Geisser Methode ( $\epsilon = 0,558$ ) korrigiert werden ( $F(1,12, 10,05) = 56,65, p < 0,001$ ). Die Posthoc-Analyse Sidak zeigte, dass der Erfolg mit steigender geforderter Wartezeit abnahm (für alle Vergleiche  $p < 0,001$ ).

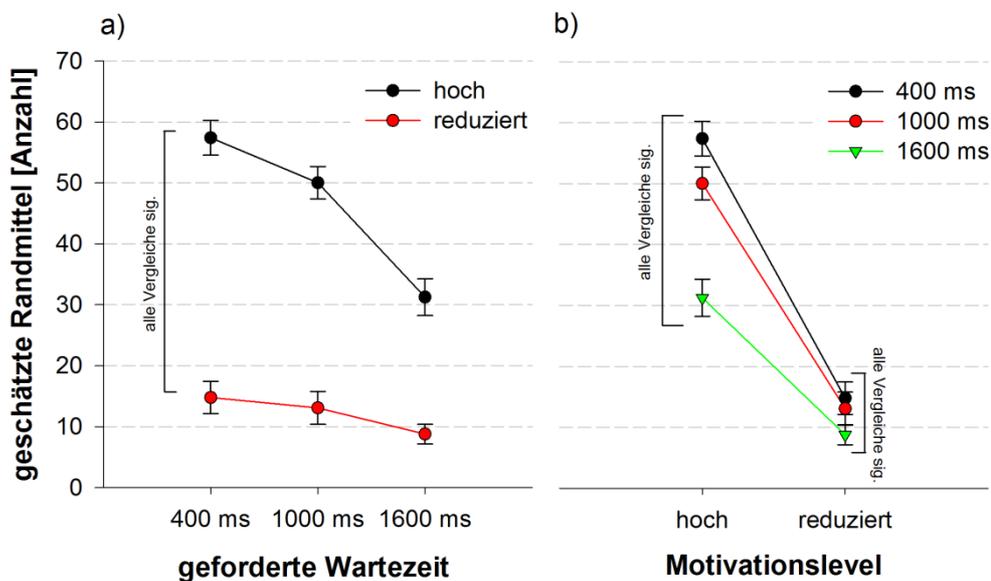
In wie vielen Durchläufen die geforderte Wartezeit eingehalten wurde, hing außerdem vom Motivationslevel ab ( $F(1, 9) = 186,46, p < 0,001$ ): Nach Vorfütterung war die Anzahl erfolgreicher Durchläufe niedriger als bei hoher Motivation. Auch für den Faktor Versuchsbedingung gab es einen signifikanten Haupteffekt  $F(3, 27) = 6,11, p = 0,003$ . Die Auflösung des Effekts zeigte, dass nach LDOPA-Injektion weniger Durchläufe erfolgreich waren als in der Verhaltensmessung ohne Injektion ( $p = 0,033$ ).

Es gab jedoch sowohl eine signifikante Interaktion zwischen der geforderten Wartezeit und dem Motivationslevel als auch zwischen der geforderten Wartezeit und der Verhaltensbedingung (Abbildung 29, Abbildung 30). Die Interaktion zwischen der geforderten Wartezeit und den Bedingungen war auch nach Korrektur der Freiheitsgrade noch signifikant (Mauchly-Test ( $p = 0,041$ ); Greenhouse-Geisser Korrektur ( $\epsilon = 0,41$ ):  $F(2, 45, 22,06) = 55,89, p = 0,032$ ). Auch für die Interaktion zwischen der geforderten Wartezeit und dem Motivationslevel mussten die Freiheitsgrade korrigiert werden (Mauchly-Test sig. ( $p = 0,009$ ); Greenhouse-Geisser:  $\epsilon = 0,592 F(2, 18) = 27,73, p < 0,001$ ).



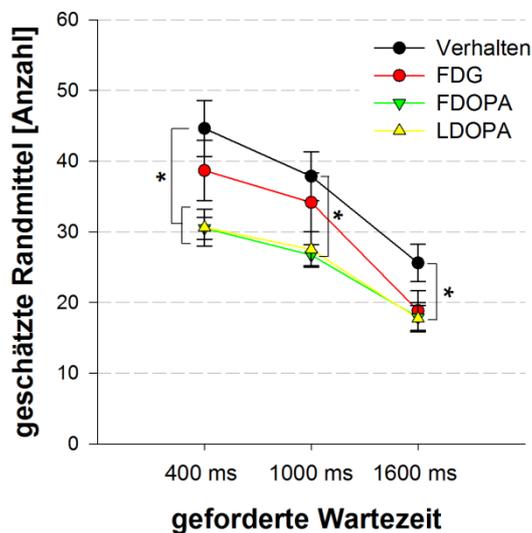
**Abbildung 28: Anzahl erfolgreicher Durchläufe in Abhängigkeit von der geforderten Wartezeit, dem Motivationslevel und der Versuchsbedingung.** Die Anzahl erfolgreicher Durchläufe war nach Vorfütterung (reduziertes Motivationslevel) signifikant niedriger als bei hoher Motivation (o:  $p < 0,001$ ) und nahm mit zunehmender Wartezeit ab (#: 400 ms vs. 1000 ms und 1600 ms:  $p < 0,001$ ; x: 1000 ms vs. 1600 ms:  $p < 0,001$ ). Außerdem war die Anzahl erfolgreicher Durchläufe, abhängig von der geforderten Wartezeit, in der Verhaltensmessung höher als in der FDOPA Messung (\*: 400 ms:  $p = 0,048$ ; ~: 1000 ms:  $p = 0,048$ ) bzw. LDOPA Messung (\*: 400 ms:  $p = 0,024$ ; ': 1600 ms:  $p = 0,042$ ).

Abbildung 29 zeigt den Graphen für den Interaktionseffekt zwischen der Länge der geforderten Wartezeit und dem Motivationslevel: Die Posthoc-Analyse ergab, dass sich sowohl bei hoher als auch bei reduzierter Motivation alle geforderten Wartezeiten voneinander unterschieden (Abbildung 29 b, hohes Motivationslevel: 400 vs. 1000 ms:  $p = 0,004$ ; 400/1000 ms vs. 1600 ms:  $p < 0,001$ ; reduziertes Motivationslevel: 400 vs. 1000 ms:  $p = 0,049$ ; 400 vs. 1600 ms:  $p = 0,002$ ; 1000 vs. 1600 ms:  $p = 0,02$ ). Außerdem absolvierten die Tiere unter hohem Motivationslevel mehr erfolgreiche Durchläufe als bei niedrigerem Motivationslevel und zwar unabhängig von der Wartezeit. (Abbildung 29 a, für alle Vergleiche  $p < 0,001$ ). Wie aus dem Graphen jedoch hervorgeht, kam der Interaktionseffekt dadurch zustande, dass der Unterschied zwischen der Durchlaufanzahl für die geforderten Wartezeiten dann besonders groß war, wenn auch die Motivation hoch war. Das heißt, dass die Anzahl an Durchläufen bei hohem Motivationslevel deutlich stärker von der Länge der geforderten Wartezeit abhing, als es für die Messung unter reduziertem Motivationslevel der Fall war.



**Abbildung 29: Interaktionseffekt zwischen dem Motivationslevel und der Länge der geforderten Wartezeit.** Die Auflösung des Interaktionseffekts zwischen dem Motivationslevel und der geforderten Wartezeit ergab signifikante Unterschiede für alle Vergleiche: Nach Vorfütterung war die Anzahl erfolgreicher Durchläufe für alle geforderten Wartezeiten niedriger als bei hohem Motivationslevel. Wie aus Abbildung a und b hervorgeht, kam der Interaktionseffekt jedoch vermutlich dadurch zustande, dass die Unterschiede zwischen den geforderten Wartezeiten bei hohem Motivationslevel größer waren als nach Vorfütterung (reduziertes Motivationslevel).

Die Auflösung des Interaktionseffekts (Abbildung 30) zwischen den Versuchsbedingungen und der geforderten Wartezeit zeigte, dass der Unterschied zwischen der Verhaltens- und LDOPA Messung von der geforderten Wartezeit abhing: Für eine geforderte Wartezeit von 400 ms und 1600 ms gab es einen signifikanten Unterschied zwischen beiden Bedingung (400 ms:  $p = 0,024$ ; 1600 ms:  $0,042$ ). Für die mittleren geforderten Wartezeit war der Effekt nur tendenziell zu beobachten ( $p = 0,065$ ). Für die kürzeste (400 ms) und die mittlere (1000 ms) geforderte Wartezeit gab es zudem einen Unterschied zwischen FDOPA und der Verhaltensmessung (beide Vergleiche:  $p = 0,048$ ). Wie deutlich aus Abbildung 30 hervorgeht, nahm die Anzahl erfolgreicher Durchläufe jedoch in allen Versuchsbedingungen mit steigender Wartezeit ab.



**Abbildung 30: Interaktionsgraph für den Vergleich zwischen den Versuchsbedingungen und der geforderten Wartezeit.** Die Anzahl erfolgreicher Durchläufe nahm unabhängig von den Versuchsbedingungen mit zunehmender geforderter Wartezeit ab. Der signifikante Interaktionseffekt kam jedoch dadurch zustande, dass es für die kürzeste und längste Wartezeit einen signifikanten Unterschied zwischen der reinen Verhaltensmessung und LDOPA gab. Für 400 ms und 1000 ms war auch der Unterschied zwischen der Verhaltensmessung und FDOPA signifikant. (\*: für  $p < 0,05$ )

Zusammenfassend veränderte sich die Anzahl erfolgreicher Durchläufe in Abhängigkeit von der geforderten Wartezeit, dem Motivationslevel und der Bedingung, wie folgt: Die Anzahl an Durchläufen sank nach Vorfütterung. Außerdem nahm die Anzahl erfolgreicher Durchläufe mit steigender geforderter Wartezeit ab. Dieser Effekt war für die Messungen mit hohem Motivationslevel jedoch deutlicher als nach Vorfütterung. Außerdem war die Anzahl erfolgreicher Durchläufe in der Verhaltensmessung ohne Injektion, abhängig von der geforderten Wartezeit, höher als in der LDOPA- (für 400 ms und 1600 ms) bzw. FDOPA-Messung (für 400 ms und 1000 ms).

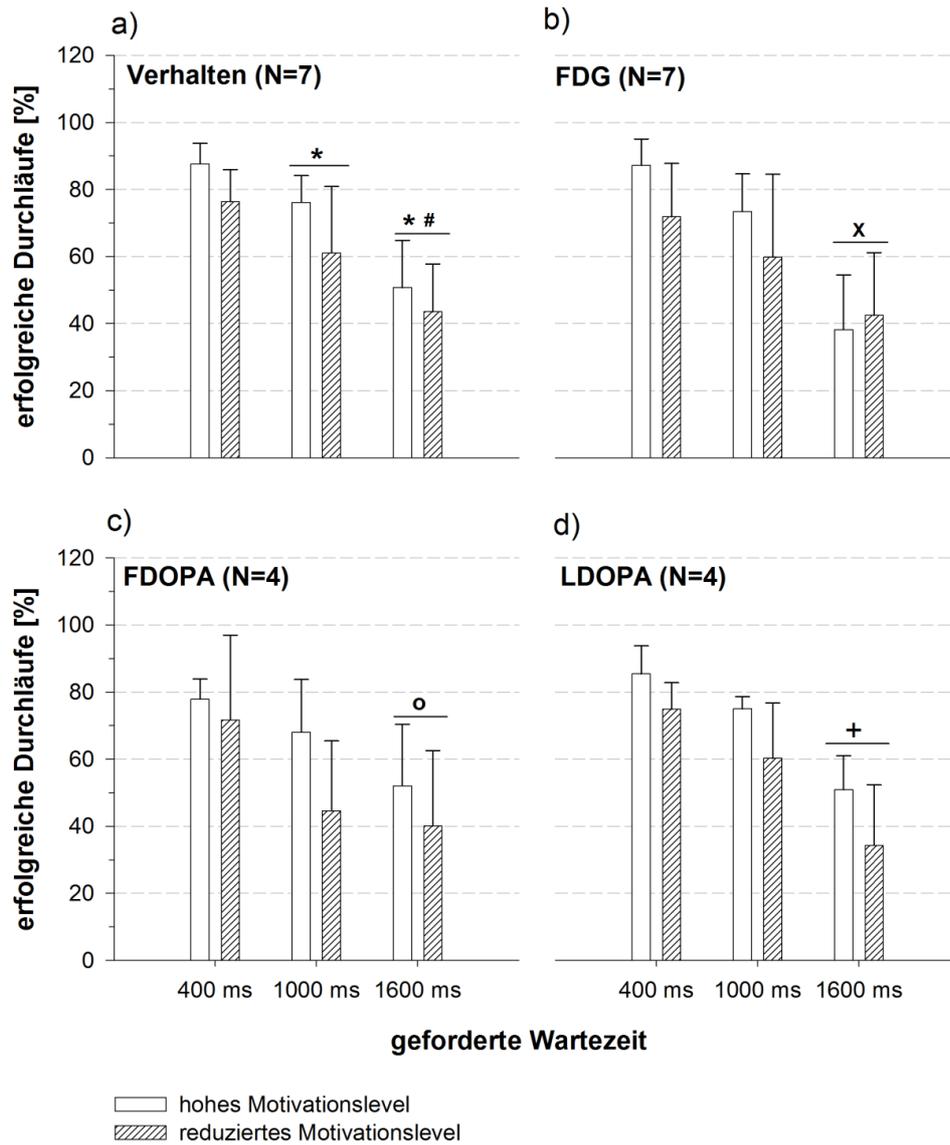
Neben der absoluten Anzahl eingehaltener Durchläufe wurde außerdem der prozentuale Anteil erfolgreicher Durchläufe (Anteil an der Gesamtanzahl erfolgreicher

Durchläufe) in Abhängigkeit vom Motivationslevel, der Versuchsbedingung sowie der geforderten Wartezeit verglichen (Abbildung 31). Nach Vorfütterung war die absolute Anzahl erfolgreicher Durchläufe einiger Messungen jedoch sehr niedrig (vgl. Abbildung 31), so dass eine Berechnung des prozentualen Anteils erfolgreicher Durchläufe nicht sinnvoll war. Daher wurden alle Messungen, in denen die Gesamtanzahl an Durchläufen geringer als 20 war, aus der Analyse ausgeschlossen (vgl. 2.5.6). Um dennoch ermitteln zu können, ob sich eine Reduktion des Motivationslevels auf die Anzahl der Durchläufe auswirkte, wurden die Bedingungen statistisch getrennt ausgewertet (zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholung mit Korrektur für multiples Testen, vgl. 2.10.1). Zusätzlich wurden die verschiedenen Versuchsbedingungen bei hoher Motivation verglichen (Abbildung 32).

Die Vergleiche aller Versuchsbedingungen (Verhalten, FDG, FDOPA, LDOPA) ergaben signifikante Haupteffekte für den Faktor geforderte Wartezeit (siehe unten). Die Vorfütterung hatte hingegen in keinem Fall einen signifikanten Effekt auf den prozentualen Anteil erfolgreicher Durchläufe.

Für den statistischen Vergleich der Verhaltensmessungen (Abbildung 31 a) war die Sphärizitätsannahme für den Faktor geforderte Wartezeit verletzt (Mauchly-Test ( $p = 0,006$ )), so dass die Freiheitsgrade Greenhouse-Geisser korrigiert werden mussten ( $\epsilon = 0,535$ ;  $F(1,07, 6,42) = 60,98$ ,  $p = 0,004$ ). Der Posthoc-Test Sidak zeigte, dass der prozentuale Anteil erfolgreicher Durchläufe unabhängig vom Motivationslevel mit zunehmender geforderter Wartezeit abnahm (400 vs. 1000 ms:  $p < 0,001$ , 400 vs. 1600 ms:  $p = 0,004$ ; 1000 vs. 1600 ms:  $p = 0,012$ ).

Für die FDG-Messungen ergab die Auflösung des Haupteffekts für den Faktor geforderte Wartezeit ( $F(2, 12) = 22,61$ ,  $p > 0,001$ ) nach Bonferroni-Korrektur nur noch einen signifikanten Unterschied zwischen der kürzesten und der längsten geforderten Wartezeit (Abbildung 31 b: 400 vs. 1600 ms:  $p = 0,004$ ).



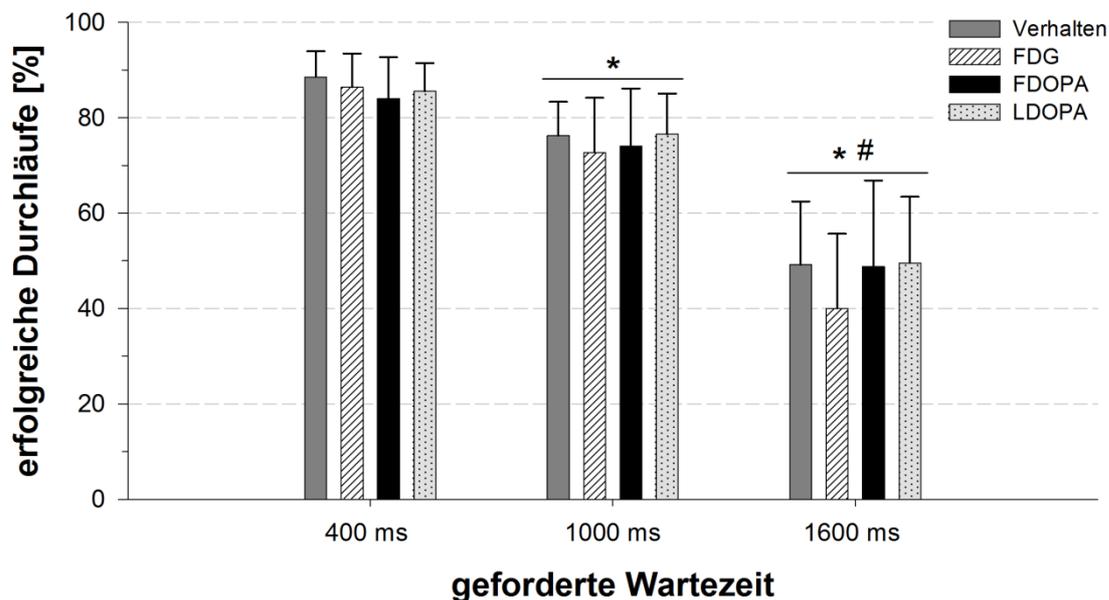
**Abbildung 31: Prozentualer Anteil erfolgreicher Durchläufe für die verschiedenen Bedingungen in Abhängigkeit vom Motivationslevel und der geforderten Wartezeit.**

Die Bedingungen wurden statistisch getrennt ausgewertet, da die Gruppengröße unterschiedlich groß war (vgl. Text). Alle p-Werte wurden Bonferroni korrigiert. Der statistische Vergleich aller Versuchsbedingungen zeigte, dass der Anteil erfolgreicher Durchläufe unabhängig vom Motivationslevel bei der längsten Nosepokezeit (1600 ms) geringer war als bei der kürzesten (400 ms). Bei der Verhaltensmessung war der Anteil erfolgreicher Durchläufe schon bei der mittleren geforderten Nosepokezeit niedriger als bei der kürzesten und der Anteil unterschied sich auch zwischen der mittleren und der längsten geforderten Wartezeit (\*: 400 vs. 1000/1600 ms:  $p < 0,001$ ; #: 1000 vs. 1600 ms:  $p < 0,001$ ). Der Vergleich zwischen den FDG-, FDOPA sowie den LDOPA-Messungen zeigte, dass sich der prozentuale Anteil der erfolgreichen Durchläufe nur zwischen einer geforderten Wartezeit von 400 ms und 1600 ms unterschied (x: 400 ms vs. 1600 ms:  $p = 0,004$ ; o:  $p = 0,02$ ; +:  $p = 0,008$ ). Der Anteil erfolgreicher Durchläufe wurde nicht signifikant von der Vorfütterung beeinflusst. Lediglich der Vergleich der LDOPA-Messung zeigte eine tendenzielle Abnahme nach Vorfütterung (Alle p-Werte wurden Bonferroni korrigiert).

Auch in der FDOPA-Bedingung war der Haupteffekt für den Faktor geforderte Wartezeit (Abbildung 31 c:  $F(2, 6) = 11,98$ ,  $p = 0,032$ ) durch einen geringeren Anteil erfolgreicher Durchläufe bei der längsten geforderten Wartezeit bedingt (400 vs. 1600 ms:  $p = 0,02$ ).

Der prozentuale Anteil erfolgreicher Durchläufe war in den LDOPA-Bedingungen ebenfalls abhängig von der Länge der geforderten Wartezeit (Abbildung 31 d;  $F(2, 6) = 59,23$ ,  $p < 0,001$ ). Außerdem nahm der Anteil erfolgreicher Durchläufe nach Vorfütterung tendenziell ab ( $F(1, 3) = 20,38$ ,  $p = 0,08$ ). Die Posthoc-Analyse zeigte für den Faktor geforderte Wartezeit auch hier, dass der Anteil erfolgreicher Durchläufe bei der längsten geforderten Wartezeit geringer war, als bei der Kürzesten ( $p = 0,008$ ).

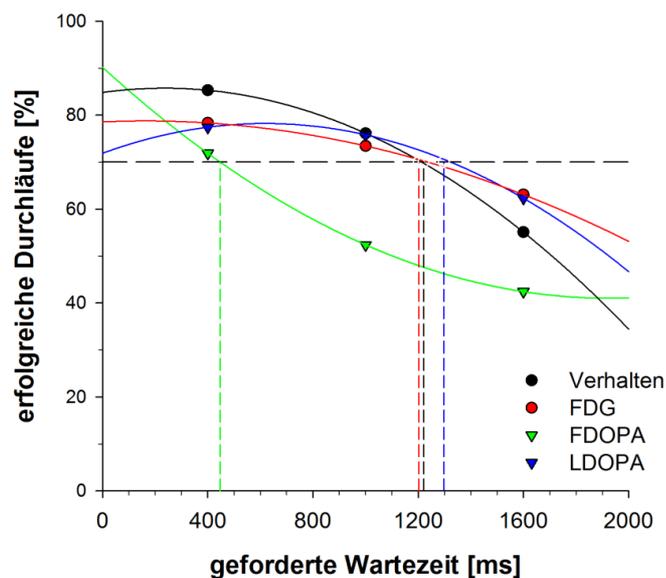
Der Anteil erfolgreicher Durchläufe wurde für die Messungen im hohen Motivationslevel außerdem in Abhängigkeit von den Verhaltensbedingungen und der geforderten Wartezeit verglichen (Abbildung 32).



**Abbildung 32: Prozentualer Anteil erfolgreicher Durchläufe für die Messungen bei hohem Motivationslevel in Abhängigkeit von der geforderten Wartezeit und der Versuchsbedingung.** Bei der kürzesten Nosepokezeit war der Anteil erfolgreicher Durchläufe am höchsten. Mit steigender geforderter Nosepokezeit nahm der Anteil signifikant ab (\*: 400 vs. 1000:  $p = 0,003$ , #: 400 vs. 1600:  $p < 0,001$ , \*: 1000 vs. 1600:  $p < 0,001$ ).

Die statistische Analyse ergab, dass nur die Länge der geforderten Wartezeit einen Effekt auf den Anteil erfolgreicher Durchläufe hatte. Da die Sphärizitätsannahme für diesen Faktor verletzt war (Mauchly-Test ( $p = 0,017$ )), wurden die Freiheitsgrade Greenhouse-Geisser korrigiert ( $\epsilon = 0,61$ ;  $F(1,22, 10,99) = 62,43$ ,  $p < 0,001$ ). Auch hier zeigte sich, dass der Anteil erfolgreicher Durchläufe mit zunehmender geforderter Wartezeit abnahm (400 vs. 1000:  $p = 0,003$ , 400 vs. 1600/1000 vs. 1600:  $p < 0,001$ ). Der Anteil erfolgreicher Durchläufe unterschied sich hingegen nicht zwischen den Versuchsbedingungen ( $F(3, 27) = 1,24$ ,  $p = 0,316$ ).

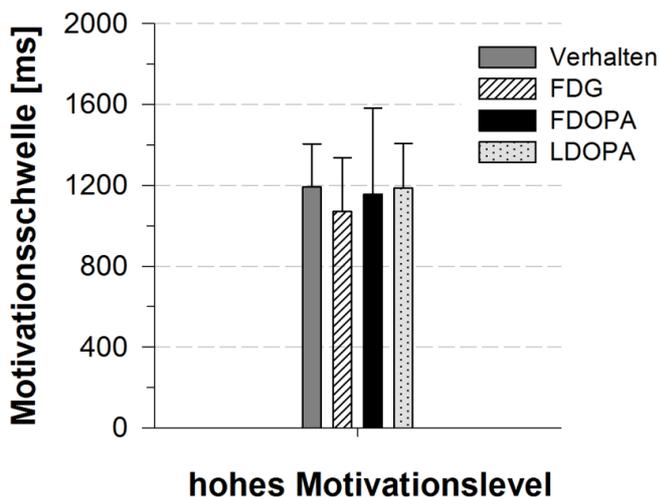
Für alle Messungen mit hohem Motivationslevel wurde außerdem eine individuelle Motivationsschwelle bestimmt (vgl. 2.5.6). Abbildung 33 zeigt ein Beispiel für die Bestimmung dieser individuellen Motivationsschwelle: mittels quadratischer Regression wurde die Zeit bestimmt, bei der noch 70 % der Durchläufe erfolgreich waren.



**Abbildung 33: Beispiel für die Bestimmung der individuellen Motivationsschwelle für die Messungen mit hohem Motivationslevel.** Für jedes Tier wurde mittels quadratischer Regression die Zeit bestimmt, bei der noch 70 % der Durchläufe erfolgreich waren. Die graue Linie gibt diese 70 % Schwelle an. Die Motivationsschwelle für die verschiedenen Versuchsbedingungen ist farbkodiert dargestellt. In diesem Beispiel war die Motivationsschwelle bei der FDOPA-Messung deutlich geringer als bei den anderen Messungen (Verhaltensmessung (schwarz): 1221 ms, FDG (rot): 1202 ms, FDOPA (grün): 447 ms, LDOPA (blau): 1297 ms).

Im Gegensatz zur Hörschwelle ist es bei der Motivationsschwelle so, dass eine höhere Motivationsschwelle darauf hindeutet, dass das Tier an der Nosepoke-Einheit erfolgreicher war, als es bei einer niedrigeren Motivationsschwelle der Fall wäre. In dem dargestellten Beispiel ist die Motivationsschwelle bei der FDOPA-Messung deutlich niedriger als bei den anderen Messungen, entsprechend war der Erfolg des Tiers bei dieser Messung am niedrigsten (Verhaltensmessung: 1221 ms, FDG: 1202 ms, FDOPA: 447 ms, LDOPA: 1297 ms).

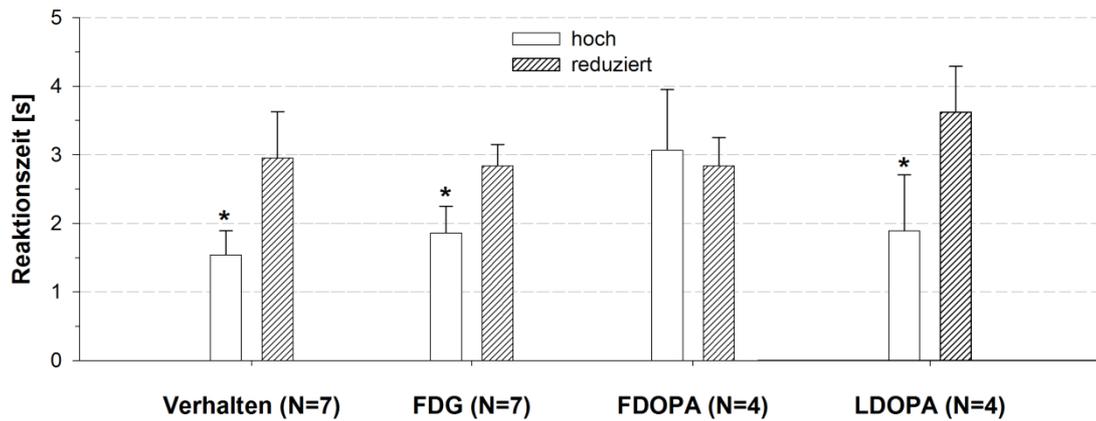
In Abbildung 34 ist die mittlere Motivationsschwelle der Gesamtgruppe in Abhängigkeit von der gemessenen Bedingung dargestellt. Die mittlere Motivationsschwelle lag zwischen 1071 ( $\pm 264$ ) ms und 1192 ( $\pm 213$ ) ms und unterschied sich zwischen den Bedingungen statistisch nicht ( $F(2, 27) = 0,507, p = 0,681$ ).



**Abbildung 34: Mittlere Motivationsschwelle (in ms) in Abhängigkeit von der Versuchsbedingung (nur Messungen mit hohem Motivationslevel) bei der noch 70 % der Durchläufe erfolgreich waren.** Die mittlere Motivationsschwelle unterschied sich nicht zwischen den Bedingungen.

### 4.2.2 Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit

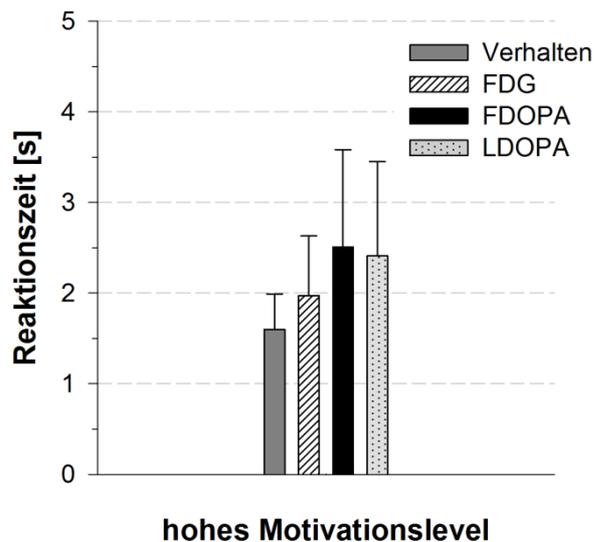
Auch für die Bestimmung der mittleren Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit mussten Versuchstiere ausgeschlossen werden, bei denen die Gesamtanzahl der Durchläufe zu gering war (Abbildung 35; vgl. 2.5.6). Die Bedingungen wurden daher zunächst statistisch getrennt in einer einfaktoriellen ANOVA (Faktor Motivationslevel) verglichen und die p-Werte anschließend Bonferroni korrigiert (vgl. 2.10.1). Für die Messungen mit hohem Motivationslevel wurden die Bedingungen dann noch mal ohne Berücksichtigung der Messung im reduzierten Motivationslevel statistisch verglichen (Abbildung 36).



**Abbildung 35: Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit in Abhängigkeit vom Motivationslevel für die verschiedenen Versuchsbedingungen (Verhalten, FDG, FDOPA, LDOPA).** Nach Vorfütterung reagierten die Versuchstiere in der Verhaltens- ( $p = 0,004$ ) FDG- ( $p = 0,008$ ) und in der LDOPA-Bedingung ( $p = 0,048$ ) signifikant langsamer an der Nosepoke-Einheit als in der Messung mit hohem Motivationslevel. (\*:  $p < 0,05$ , Bonferroni korrigiert).

Die Vorfütterung hatte einen Effekt auf die Länge der Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit: Im Mittel waren die Reaktionszeiten in der Verhaltensbedingung ( $t = -5,97$ ,  $p = 0,004$ ); im FDG-PET ( $t = -5,01$ ,  $p = 0,008$ ) und in der LDOPA-Bedingung ( $t = -5,53$ ,  $p = 0,048$ ) nach Vorfütterung länger (Abbildung 35). Die Reaktionszeiten der beiden FDOPA-Messungen waren hingegen identisch ( $t = 0,371$ ,  $p = 0,294$ ).

Abbildung 36 zeigt den Vergleich der verschiedenen Bedingungen (einfaktorielle ANOVA (Faktor: Bedingung)) gemessen bei hohem Motivationslevel (Gesamtgruppe, N = 10) für die Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit. Es gab zwar einen signifikanten Haupteffekt ( $F(3, 27) = 4,45$ ,  $p = 0,011$ ), die Posthoc-Analyse ergab aber, dass die Reaktionszeiten nach FDOPA- ( $p = 0,052$ ) und LDOPA-Injektion ( $p = 0,076$ ) nur tendenziell länger waren als in der Verhaltensmessung.

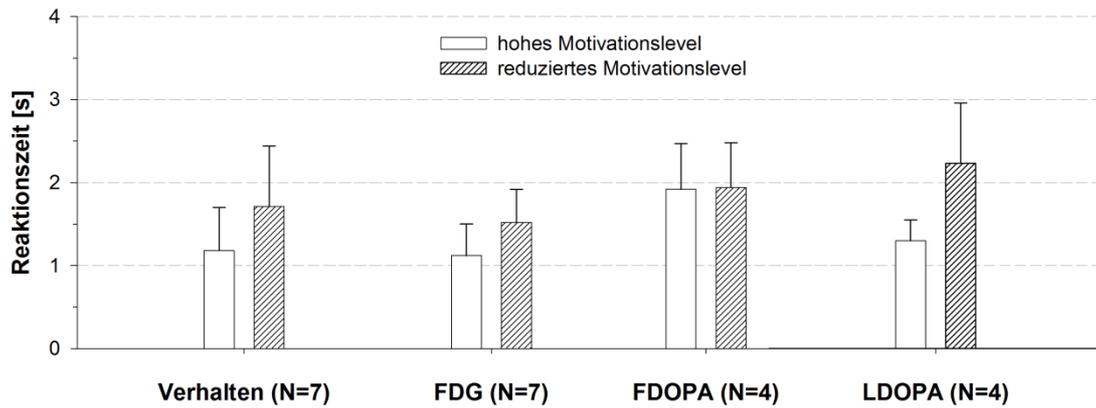


**Abbildung 36: Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit bei hoher Motivation in Abhängigkeit von der Versuchsbedingung (Verhalten, FDG, FDOPA, LDOPA).** Die Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit war nach FDOPA- ( $p = 0,052$ ) und LDOPA-Injektion ( $p = 0,076$ ) tendenziell länger als in der Verhaltensmessung.

### 4.2.3 Diskriminierungsaufgabe

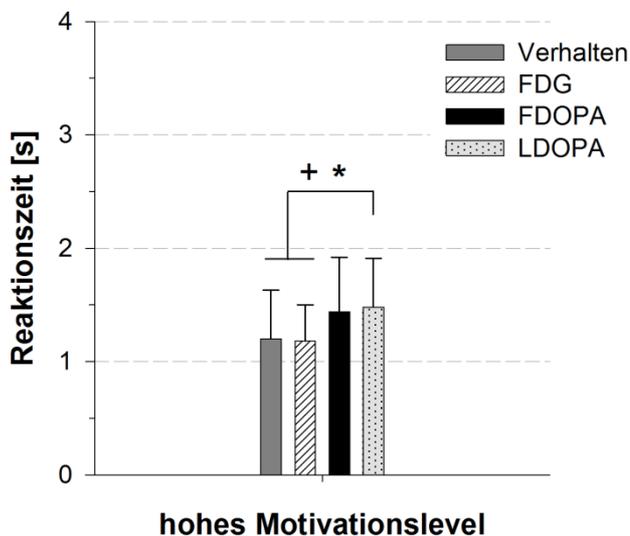
Die visuelle Diskriminierungsaufgabe folgte nur erfolgreichen Durchläufen (vgl. Material und Methoden 2.5.3). Dabei mussten die Tiere zwei visuelle Stimuli diskriminieren, die pseudorandomisiert seitendifferent präsentiert wurden.

Die Reaktionszeiten in der Diskriminierungsaufgabe in Abhängigkeit vom Motivationslevel wurden wieder für die Bedingungen separat statistisch verglichen und die p-Werte Bonferroni korrigiert (vgl. 2.10.1; Abbildung 37). Die Vorfütterung hatte unabhängig von der Versuchsbedingung keinen signifikanten Effekt auf die Reaktionszeiten am Futtertrog, lediglich nach FDG-Injektion waren die Reaktionszeiten nach Vorfütterung tendenziell höher. (Verhalten:  $t = -2,35$ ,  $p = 0,228$ ; FDG:  $t = -3,04$ ,  $p = 0,092$ ; FDOPA:  $t = -0,77$ ,  $p = 0,946$ ; LDOPA:  $t = -3,24$ ,  $p = 0,192$ ).



**Abbildung 37: Reaktionszeiten am Futtertrog (Diskriminierungsaufgabe) in Abhängigkeit vom Motivationslevel.** Es gab für keine der Versuchsbedingungen einen signifikanten Effekt zwischen dem hohen und reduzierten Motivationslevel. Lediglich bei den FDG-Messungen stiegen die Reaktionszeiten nach Vorfütterung in der Tendenz an ( $p = 0,092$ ).

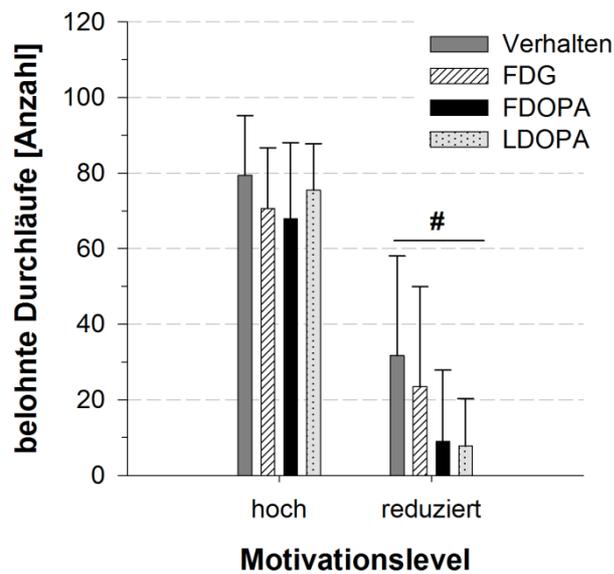
Abbildung 38 zeigt den Vergleich der Reaktionszeiten am Futtertrog zwischen den Bedingungen (nur für hohes Motivationslevel). Es gab einen signifikanten Haupteffekt der Versuchsbedingungen ( $F(3, 27) = 8,03, p = 0,001$ ): Die Reaktionszeiten in der LDOPA-Bedingung waren im Vergleich zur Verhaltens- ( $p = 0,014$ ) und FDG-Messung ( $p = 0,006$ ) höher.



**Abbildung 38: Reaktionszeiten am Futtertrog in der Diskriminierungsaufgabe in Abhängigkeit von den Versuchsbedingungen (nur für hohes Motivationslevel).** In der LDOPA-Bedingung antworteten die Versuchstiere signifikant langsamer als in der Verhaltens- (+:  $p = 0,014$ ) und FDG-Bedingung (\*:  $p = 0,006$ ).

Außerdem wurde die Anzahl belohnter Durchläufe zwischen den Messungen verglichen (Abbildung 39). Nach Vorfütterung erhielten die Versuchstiere signifikant weniger Belohnung als bei hoher Motivation ( $F(1, 9) = 167,31, p < 0,001$ ). Da kein Interaktionseffekt vorlag ( $F(3, 27) = 1,39, p = 0,267$ ), scheint dieser Effekt unab-

hängig von der Versuchsbedingung zu sein. Allerdings war die Anzahl belohnter Durchläufe von der Bedingung abhängig ( $F(3, 27) = 4,09, p = 0,016$ ). Die Posthoc-Analyse zeigte jedoch keine signifikanten Effekte. Nur die LDOPA-Bedingung unterschied sich im Trend von der Verhaltensbedingung ( $p = 0,079$ ). Wie aus Abbildung 9 hervorgeht, scheint dies vor allem bei geringerer Motivation eine Rolle zu spielen, da die mittlere Anzahl belohnter Durchläufe nach Vorfütterung in der FDOPA- und LDOPA-Bedingung etwas geringer war als in der Verhaltens- und der FDG-Bedingung, wobei die Standardabweichungen hoch waren.



**Abbildung 39: Anzahl belohnter Durchläufe in Abhängigkeit vom Motivationslevel und der Versuchsbedingung.** Nach Vorfütterung war die Anzahl belohnter Durchläufe unabhängig von der Versuchsbedingung signifikant niedriger bei hohem Motivationslevel (#:  $p < 0,001$ ).

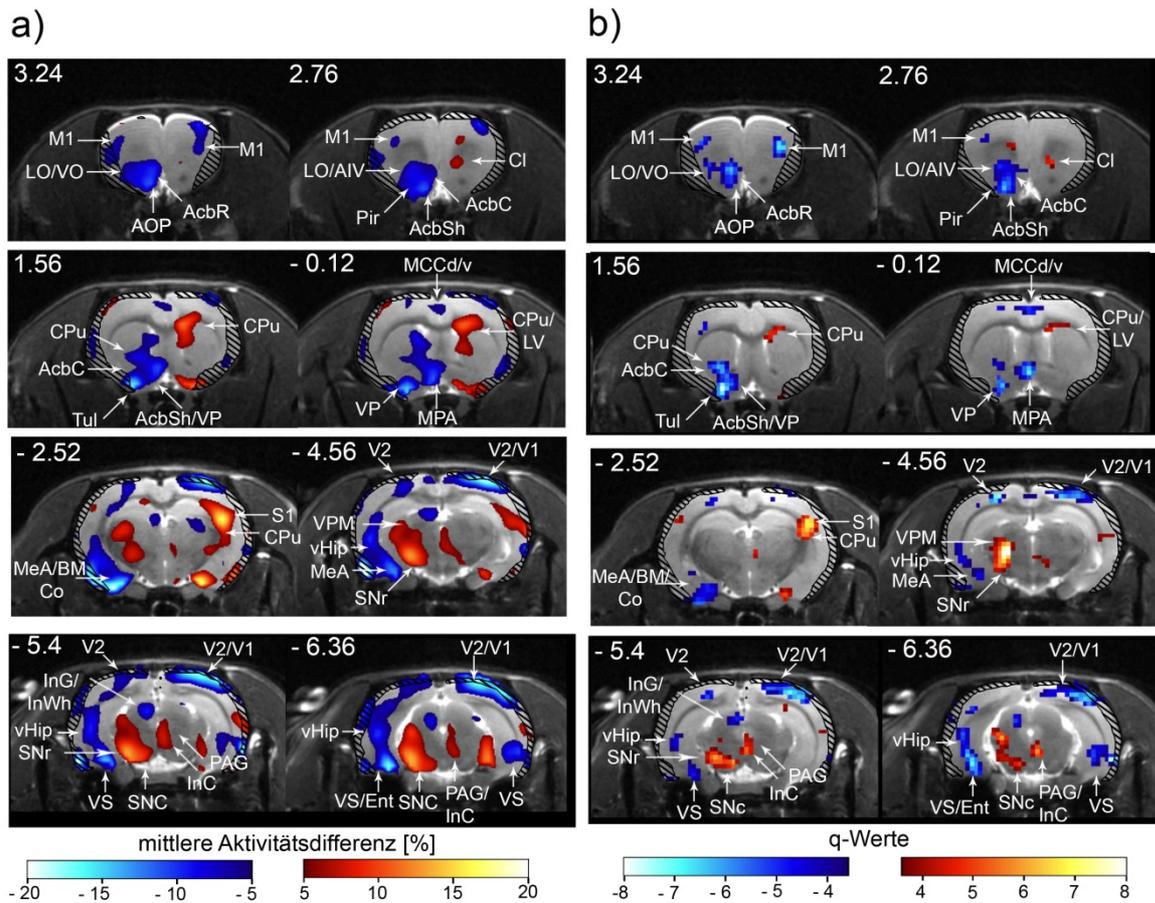
### **4.3 Präoperative Ergebnisse der Verhaltens-Positronen-Tomographie**

Jedes Tier (N = 10, vgl. 2.9.3) durchlief sowohl im FDG- als auch im FDOPA-PET neben der Testbedingung (hohes Motivationslevel), zwei verschiedene Kontrollbedingungen (reduziertes Motivationslevel und Durchlaufkontrolle). Statistisch wurde die FDG- und FDOPA-Aufnahme in den verschiedenen Bedingungen mit einer einfaktoriellen ANOVA mit Messwiederholung (Faktor: PET-Bedingung) und einer anschließenden Posthoc-Analyse (Tukey HSD) verglichen. Die Ergebnisse der statistischen Analyse werden in Form einer q-Wertkarte dargestellt. Der kritische q-Wert (signifikante Aktivitätsunterschiede) betrug für alle Vergleiche 3,61 (df = 18). Die metabolischen Aktivitätsunterschiede (ab 5 %) werden außerdem als prozentuale Änderung (Mittelpunktberechnung, vgl. 2.6.4) dargestellt. Signifikante Voxel wurden nur berücksichtigt, wenn der mittlere Aktivitätsunterschied größer als 5 % war und mindestens drei nebeneinanderliegende Voxel signifikant waren.

Der präoperative Vergleich der FDG- und FDOPA-Bedingungen ermöglicht eine Analyse im Hinblick auf Belohnungs- und Motivationsverhalten im unbehandelten Versuchstier. Unterschiede, die auf das Fressen per se oder primäre Sinnesverarbeitung (z. B. Geruch, auditorische und visuelle Verarbeitung) zurückzuführen sind, werden zwar erwähnt, sind aber hinsichtlich der Fragestellung der vorliegenden Arbeit nur zweitrangig. Im Folgenden werden zunächst die Ergebnisse des FDG-Verhaltens-PET erläutert.

#### **4.3.1 FDG-Verhaltens-PET**

Die mittlere Aktivitätsdifferenz zwischen den verschiedenen Bedingungen (hohes Motivationslevel, reduziertes Motivationslevel, Durchlaufkontrolle) betrug für die meisten Voxel höchstens 12 %, für wenige Voxel wurden zudem Differenzwerte von bis zu 20 % beobachtet (vgl. Abbildung 40 -Abbildung 42). Abbildung 40 a zeigt die mittlere prozentuale Aktivitätsdifferenz zwischen der Verhaltens-PET-Messung bei hoher und reduzierter Motivation. Die entsprechende q-Wertkarte ist in Abbildung 40 b dargestellt.



**Abbildung 40: Metabolische Aktivitätsunterschiede zwischen den Verhaltens-PET Messungen bei hohem und reduziertem Motivationslevel. a)** Angegeben sind mittlere Aktivitätsdifferenzen von mindestens 5 %. In Rot dargestellt: Höhere metabolische Aktivität bei hoher Motivation. In Blau dargestellt: niedrigere metabolische Aktivität bei hoher Motivation **b)** Signifikante Aktivitätsdifferenzen auf Voxel Ebene ermittelt durch eine einfaktorische ANOVA. Für  $p \leq 0,05$  zeigen q-Werte größer 3,61 (für  $df = 18$ ) an, dass die metabolische Aktivität bei hoher Motivation signifikant höher war, als nach Vorfütterung. Q-Werte kleiner -3,61 geben dagegen an, dass die Aktivität signifikant niedriger war, wenn das Motivationslevel hoch war. Farbkodierung wie unter a) angegeben. Aus beiden Abbildungen (**a und b**) geht hervor, dass die metabolische Aktivität bei hoher Motivation in folgenden belohnungsassoziierten Arealen geringer war: im lateralen und ventralen orbitofrontalen Kortex (OFC), im rostralen sowie in der Kern- und Schalenregion des Ncl. Accumbens, im ventralen Pallidum, im MCC und im ventralen Subiculum. Ein vergleichbares Aktivitätsmuster bei hohem Motivationslevel wurde auch im akzessorischen olfaktorischen System (anterioren olfaktorischer Nucleus, piriformer Kortex, olfaktorisches Tuberkulum) sowie im ventralen insulären Kortex, im Ncl. medialis amygdalae und im ventralen Hippokampus beobachtet. Die Glukoseutilisation war dagegen in der linken Substantia nigra pars compacta höher, wenn die Motivation hoch war. Weitere Aktivitätsunterschiede vgl. Text.

(Alle Strukturen unterhalb der Schraffur wurden auf Grund einstrahlender Aktivität der Kaumuskulatur aus der Auswertung ausgeschlossen. Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an. **Abb.:** AcbC: Kernregion des Ncl. Accumbens, AcbR: rostraler Ncl. Accumbens, AcbSh: Schalenregion des Ncl. Accumbens, AIV: ventraler insulärer Kortex (agranulär), AOP: anteriorer olfaktorischer Nucleus, BM: Ncl. basomedialis amygdalae, Co: Ncl. corticalis (Amygdala), Cl: Claustrum, CPu: Caudate-Putamen, Ent: entorhinaler Kortex, InC: Ncl. interstitialis, InG: Colliculus superior (graue Substanz), InWh: Colliculus superior (weiße Substanz), LO: lateraler orbitofrontaler Kortex, LV: lateraler Ventrikel, M1: primärer motorischer Kortex, MCCd: dorsaler mittlerer zingulärer Kortex, MCCv: ventraler mittlerer zingulärer Kortex, MeA: Ncl. medialis amygdalae, MPA: Area praeoptica medialis, PAG: periaquäduktales Grau, Pir: piriformer

Kortex, S1: somatosensorischer Kortex, SNC: Substantia nigra pars compacta, SNr: Substantia nigra pars reticulata, vHip: ventraler Hippokampus, Tul: olfaktorisches Tuberkulum, VO: ventraler orbitofrontaler Kortex, VP: ventrales Pallidum, VPM: Ncl. ventralis posteromedialis thalami, V1: primärer visueller Kortex, V2: sekundärer visueller Kortex, VS: ventrales Subiculum).

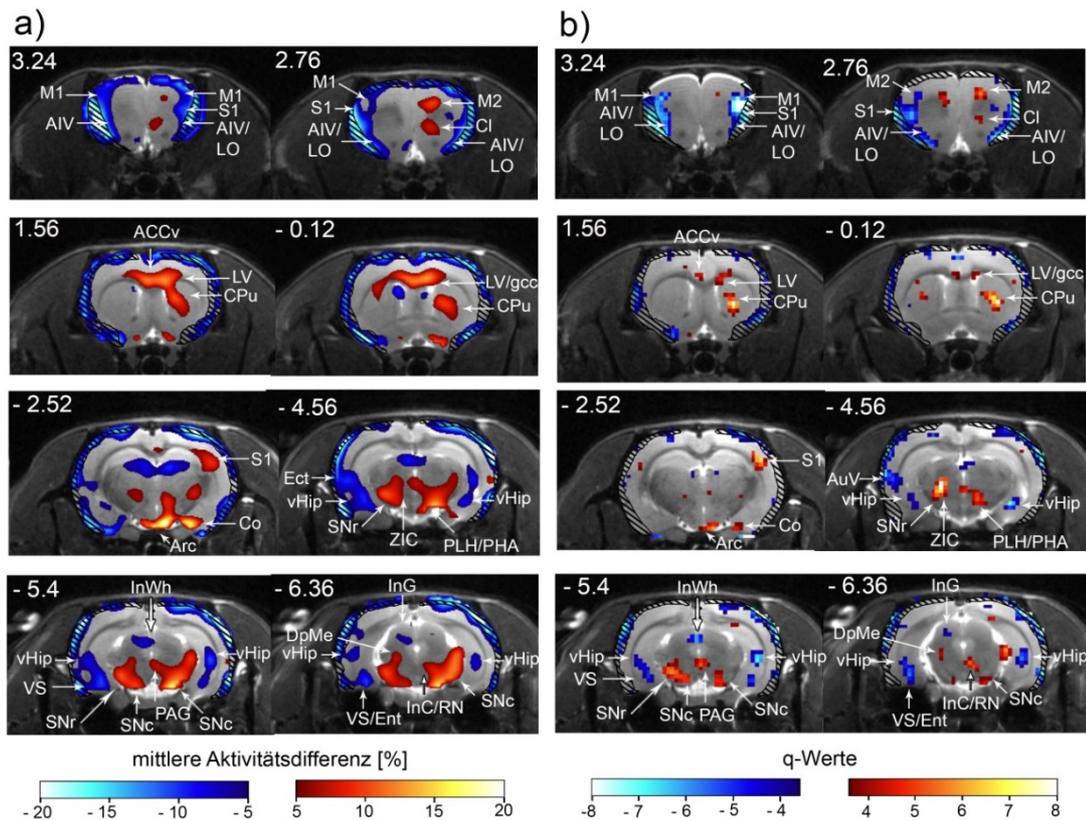
Bei hoher Motivation war die metabolische Aktivität in einigen Arealen des Belohnungssystem signifikant niedriger (auf Voxel Ebene signifikant, Abbildung 1 b) als nach Vorfütterung, wobei die Unterschiede vor allem in der linken Hemisphäre vorzufinden waren: linker lateraler und ventraler orbitofrontaler Kortex (OFC), linker Ncl. Accumbens (rostraler Ncl. Accumbens, Kern- und Schalenregion), linkes ventrales Pallidum, rechter und linker MCC (nur wenige Voxel signifikant) und linkes ventrales Subiculum. Aktivitätserniedrigungen gegenüber der Messung bei reduziertem Motivationslevel traten außerdem in folgenden linkshemisphärischen Strukturen des akzessorischen olfaktorischen Systems auf: im anterioren olfaktorischen Nucleus, im piriformen Kortex und im olfaktorischen Tuberkulum. Und dies traf auch linkshemisphärisch auf Voxel im ventralen insulären Kortex, im primären motorischen Kortex, in der Amygdala (Ncl. medialis amygdalae, Ncl. basomediales amygdalae, Ncl. corticalis), im ventralen Hippokampus und im entorhinalen Kortex zu.

In der linken Substantia nigra pars compacta und im rechten somatosensorischen Kortex (nur wenige Voxel) war das FDG-Signal dagegen signifikant höher, wenn die Motivation hoch war. Im Caudate-Putamen gab es auf Voxel Ebene auch signifikante Unterschiede zwischen den Bedingungen, die auf eine höhere Aktivität in der Messung bei hohem Motivationslevel zurückzuführen waren (Schnitt: - 2,52 mm). Diese Aktivitätsunterschiede könnten jedoch auch durch einen Unterschied im lateralen Ventrikel zurückzuführen sein.

Weitere Unterschiede waren in Arealen der primären Sinnesverarbeitung zu beobachten: Im Colliculus superior (weiße und graue Substanz), im rechten und linken sekundären visuellen Kortex sowie im rechten primären visuellen Kortex war die Glukoseutilisation bei hoher Motivation erniedrigt. Zudem war die Glukoseutilisation in folgenden Arealen, die nicht unmittelbar auf Belohnungs- und Motivationsverhalten zurückzuführen sind, signifikant höher wenn die Tiere bei hohem Motivationslevel getestet wurden: im rechten Claustrum, in der linken Substantia nigra pars reticulata, im linken Ncl. ventralis posteromediales, im rechten periaquäduktalen Grau, im rechten Ncl. interstitialis und im rechten Ncl. ruber.

Abbildung 41 zeigt den Vergleich zwischen der Durchlaufkontrolle (hohes Motivationslevel, aber gleiche Anzahl an Durchläufen wie in der Messung bei reduziertem Motivationslevel) und der Messung bei reduziertem Motivationslevel als Aktivitätsdifferenzbild (a) und als q-Wertkarte (b).

Die FDG-Akkumulation war in der Durchlaufkontrolle in beiden Hemisphären im lateralen OFC, im ventralen Hippokampus sowie im ventralen insulären Kortex signifikant niedriger als nach Vorfütterung (reduziertes Motivationslevel). Linkshemisphärisch traf dies auch auf das ventrale Subiculum zu. In Arealen des akzessorischen olfaktorischen Systems und zwar dem entorhinalen Kortex sowie der Amygdala (Ncl. corticalis anterior) war die FDG-Aktivität ebenfalls in der Durchlaufkontrolle niedriger als bei reduzierter Motivation. In anterior gelegenen Voxeln des linken somatosensorischen Kortex war die FDG Aktivität in der Durchlaufkontrolle niedriger als nach Vorfütterung, in weiter posterior gelegenen Teilen des rechten somatosensorischen Kortex war das Gegenteil der Fall (Schnitt -2,52 mm). Außerdem unterschied sich die FDG-Aktivität im Caudate-Putamen und in der Substantia nigra pars compacta zwischen den Bedingungen, wobei die FDG-Aktivität in der Durchlaufkontrolle höher war als bei reduziertem Motivationslevel. Im Caudate-Putamen könnten die signifikanten Unterschiede einiger Voxel jedoch auf eine unterschiedliche Aktivität im lateralen Ventrikel sowie des Fasertrakts (Corpus Callosum) zurückzuführen sein (Schnitt: 1,56 mm, - 0,12). Für wenige Voxel war die FDG-Aktivität auch im linken ventralen ACC in der Durchlaufkontrolle höher als in der Messung bei reduziertem Motivationslevel. Die Aktivität im Ncl. Accumbens unterschied sich zwischen den Bedingungen nicht.



**Abbildung 41: Metabolische Aktivitätsunterschiede zwischen der Verhaltens-PET-Messung der Durchlaufkontrolle (hohes Motivationslevel) und der Messung im reduzierten Motivationslevel.** a) Angegeben sind mittlere Aktivitätsdifferenzen von mindestens 5 %. Höhere metabolische Aktivität in der Durchlaufkontrolle ist in Rot dargestellt, niedrigere metabolische Aktivität in der Durchlaufkontrolle dagegen in Blau b) Signifikante Aktivitätsdifferenzen auf Voxel Ebene ermittelt durch eine 1-faktorielle ANOVA. Für  $p \leq 0,05$  zeigen q-Werte größer 3,61 (für  $df = 18$ ) an, dass die metabolische Aktivität in der Durchlaufkontrolle signifikant höher war, als nach Vorfütterung. q-Werte kleiner -3,61 geben dagegen an, dass die Aktivität in der Durchlaufkontrolle signifikant niedriger war. Farbkodierung wie unter a angegeben. Aus beiden Abbildungen (a und b) geht hervor, dass die FDG-Akkumulation in folgenden motivations- und belohnungsassoziierten Arealen in der Durchlaufkontrolle niedriger als nach Vorfütterung war: im lateralen OFC, im ventralen Hippokampus, im ventralen insulären Kortex sowie im ventralen Subiculum. Im Caudate-Putamen und in der Substantia nigra pars compacta war die FDG-Aktivität dagegen in der Durchlaufkontrolle höher als beim reduzierten Motivationslevel. Die Aktivität im Ncl. accumbens unterschied sich zwischen der Durchlaufkontrolle und der Messung nach Vorfütterung nicht. Weitere Aktivitätsunterschiede vgl. Text.

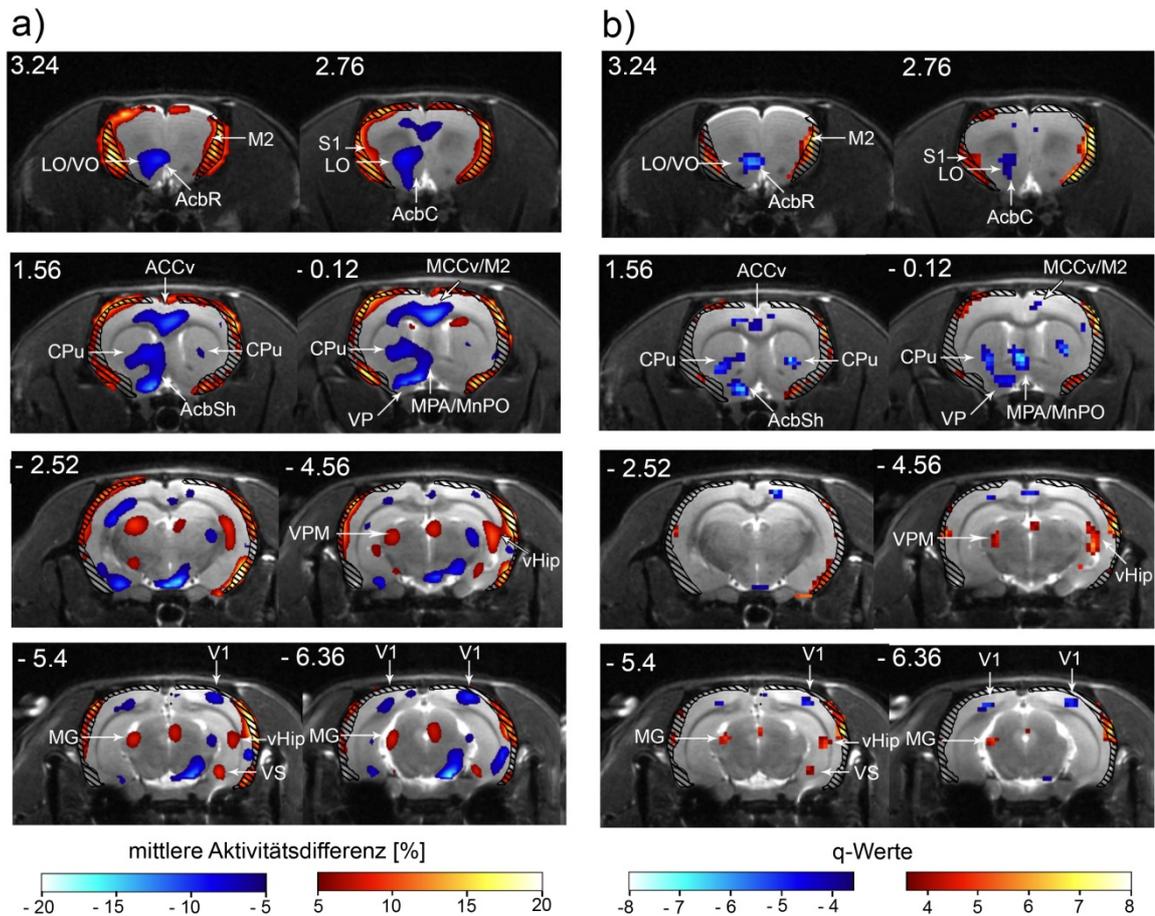
(Alle Strukturen unterhalb der Schraffur wurden auf Grund einstrahlender muskulärer Aktivität aus der Auswertung ausgeschlossen. Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an. **Abk.:** ACCv: ventraler anteriorer zingulärer Kortex, ACo: Ncl. corticalis anterior (Amygdala), AIV: ventraler insulärer Kortex, Arc: Ncl. arcuatus, AuV: ventraler Teil des sekundären auditorischen Kortex, BM: Ncl. basomedialis amygdalae, CPu: Caudate-Putamen, gcc: Genu des Corpus Callosum, DPMe: Ncl. mesencephalicus (tiefe Struktur), Ect: ectorhinaler Kortex, Ent: entorhinaler Kortex, fmi: Forceps frontalis (minor), InC: Ncl. interstitialis, InG: Colliculus superior (graue Substanz), InWh: Colliculus superior (weiße Substanz), LO: lateraler orbitofrontaler Kortex, LV: lateraler Ventrikel, M1: primärer motorischer Kortex, M2: sekundärer motorischer Kortex, MG: Ncl. geniculatus medialis, S1: primärer somatosensorischer Kortex, PAG: periaquäduktales Grau, PHA: posteriorer Hypothalamus, PLH: pedunkulärer Teil des lateralen Hypothalamus, RN: Ncl. ruber, SNc: Substantia nigra pars compacta, SNr: Substantia nigra pars reticulata, vHip: ventraler Hippokampus, VS: ventrales Subiculum, ZIC: caudaler Teil der Zona incerta).

In einigen Regionen des Hypothalamus (Ncl. arcuatus, pedunkulärer Teil des lateralen Hypothalamus, posteriorer Hypothalamus) war die metabolische Aktivität in der Durchlaufkontrolle signifikant höher als nach Vorfütterung. Dies war auch für den rechten sekundär motorischen Kortex, die linke Zona incerta, die linke Substantia nigra para reticulata, das periaquäduktale Grau, den rechten Ncl. interstitialis, Ncl. mesencephalicus und den rechten Ncl. ruber der Fall.

Die FDG-Akkumulation im ventralen sekundären auditorischen Kortex und im Colliculus superior (weiße Substanz und graue Substanz) war dagegen in der Durchlaufkontrolle niedriger als bei reduziertem Motivationslevel.

In Abbildung 42 ist die mittlere Aktivitätsdifferenz (a) sowie die q-Wertkarte (b) für den Vergleich zwischen der Messung bei hohem Motivationslevel und der Durchlaufkontrolle gezeigt. Wie schon für den Vergleich mit der Messung im reduzierten Motivationslevel gezeigt, war die FDG-Akkumulation bei hohem Motivationslevel auch im Vergleich zur Durchlaufkontrolle in verschiedenen Arealen des Belohnungssystems signifikant geringer, wobei die Unterschiede vor allem die linke Hemisphäre betrafen: lateraler und ventraler OFC, linker rostraler Ncl. Accumbens, linke Kern- und Schalenregion des Ncl. Accumbens, linkes und rechtes Caudate-Putamen, linkes ventrales Pallidum, linker und rechter ventraler ACC, im linken ventralen MCC.

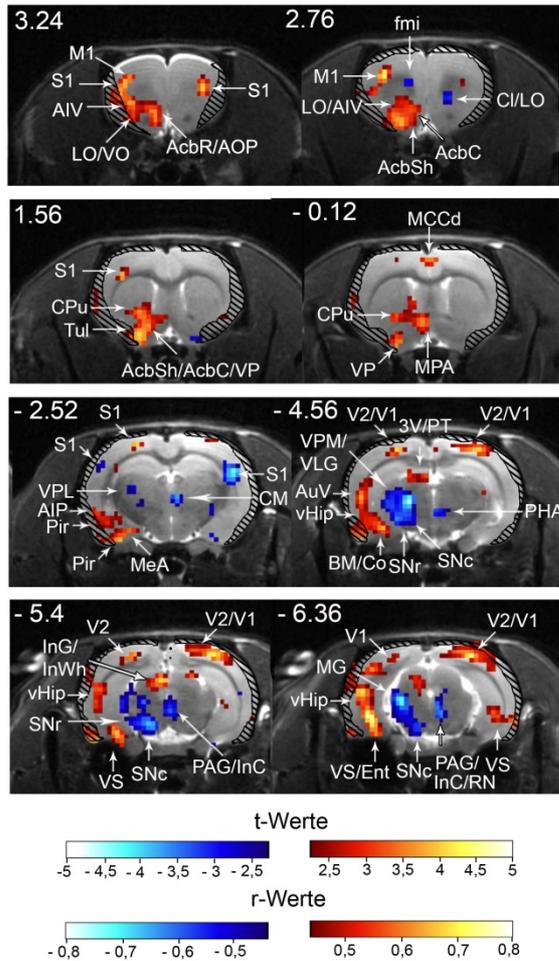
Außerdem war die metabolische Aktivität beidseitig im visuellen Kortex sowie in Teilen des Hypothalamus (Area präopticus medialis, Ncl. praeopticus medianus) bei hohem Motivationslevel geringer als in der Durchlaufkontrolle. In folgenden Arealen wurde dagegen eine höhere Glukoseutilisation beobachtet, wenn die Tiere hochmotiviert getestet wurden: im rechten und linken primären somatosensorischen Kortex, im rechten sekundären motorischen Kortex (wenige Voxel), im linken Ncl. ventralis posteromedialis thalami, im rechten ventralen Hippokampus, im rechten ventralen Subiculum und im rechten Ncl. geniculatus medialis.



**Abbildung 42: Metabolische Aktivitätsunterschiede zwischen der Verhaltens-PET Messung bei hohem Motivationslevel und der Durchlaufkontrolle. a)** Dargestellt sind mittlere Aktivitätsdifferenzen von mindestens 5 %. Positive Werte (in Rot dargestellt) stellen eine erhöhte metabolische Aktivität bei hoher Motivation dar, negative Werte (in Blau dargestellt) zeigen dagegen eine geringere Aktivität bei hohem Motivationslevel gegenüber der Durchlaufkontrolle an. **b)** Signifikante Aktivitätsdifferenzen auf Voxel Ebene ermittelt durch eine einfaktorische ANOVA. Für  $p \leq 0,05$  betrug der kritische q-Wert 3,61 bzw. - 3,61 (für  $df = 18$ ). Farbkodierung wie unter a) angegeben. Aus beiden Abbildungen (**a und b**) geht hervor, dass die FDG-Akkumulation in folgenden motivations- und belohnungsassoziierten Arealen bei hoher Motivation niedriger war als in der Durchlaufkontrolle: im lateralen und ventralen OFC, im rostralen Ncl. Accumbens, in der Kern- und Schalenregion des Ncl. Accumbens, im Caudate-Putamen, im ventralen Pallidum und im ventralen zingulären Kortex. Die Glukoseutilisation war dagegen in folgenden Arealen bei hohem Motivationslevel höher als in der Durchlaufkontrolle: im primären somatosensorischen Kortex, im ventralen Hippokampus und im ventralen Subiculum. Weitere Aktivitätsunterschiede vgl. Text.

(Alle Strukturen unterhalb der Schraffur wurden auf Grund einstrahlender muskulärer Aktivität aus der Auswertung ausgeschlossen. Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an. **Abk.:** AcbC: Kernregion des Ncl. Accumbens, AcbR: rostraler Ncl. Accumbens, AcbSh: Schalenregion des Ncl. Accumbens, ACCv: ventraler anteriorer zingulärer Kortex, CPu: Caudate-Putamen, LO: lateraler orbitofrontaler Kortex, M2: sekundärer motorischer Kortex, MCCv: ventraler mittlerer zingulärer Kortex, MG: Ncl. geniculatus medialis, MnPO: Ncl. praeopticus medianus, MPA: Area praeoptica medialis, S1: primärer somatosensorischer Kortex, vHip: ventraler Hippokampus, VO: ventraler orbitofrontaler Kortex, V1: primärer visueller Kortex, VPM: Ncl. ventralis posteromedialis thalami, VP: ventrales Pallidum, VS: ventrales Subiculum).

Um zu analysieren, welchen Einfluss die Menge gefressener Belohnung auf die FDG-Akkumulation hat, wurde diese (gesamte gefressene Belohnung mit Berücksichtigung der Vorfütterung) mit den gepoolten Verhaltens-PET-Aufnahmen bei hohem und reduziertem Motivationslevel korreliert (Abbildung 43). Da in der Durchlaufkontrolle weitere Aspekte wie z. B. Extinktion eine Rolle spielen, wurde diese bei dieser Korrelationsanalyse nicht berücksichtigt (vgl. Diskussion 5.2.1).



**Abbildung 43: Korrelation zwischen der Menge an gefressener Belohnung (Gesamtbelohnung unter Berücksichtigung der Vorfütterung) und der metabolischen Aktivität bei hohem und reduziertem Motivationslevel.** Für  $p \leq 0,05$  waren t-Werte größer +2,09 ( $r = 0,44$ ; in Rot) und kleiner -2,09 ( $r = -0,44$ ; in Blau) signifikant (mit  $df = 19$ ). Die entsprechenden r-Werte sind unterhalb der t-Wertskala angegeben. Vor allem in der linken Hemisphäre war die metabolische Aktivität in einigen Arealen des Belohnungssystems positiv mit der Menge an gefressener Belohnung korreliert: im rostralen Ncl. Accumbens, im ventralen und lateralen OFC, in der Kern- und Schalenregion des Ncl. Accumbens, im ventralen Pallidum, im dorsalen MCC, im Caudate-Putamen und im ventralen Hippokampus sowie im ventralen Subiculum. Die metabolische Aktivität war in diesen Arealen umso höher, je mehr Belohnung gefressen wurde. In der Substantia nigra pars compacta war die Belohnungsmenge dagegen negativ mit der FDG-Aktivität korreliert. Weitere Korrelationseffekte vgl. Text.

(Alle Strukturen unterhalb der Schraffur wurden auf Grund einstrahlender muskulärer Aktivität aus der Auswertung ausgeschlossen. Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an. **Abk.:** 3V: dritter Ventrikel, AcbC: Kernregion des Ncl. Accumbens, AcbR: rostraler Ncl. Accumbens, AcbSh: Schalenregion des Ncl. Accumbens, AIP: posteriorer Kortex insularis (agranulär), AIV: ventraler insulärer Kortex, AOP: anteriorer Ncl. olfactorius, AuV: ventraler auditorischer Kortex, BM: Ncl. basomedialis amygdalae, Cl: Claustrum, Co: Ncl. corticalis, CPu: Caudate-Putamen, CM: zentraler Ncl. medialis thalami, Ent: entorhinaler Kortex, fmi: Forceps frontalis (minor), InC: Ncl. interstitialis, InG: Colliculus superior (graue Substanz), InWh: Colliculus superior (weiße Substanz), LO: lateraler orbitofrontaler Kortex, M1: primär-motorischer Kortex, MeA: Ncl. medialis amygdalae, MCCd: dorsaler mittlerer zingulärer Kortex, MG: Ncl. geniculatus medialis, MPA: Area praeoptica medialis, S1: somatosensorischer Kortex, PHA: posteriorer Hypothalamus, Pir: piriformer Kortex, PT: Ncl. praetectalis, RN: Ncl. ruber, SNC: Substantia nigra pars compacta, SNr: Substantia nigra pars reticulata, vHip: ventraler Hippokampus, V1: primärer visueller Kortex, V2: sekundärer visueller Kortex, VLG: ventraler Ncl. geniculatus lateralis, VO: ventraler orbitofrontaler Kortex, VPL: Ncl. ventralis posterolateralis thalami, VPM: Ncl. ventralis posteromedialis thalami, VP: ventrales Pallidum, VS: ventrales Subiculum).

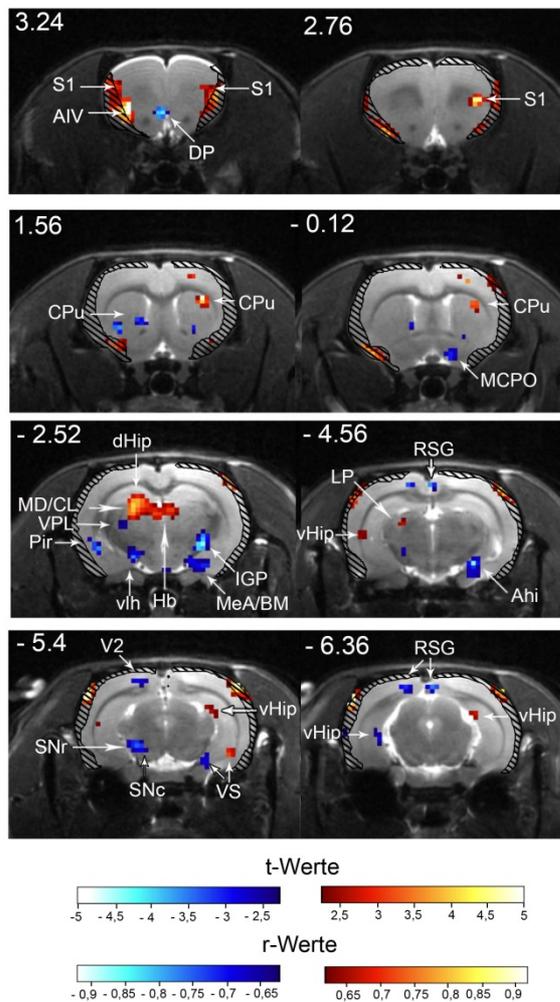
Im Mittel fraßen die hochmotivierten Tiere 3,18 ( $\pm 0,73$ ) g Belohnung, während bei PET-Messungen bei reduziertem Motivationslevel die Vorfütterung plus die Belohnung 17,36 ( $\pm 3,42$ ) g Pellets umfassten.

Für ein Signifikanzniveau von  $p \leq 0,05$  waren alle t-Werte größer  $\pm 2,09$  (mit  $df = 19$ ) signifikant. Der entsprechende r-Wert betrug  $\pm 0,44$ .

Wieder gab es vor allem linkshemisphärisch Effekte: Je mehr Pellets gefressen wurden, desto höher war die metabolische Aktivität in verschiedenen Arealen des Belohnungssystems (positive Korrelation): im linken rostralen Ncl. Accumbens, im linken ventralen und lateralen OFC, in der linken Kern- und Schalenregion des Ncl. Accumbens, im linken ventralen Pallidum, im rechten und linken dorsalen MCC, im linken Caudate-Putamen und im linken ventralen Hippokampus sowie im linken und rechten ventralen Subiculum. In der linken Substantia nigra pars compacta war die Futtermenge dagegen negativ mit der FDG-Aktivität korreliert. Dies war auch für wenige Voxel im rechten OFC der Fall.

Des Weiteren war die Glukoseutilisation im linken primären motorischen Areal, im linken somatosensorischen Kortex, im linken ventralen insulären Kortex, in der linken Area praeoptica medialis, im linken piriformen Kortex (auch im posterioren Teil), in der linken Amygdala (Ncl. corticalis, Ncl. basomedialis amygdalae), im linken entorhinalen Kortex, im rechten und linken visuellen Kortex sowie im linken Colliculus superior (graue und weiße Substanz) positiv mit der gefressenen Futtermenge korreliert. Im rechten Claustrum, in thalamischen Arealen (linker Ncl. ventralis posterolateralis thalami, linker Ncl. ventralis posteromedialis thalami rechter zentraler Ncl. medialis thalami, linker ventraler Ncl. geniculatus lateralis, linker lateraler Ncl. posterior thalami, linker Ncl. geniculatus medialis), in der linken Substantia nigra pars reticularis, im rechten periaquäduktalen Grau, im rechten Ncl. interstitialis und im rechten Ncl. ruber waren dagegen Voxel signifikant negativ mit der erhaltenen Menge an Pellets korreliert. In den aufgezählten Arealen war die Glukoseutilisation umso niedriger, je mehr gefressen wurde.

Die FDG-Bilder der Versuchsbedingung mit hohem Motivationslevel wurden außerdem mit der Motivationsschwelle der Verhaltens-PET-Messung (Wartezeit bei der noch 70 % der Durchläufe eingehalten wurden, vgl. Abbildung 34, in Abschnitt 4.2.1) korreliert (Abbildung 44). Der kritische t-Wert betrug  $\pm 2,26$  ( $r = 0,63$ ; mit  $df = 9$ )



**Abbildung 44: Korrelation zwischen der metabolischen Aktivität bei hoher Motivation und der Motivationsschwelle.** Der kritische t-Wert betrug  $\pm 2,26$  ( $df = 9$ ). Die entsprechenden r-Werte ( $r \pm 0,63$ ) sind unterhalb der t-Wertskala angegeben. Positive Korrelationen (in Rot dargestellt) gab es u. a. im mediodorsalen Thalamus, in der Habenula und im dorsalen Hippokampus. Eine hohe Motivationsschwelle ging dagegen u. a. in der Substantia nigra (pars compacta und pars reticula) und in der Amygdala (Ncl. basomedialis amygdalae, Ncl. medialis amygdalae) mit einer niedrigeren FDG-Aktivität (in Blau dargestellt) einher. Im Ncl. Accumbens und im zingulären Kortex korrelierte die FDG-Aktivität nicht mit der Motivationsschwelle.

(Alle Strukturen unterhalb der Schraffur wurden auf Grund einstrahlender muskulärer Aktivität aus der Auswertung ausgeschlossen. Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an. **Abk.:** AcbR: rostraler Ncl. Accumbens, Ahi: Area amygdalo-hippocampalis, AIV: insulärer Kortex (agranulär), BM: Ncl. basomedialis amygdalae, CL: Ncl. centrolateralis thalami, CPU: Caudate-Putamen, dHip: dorsaler Hippokampus, DP: dorsaler pedunkulärer Kortex, Hb: Habenula (Ncl. habenulae lateralis und medialis), IGP: Globus pallidus internus, LO:

lateraler orbitofrontaler Kortex, LP: lateraler Ncl. posterior thalami, M1: primärer motorischer Kortex, MCPO: Ncl. praeopticus pars magnocellularis, MD: mediodorsaler Thalamus, MeA: Ncl. medialis amygdalae, Pir: piriformer Kortex, RSG: retrosplenialer Kortex (granulär), S1: somatosensorischer Kortex, SNC: Substantia nigra pars compacta, Substantia nigra pars reticularis, V2: sekundärer visueller Kortex, vHip: ventraler Hippokampus, vH: ventrolateraler hypothalamischer Trakt, VO: ventraler orbitofrontaler Kortex, VPL: Ncl. ventralis posterolateralis thalami, VS: ventrales Subiculum).

In den folgenden Arealen war die Motivationsschwelle positiv mit der FDG-Aktivität bei hoher Motivation korreliert: Im rechten und linken somatosensorischen Kortex, im linken insulären Kortex, im rechten Caudate-Putamen, in der linken und rechten Habenula, im linken dorsalen Hippokampus, sowie linkshemipharisch in medialen thalamischen Kernregionen (linker mediodorsaler Thalamus, Ncl. centrolateralis thalami). Außerdem waren wenige Voxel rechtshemisphärisch

im ventralen Hippokampus und im ventralen Subiculum positiv mit der Motivationschwelle korreliert. Sowohl im Caudate-Putamen (linkshemisphärisch) als auch im rechten ventralen Subiculum und im linken ventralen Hippokampus gab es jedoch auch Voxel, die negativ mit der Motivationschwelle korreliert waren.

Während es im Ncl. Accumbens, im ventralen Pallidum sowie im ventralen und dorsalen ACC keine signifikanten Korrelationseffekte auf Voxel Ebene gab, war die metabolische Aktivität einiger Voxel im linken retrosplenialen Kortex negativ mit der Motivationschwelle korreliert (Schnitt - 4,56). Negative Korrelationseffekte gab es außerdem im linken dorsalen pedunkulären Kortex, im linken piriformen Kortex, in hypothalamischen Arealen (Ncl. praeopticus pars magnocellularis des Hypothalamus, ventrolateraler hypothalamischer Trakt), im rechten Globus pallidus internus, in der rechten Amygdala (Ncl. medialis amygdalae, Ncl. basomedialis amygdalae), im linken ventralen (Ncl. ventralis posteriolateralis thalami) und im posterioren (laterale Nuclei posterior thalami) Thalamus, in der linken Area amygdalo-hippocampalis, in der linken Substantia nigra (pars compacta und pars reticulata) und im linken sekundären visuellen Kortex.

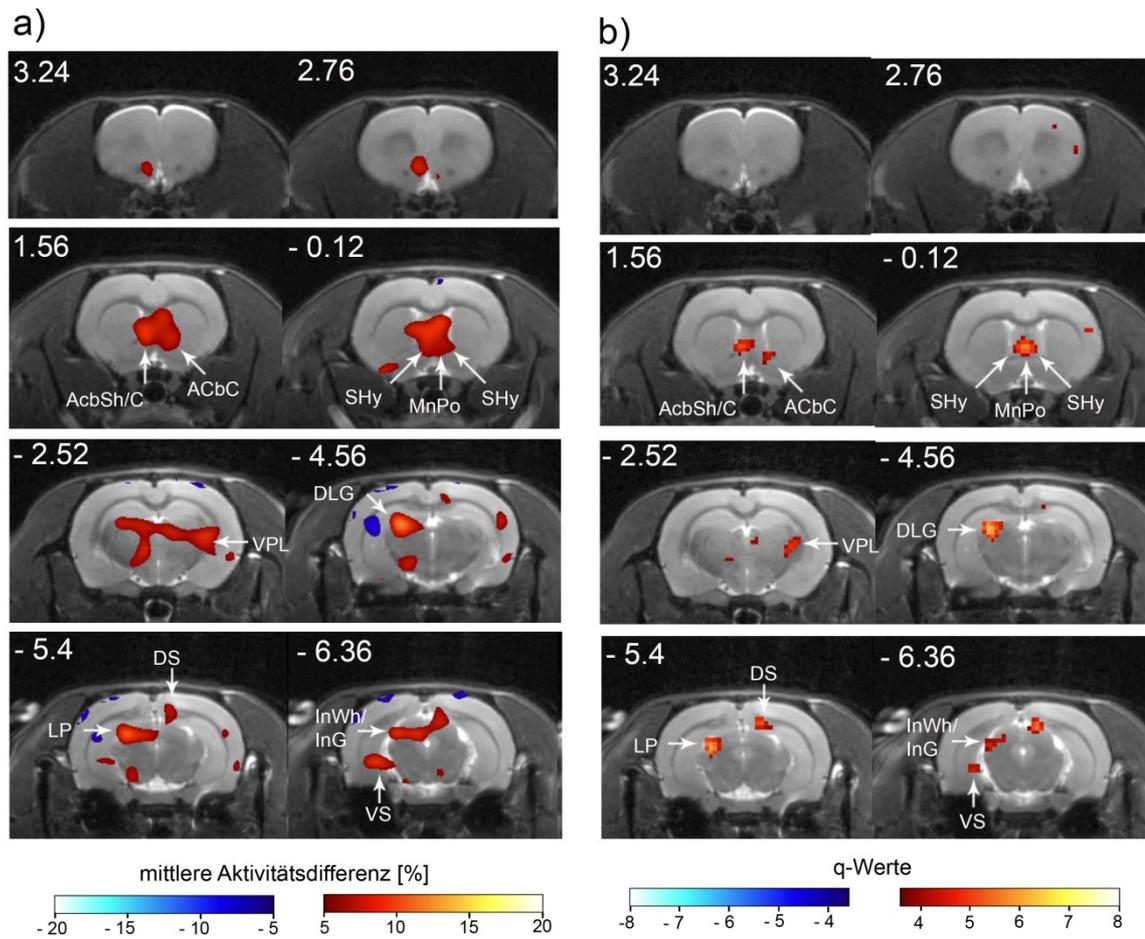
Die Korrelationseffekte im dorsalen Hippokampus, in der Habenula, in der Amygdala und im mediodorsalen Thalamus trafen auch auf anterior gelegene Schnitte (ab - 1,8 mm, hier nicht gezeigt) zu.

### 4.3.2 FDOPA-Verhaltens-PET

Im Folgenden werden die präoperativen FDOPA Verhaltens-PET Ergebnisse vorgestellt. Die Vergleiche zwischen den verschiedenen Bedingungen ergaben Aktivitätsdifferenzen bis zu 10 % (Abbildung 45 - 47). Die Aktivitätsdifferenzen der verschiedenen Bedingungen (hohes Motivationslevel, reduziertes Motivationslevel, Durchlaufkontrolle) wurden wie oben beschrieben mit einer einfaktoriellen ANOVA verglichen. Der kritische q-Wert für die verschiedenen Vergleiche betrug  $\pm 3,61$ .

Abbildung 45 zeigt die mittlere prozentuale Aktivitätsdifferenz (a) zwischen der FDOPA-Verhaltens-PET Messung bei hohem und reduziertem Motivationslevel und die entsprechende q-Wertkarte (b). Alle signifikanten Unterschiede kamen durch eine höhere dopaminerge Aktivität bei hohem Motivationslevel im Vergleich zur Messung nach Vorfütterung zustande. Negative Aktivitätsdifferenzen (niedrigere FDOPA-Aktivität in der Durchlaufkontrolle) waren hingegen auf Voxel Ebene nicht signifikant.

Bei hoher Motivation war die dopaminerge Aktivität in der rechten und linken Kernregion des Ncl. Accumbens erhöht. Auch die Dopaminaktivität in der Schalenregion des Ncl. Accumbens, sowie im dorsalen und ventralen Subiculum war in dieser Bedingung signifikant höher als nach Vorfütterung. Außerdem unterschied sich die Dopaminaktivität links- und rechtshemisphärisch in Hypothalamusstrukturen (Ncl. praeopticus medialis, Ncl. septo-hypothalamicus). Weiterhin war die FDOPA-Aufnahme im ventralen (rechter Ncl. ventralis posterolateralis thalami) und posterioren Thalamus (linker lateraler Ncl. posterior thalami) sowie in visuellen Kernstrukturen (dorsaler Ncl. geniculatus lateralis, Colliculus superior) bei hohem Motivationslevel höher als nach Vorfütterung. In anderen belohnungsassoziierten Arealen wie der Substantia nigra pars compacta oder präfrontalen Strukturen wie dem prälimbischen Kortex oder dem zingulären Kortex unterschied sich die dopaminerge Aktivität zwischen den Bedingungen hingegen nicht.

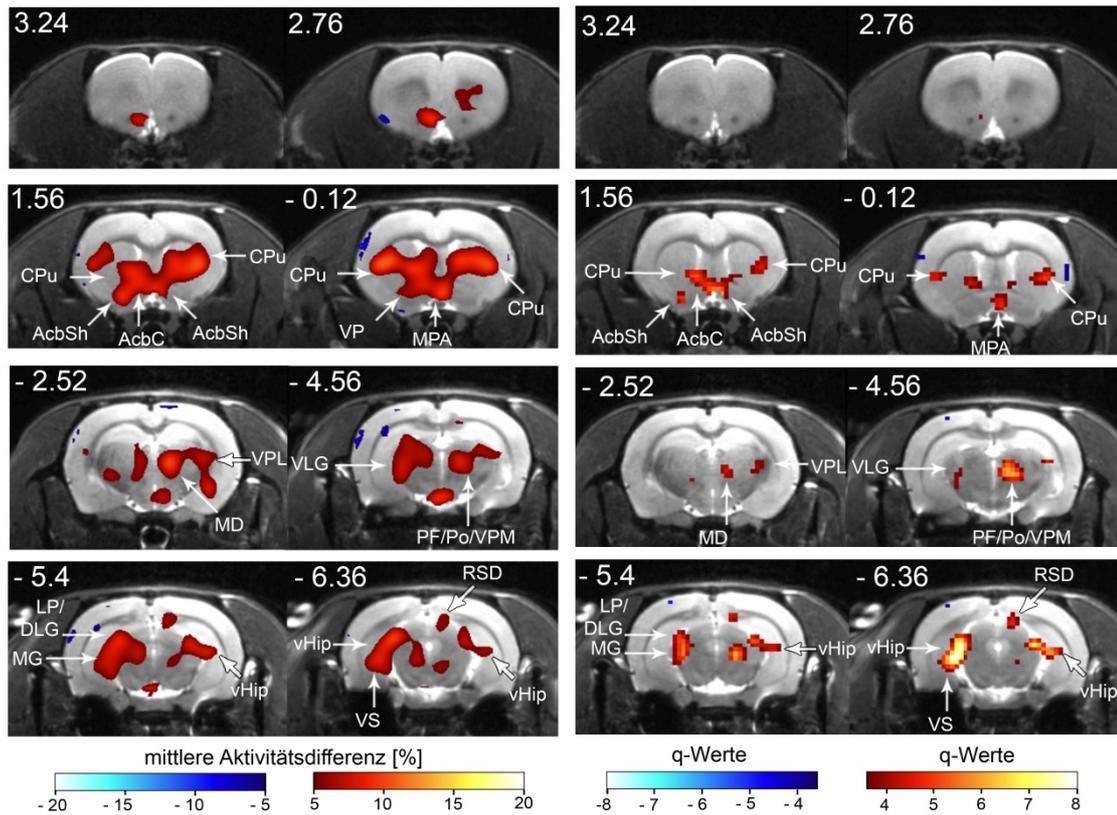


**Abbildung 45: Dopaminerge Aktivitätsunterschiede zwischen der Verhaltens-PET Messung bei hohem und reduziertem Motivationslevel. a)** Dargestellt sind mittlere Aktivitätsdifferenzen von mindestens 5 %. Positive Werte (in Rot) sagen aus, dass die dopaminerge Aktivität höher war, wenn das Motivationslevel hoch war, negative Werte (in Blau) zeigen dagegen an, dass die Dopaminaktivität bei hoher Motivation niedriger war. **b)** Signifikante Aktivitätsdifferenzen auf Voxel Ebene ermittelt durch eine 1-faktorielle ANOVA. Für  $p \leq 0,05$  betrug der kritische q-Wert 3,61 bzw. -3,61 (für  $df = 18$ ). Farbkodierung wie unter a angegeben. Aus beiden Abbildungen (**a und b**) geht hervor, dass die dopaminerge Aktivität in der rechten und linken Kernregion des Ncl. Accumbens sowie in der linken Schalenregion des Ncl. Accumbens und im ventralen Subiculum bei hoher Motivation signifikant höher war als nach Vorfütterung. Die FDOPA-Aktivität war außerdem in folgenden Arealen höher als nach Vorfütterung: im Ncl. praeopticus medialis, im Ncl. septo-hypothalamicus, im dorsalen Subiculum, im Ncl. ventralis posterolateralis thalami, im Ncl. lateralis posterior thalami, im Ncl. geniculatus lateralis und im Ncl. geniculatus dorsalis.

(Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an. **Abk.:** AcbC: Kernregion des Ncl. Accumbens, AcbSh: Schalenregion des Ncl. Accumbens, DLG: dorsaler Ncl. geniculatus lateralis, DS: dorsales Subiculum, InG: Colliculus superior (graue Substanz), InWh: Colliculus superior (weiße Substanz), LP: lateraler Ncl. posterior thalami, MnPO: Ncl. praeopticus medialis, MG: Ncl. geniculatus medialis, SHY: Ncl. septo-hypothalamicus, VPL: Ncl. ventralis posterolateralis thalami).

Abbildung 46 zeigt den Vergleich zwischen der FDOPA-Verhaltens-PET Bedingung Durchlaufkontrolle (hohes Motivationslevel, aber begrenzte Anzahl an Durchläufen) und der Messung im reduzierten Motivationslevel. Die mittlere prozentuale Aktivitätsdifferenz ist in Abbildung 46 a dargestellt und die entsprechende q-Wertkarte in Abbildung 46 b. Auch hier war die FDOPA-Aktivität in manchen Arealen des Belohnungssystems erhöht, wenn die Motivation hoch (Durchlaufkontrolle) war. Es gab hingegen nur einzelne Voxel, in denen eine niedrigere FDOPA-Aktivität in der Durchlaufkontrolle signifikant war. Auffällig war außerdem, dass in einigen Regionen (z. B. Caudate-Putamen) die FDOPA-Aktivität zwar über 5 % höher war als bei reduzierter Motivation, diese Unterschiede aber auf Voxel Ebene nicht signifikant waren.

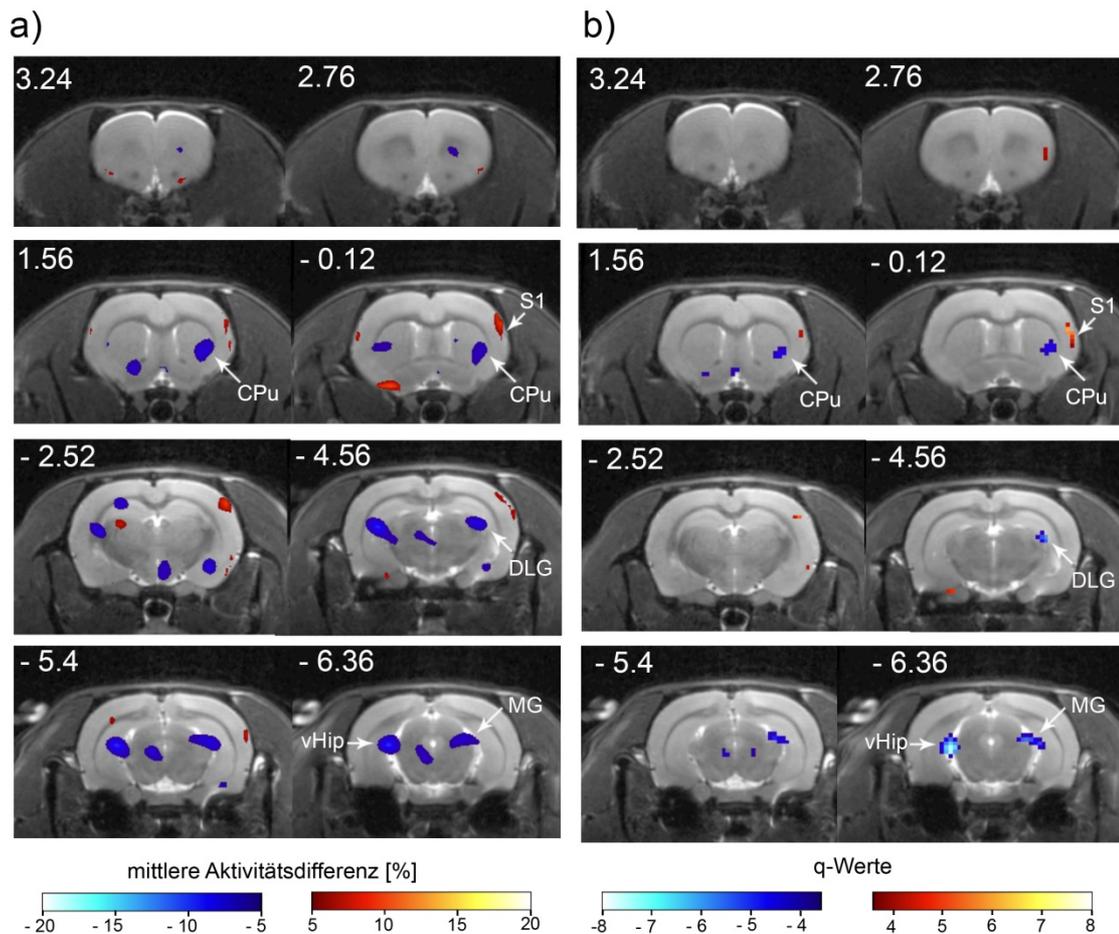
Die dopaminerge Aktivität war in der Schalenregion des Ncl. Accumbens und dem Caudate-Putamen beidseitig signifikant erhöht. Außerdem war die Aktivitätsdifferenz in der linkshemisphärischen Kernregion des Ncl. Accumbens sowie im linken ventralen Pallidum und in der rechten Area praeoptica medialis (Hypothalamus) signifikant unterschiedlich. In der Durchlaufkontrolle war die FDOPA-Aktivität in diesen Arealen signifikant höher als nach Vorfütterung. Die FDOPA-Aktivität unterschied sich gleichermaßen zwischen einigen Voxeln im ventralen Subiculum und im ventralen Hippokampus. Auch in thalamischen Kernregionen unterschied sich die FDOPA-Aufnahme, und zwar in medialen (Ncl. mediales thalami), ventralen (Ncl. ventralis posteriolateralis thalami, Ncl. ventralis posteriomedialis thalami) sowie posterioren Anteilen (lateralen Ncl. posterior thalami).



**Abbildung 46: Dopaminerge Aktivitätsunterschiede zwischen der Verhaltens-PET-Messung der Durchlaufkontrolle (hohes Motivationslevel) und der Messung im reduzierten Motivationslevel. a)** Dargestellt sind mittlere Aktivitätsdifferenzen von mindestens 5 %. Positive Werte (in Rot) sagen aus, dass die dopaminerge Aktivität stärker war, wenn das Motivationslevel hoch war, negative Werte (in Blau) zeigen dagegen an, dass die Dopaminaktivität bei hoher Motivation niedriger war. **b)** Signifikante Aktivitätsdifferenzen auf Voxel Ebene ermittelt durch eine 1-faktorielle ANOVA. Für  $p \leq 0,05$  betrug der kritische q-Wert 3,61 bzw. -3,61 (für  $df = 18$ ). Farbkodierung wie unter a) angegeben. Aus beiden Abbildungen (**a und b**) geht hervor, dass die dopaminerge Aktivität in der Schalenregion des Ncl. Accumbens und dem Caudate-Putamen beidseitig höher war, wenn die Motivation hoch war. Außerdem war die Aktivitätsdifferenz in der links-hemisphärischen Kernregion des Ncl. Accumbens sowie im linken ventralen Pallidum und in der rechten Area praeoptica medialis des Hypothalamus signifikant unterschiedlich. In der Durchlaufkontrolle war die FDOPA-Aktivität in diesen Arealen höher als nach Vorfütterung. Die FDOPA-Aktivität unterschied sich gleichermaßen auf Voxel Ebene im ventralen Subiculum und im ventralen Hippokampus. Die medial gelegenen Aktivitätsunterschiede in diesen Arealen scheinen jedoch teilweise auch auf einstrahlende Aktivitätsdifferenzen zurückzuführen zu sein (vgl. Schnitt -6,36 mm). Auch in thalamischen Kernregionen unterschied sich die FDOPA-Aufnahme in medialen (Ncl. mediales thalami), ventralen (Ncl. ventralis posteriolateralis, Ncl. ventralis posteriomedialis), sowie posterioren Anteilen (lateraler Ncl. posterior thalami)

(Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an. **Abk.:** AcbC: Kernregion des Ncl. Accumbens, AcbSh: Schalenregion des Ncl. Accumbens, CPU: Caudate-Putamen, DLG: dorsaler Ncl. geniculatus lateralis, LP: lateraler Ncl. posterior thalami, MD: mediodorsaler Thalamus, MG: Ncl. geniculatus medialis, VPM Ncl. ventralis posteromedialis thalami, VPL: Ncl. ventralis posterolateralis thalami, MPA: Area praeoptica medialis, vHip: ventraler Hippokampus).

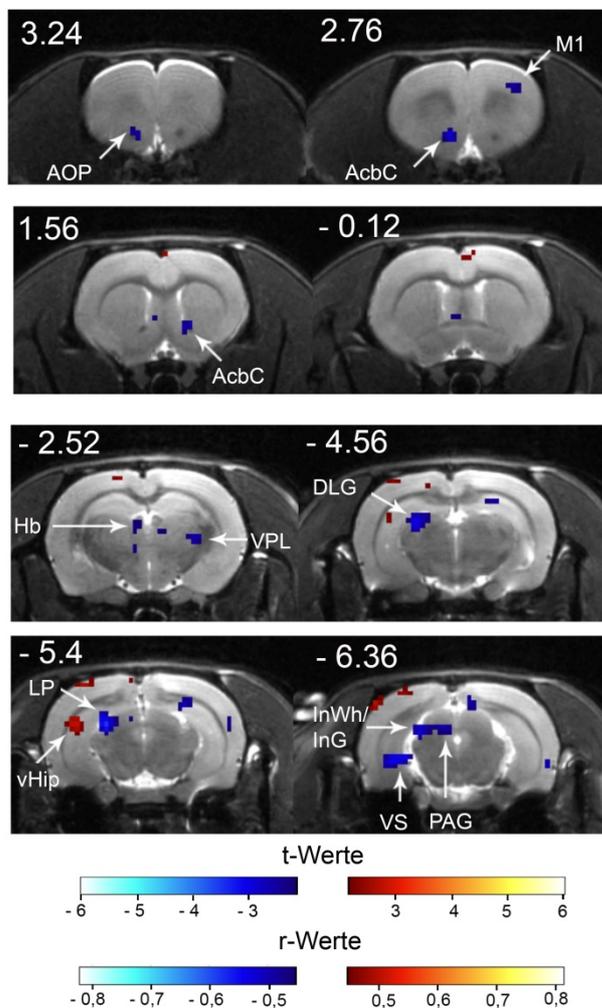
Der Vergleich zwischen FDOPA-Verhaltens-PET Bedingung bei hoher Motivation und der Durchlaufkontrolle ist in Abbildung 47 als Aktivitätsdifferenzbild (a) und q-Wertkarte (b) dargestellt. Es gab nur signifikante Unterschiede im linken Caudate-Putamen, im linken primären somatosensorischen Kortex, im linken ventralen Hippokampus, im rechten dorsaler Ncl. geniculatus lateralis, sowie im Ncl. geniculatus medialis. Dieser Unterschied kam nur im somatosensorischen Kortex durch eine höhere dopaminerge Aktivität bei hohem Motivationslevel zustande. In allen anderen genannten Regionen war der Aktivitätsunterschied auf eine höhere Aktivität während der Durchlaufkontrolle zurückzuführen. In belohnungsassoziierten Arealen wie dem Ncl. Accumbens, der Substantia nigra pars compacta oder präfrontalen Arealen unterschied sich die FDOPA-Aktivität zwischen den Bedingungen nicht.



**Abbildung 47: Dopaminerge Aktivitätsunterschiede zwischen der Verhaltens-PET Messung bei hoher Motivation und der Durchlaufkontrolle. a)** Dargestellt sind mittlere Aktivitätsdifferenzen von mindestens 5 %. Positive Werte (in Rot) sagen aus, dass die dopaminerge Aktivität stärker war, wenn das Motivationslevel hoch war, negative Werte (in Blau) zeigen dagegen an, dass die Dopaminaktivität im hohen Motivationslevel niedriger war. **b)** Signifikante Aktivitätsdifferenzen auf Voxel Ebene ermittelt durch eine 1-faktorielle ANOVA. Für  $p \leq 0,05$  betrug der kritische q-Werte 3,61 und -3,61 (für  $df = 18$ ). Farbkodierung wie unter a angegeben. Aus beiden Abbildungen (**a und b**) geht hervor, dass die FDOPA-Aktivität im Caudate-Putamen, im primären somatosensorischen Kortex, im ventralen Hippokampus und im dorsaler Ncl. geniculatus lateralis bei hoher Motivation niedriger war als in der Durchlaufkontrolle. Dieser Unterschied kam nur im primären somatosensorischen Kortex durch eine höhere dopaminerge Aktivität im hohen Motivationslevel zustande. In allen anderen genannten Regionen war der Aktivitätsunterschied auf eine höhere Aktivität während der Durchlaufkontrolle zurückzuführen. In belohnungsassoziierten Arealen wie dem Ncl. Accumbens, der Substantia nigra pars compacta oder präfrontalen Arealen unterschied sich die FDOPA-Aktivität zwischen den Bedingungen nicht.

(Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an. **Abk.:** CPU: Caudate-Putamen, DLG: dorsaler Ncl. geniculatus lateralis, MG: Ncl. geniculatus medialis, S1: primärer somatosensorischer Kortex, vHip: ventraler Hippokampus).

Wie auch bei der Analyse des FDG-Verhaltens-PETs wurde auch für das FDOPA Verhaltens-PET die Menge an gefressenen Pellets (gesamte gefressene Belohnung mit Berücksichtigung der Vorfütterung) mit den zusammengefassten Verhaltens-PET Aufnahmen bei hoher und reduzierter Motivation korreliert (Abbildung 48). Im Mittel fraßen die Tiere in der Messung unter hohem Motivationslevel 3,06 ( $\pm 0,9$ ) g und in der Messung im reduzierten Motivationslevel 15,91 ( $\pm 3,74$ ) g. Auch hier wurde die Durchlaufkontrolle nicht berücksichtigt (vgl. 2.6.3, 4.3.1). Bezüglich des Signifikanzlevels von  $p \leq 0,05$  ergaben sich entsprechend der Freiheitsgrade ( $df = 19$ ) kritische t-Werte von  $\pm 2,09$ , die einem r-Wert von  $\pm 0,44$  entsprechen.

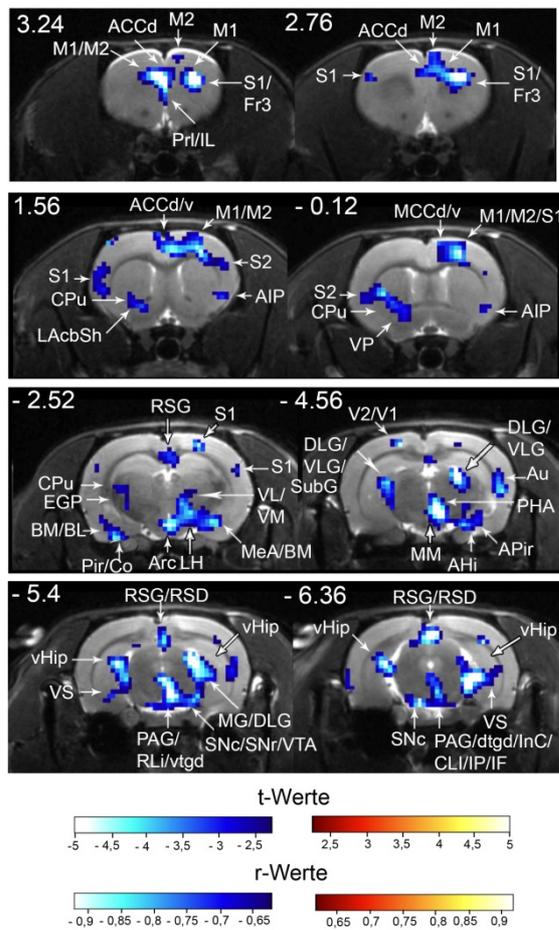


**Abbildung 48: Korrelation zwischen den Verhaltens-PET Aufnahmen bei hohem und reduziertem Motivationslevel und der Menge gefressener Belohnung.** Für  $p \leq 0,05$  betragen die kritischen t-Werte  $\pm 2,09$  (mit  $df = 19$ ). Die entsprechenden r-Werte ( $r \geq \pm 0,44$ ) sind unterhalb angegeben. Positive Werte sind in Rot dargestellt und negative entsprechend in Blau. Die FDOPA-Aktivität einiger Voxel in der linken und rechten Kernregion des Ncl. Accumbens, in der linken Habenula und im linken ventralen Subiculum war negativ mit der Menge gefressener Pellets korreliert, das heißt, dass die FDOPA-Aktivität dann höher war, wenn weniger gefressen wurde und vice versa. Im ventralen Hippokampus waren einige Voxel dagegen positiv mit der Futtermenge korreliert. Weitere negative Korrelationseffekte gab es im primär-motorischer Kortex, im Ncl. ventralis posteriolateralis, im dorsalen Ncl. geniculatus lateralis, im Ncl. lateralis posterior thalami, sowie im Colliculus superior (graue und weiße Substanz).

(Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an. **Abk.:** AcbC: Kernregion des Ncl. Accumbens, AOP: anteriorer Ncl. olfactorius, DLG: dorsaler Ncl. geniculatus lateralis, Hb: Habenula, InG: Colliculus superior (graue Substanz), InWh: Colliculus superior (weiße Substanz), LP: lateraler Ncl. posterioris thalami, M1: primär-motorisches Areal, PAG: periaquäduktale Grau, VPL: Ncl. ventralis posteriolateralis thalami, vHip: ventraler Hippokampus, VS: ventrales Subiculum).

Die FDOPA-Aktivität in der linken und rechten Kernregion des Ncl. Accumbens, in der linken Habenula und im linken ventralen Subiculum war negativ mit der Menge gefressener Pellets korreliert, d. h., dass die FDOPA-Aktivität dann höher war, wenn weniger Pellets gefressen wurde und vice versa. Einige Voxel im ventralen Hippokampus waren dagegen positiv mit der Pelletmenge korreliert. Weitere negative Korrelationseffekte gab es im primär-motorischer Kortex, im Ncl. ventralis posteriolateralis thalami, im dorsalen Ncl. geniculatus lateralis, im lateralen Ncl. posteriores, im linken periaquäduktalen Grau, sowie im Colliculus superior (graue und weiße Schicht).

In Abbildung 49 ist die t-Wertkarte für signifikante Korrelationseffekte zwischen der Motivationsschwelle (Wartezeit bei der noch 70 % der Durchläufe eingehalten wurden, vgl. Abbildung 34 in 4.2.1) der Verhaltens-PET-Messung und der FDOPA-Einlagerung abgebildet. Bei einem Signifikanzniveau von  $p \leq 0,05$  ergaben sich entsprechend der Freiheitsgrade ( $df = 9$ ) t-Werte von  $\pm 2,26$  die einem r-Wert von  $\pm 0,62$  entsprechen. Es gab nur negative Korrelationseffekte, das heißt, dass eine hohe Motivationsschwelle in den entsprechenden Arealen mit einer niedrigen FDOPA-Aktivität einherging (und vice versa). Die FDOPA-Einlagerung vieler wichtiger Strukturen des Belohnungssystems war negativ mit der Motivationsschwelle korreliert: Im ventralen und dorsalen ACC (beidseitig), im rechten dorsalen und ventralen MCC, im linken prä- und infralimbischen Kortex, in der linken lateralen Schalenregion des Ncl. Accumbens, im linken ventralen Pallidum, im linken Caudate-Putamen, im linken und rechten retrosplenialen Kortex (granulär, dysgranulär), im rechten und linken ventralen Subiculum und im linken und rechten ventralen Hippokampus war die FDOPA-Aktivität niedriger, wenn die Motivation hoch war. Des Weiteren gab es negative Korrelationseffekte im primären motorischen Kortex und im supplementär-motorischen Areal beider Hemisphären sowie im Globus pallidus externus. Auch der linke und rechte primäre und sekundäre somatosensorische Kortex, der Kortex frontalis (Areal 3), der posteriore insulärer Kortex sowie der Ncl. geniculatus lateralis (dorsaler und ventraler Teil (beidseitig), linker Ncl. subgeniculatis) und hypothalamische Areale (rechter und linker Ncl. arcuatus, Ncl. mamillaris medialis, lateraler Hypothalamus, posteriorer Hypothalamus) waren negativ mit der Motivationsschwelle korreliert.



**Abbildung 49: Korrelation zwischen der Motivationsschwelle und der FDOPA-Aktivität bei hoher Motivation.**

Der kritische t-Wert betrug -2,26 ( $r = -0,62$  mit  $df = 9$ , in Blau dargestellt). In Arealen des Belohnungssystems gab es viele Korrelationseffekte: Unter anderem war die FDOPA-Aktivität im prälimbischen und infralimbischen Kortex, in der lateralen Schalenregion des Ncl. Accumbens, im gesamten zingulären Kortex, im ventralen Hippokampus, in der Substantia nigra und im ventralen Subiculum niedriger, wenn die Motivationsschwelle hoch war.

(Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an; **Abk.:** ACCd: dorsaler anteriorer zingulärer Kortex, ACCv: ventraler anteriorer zingulärer Kortex, ACo: Ncl. corticalis anterior, Ahi: Area amygdalo hippocampalis AIP: posteriorer insulärer Kortex (agranulär), APir: amygdalopiriforme Übergangszone, Arc: Ncl. arcuatus, Au: primärer auditorischer Kortex, BL: Ncl. basolateralis amygdalae, BM: Ncl. basomedialis amygdalae, CLI: caudaler Teil des Ncl. linearis, CPu: Caudate-Putamen, DLG: dorsaler Ncl. geniculatus lateralis, dtgd: Decussatio tegmentalis ventralis, EGP: Globus pallidus externus, Ent: entorhinaler Kortex, Fr3: frontaler Kortex (Areal 3), IF: Ncl. interfascicularis, IL: Ncl. interpeduncularis, LAcSh: laterale Schalenregion des Ncl. Accumbens, LH: lateraler Hypothalamus, M1: primärer motorischer Kortex, M2: sekundärer motorischer Kortex, MCCd: dorsaler mittlerer zingulärer Kortex, MCCv: ventraler mittlerer zingulärer Kortex, MM: Ncl. mamillaris medialis, PAG: periaquäduktales Grau, Pir: piriformer Kortex, PHA: posteriorer Hypothalamus, PrL: prälimbischer Kortex, RLi: Ncl. linearis rostralis (Raphe), RSG: retrosplenialer Kortex (granulär), S1: primärer somatosensorischer Kortex, S2: sekundärer somatosensorischer Kortex, SNC: Substantia nigra pars compacta, SNr: Substantia nigra pars reticulata, SubG: Ncl. sub-genicularis, VL: Ncl. ventrolateralis thalami, VLG: ventraler Ncl. genicularus lateralis, VM: Ncl. ventromedialis thalami, VP: ventrales Pallidum, VTA: Area tegmentalis ventralis, vtgd: Decussatio tegmentalis ventralis).

peduncularis, LAcSh: laterale Schalenregion des Ncl. Accumbens, LH: lateraler Hypothalamus, M1: primärer motorischer Kortex, M2: sekundärer motorischer Kortex, MCCd: dorsaler mittlerer zingulärer Kortex, MCCv: ventraler mittlerer zingulärer Kortex, MM: Ncl. mamillaris medialis, PAG: periaquäduktales Grau, Pir: piriformer Kortex, PHA: posteriorer Hypothalamus, PrL: prälimbischer Kortex, RLi: Ncl. linearis rostralis (Raphe), RSG: retrosplenialer Kortex (granulär), S1: primärer somatosensorischer Kortex, S2: sekundärer somatosensorischer Kortex, SNC: Substantia nigra pars compacta, SNr: Substantia nigra pars reticulata, SubG: Ncl. sub-genicularis, VL: Ncl. ventrolateralis thalami, VLG: ventraler Ncl. genicularus lateralis, VM: Ncl. ventromedialis thalami, VP: ventrales Pallidum, VTA: Area tegmentalis ventralis, vtgd: Decussatio tegmentalis ventralis).

Des Weiteren war die FDOPA-Aktivität in der Substantia nigra pars compacta beider Hemisphären und in der linken Substantia nigra pars reticulata bei einer hohen Motivationsschwelle niedriger als bei einer geringen Motivation. Dies traf auch auf die FDOPA-Aktivität im periaquäduktalen Grau (beidseitig) und in Kernen der VTA, im Ncl. interpeduncularis und im Ncl. interfascicularis, sowie dem Ncl. linearis rostralis und im auditorischen Kortex zu.

## 5 Diskussion der präoperativen Ergebnisse

### 5.1 Diskussion der Verhaltensergebnisse

Um das Motivationsverhalten longitudinal im Schlaganfallmodell zu untersuchen, wurde zunächst die Motivationsaufgabe konzipiert. In der Motivationsaufgabe mussten die Versuchstiere eine kurze, mittlere oder lange geforderte Wartezeit einhalten um eine Belohnung zu erhalten (vgl. Material und Methoden 2.5).

Um zu überprüfen, ob sich das Verhaltensparadigma eignet, um Motivationsverhalten in Kombination mit FDG- und FDOPA-PET zu messen, wurden zunächst vier Bedingungen (Verhalten, FDG, FDOPA, LDOPA) im unbehandelten Versuchstier bei hoher und reduzierter Motivation verglichen. Zunächst werden nun die präoperativen Verhaltensergebnisse im hohen Motivationslevel diskutiert.

Die geforderte Wartezeit beeinflusste deutlich die prozentuale Abnahme erfolgreicher Durchläufe: Je länger die geforderten Wartezeit war, desto geringer war der Erfolg an der Nosepoke-Einheit. Je nach Bedingung lag der prozentuale Anteil erfolgreicher Nosepoke-Durchläufe bei der kürzesten geforderten Wartezeit (400 ms) bei etwa 90 %, bei der mittleren Zeit (1000 ms) bei etwa 75 % und bei der längsten geforderten Wartezeit (1600 ms) war nur noch etwa die Hälfte der Durchläufe erfolgreich. Außerdem wurde eine sogenannte *Motivationsschwelle* ermittelt. Dafür wurde unter Berücksichtigung des prozentualen Erfolgs der unterschiedlichen geforderten Wartezeiten die Zeit bestimmt, bei der noch 70 % der Durchläufe erfolgreich waren (vgl. 2.5.6). Wie in der Diskussion der postoperativen Verhaltensergebnisse noch deutlicher wird (vgl. 7.2), ermöglichte die Motivationsschwelle eine bessere Vergleichbarkeit zwischen den Versuchstieren, da der Erfolg aller drei geforderten Wartezeiten bemessen wurde. Innerhalb der Gruppe lag die mittlere Motivationsschwelle im Mittel bei etwa 1200 ms, also etwas über der mittleren geforderten Wartezeit. Das in dieser Arbeit etablierte Verhaltensparadigma ermöglicht also, das Motivationsverhalten in Abhängigkeit vom geforderten Arbeitsaufwand zu untersuchen.

In der Literatur gibt es, soweit mir bekannt, lediglich eine Studie die ein Verhaltensparadigma mit ähnlichem Aufbau verwendet. Hier hatten Ratten die Wahl, entweder einen Hebel für eine kleine Belohnung (2 Pellets) zu drücken oder eine

größere Belohnung (4 Pellets) für das mehrmalige Betätigen eines Hebels zu erhalten. Wie oft der Hebel gedrückt werden musste, um vier Pellets zu erhalten variierte zwischen den Durchläufen und lag zwischen 2 und 20. In dieser Studie nahm die Wahrscheinlichkeit, dass sich die Tiere für den Hebel mit größerer Belohnung entschieden, mit zunehmender Anzahl geforderter Hebeldrücke ab (Ghods-Sharifi & Floresco, 2010). Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie. Mit diesem Versuchsaufbau wurde jedoch nicht explizit Motivationsverhalten gemessen, sondern vor allem Kosten-Nutzen-Entscheidungsverhalten (vgl. Einleitung 1.5.1).

Zudem lässt sich der Erfolg an der Nosepokeeinheit in der vorliegenden Studie mit einigen anderen Verhaltensparadigmen vergleichen, bei denen ein Durchlauf zumindest mit einem Nosepoke begann. Ein in der Literatur häufig verwendeter Test für Ratten ist der 9-Löcher-Test, der im Tiermodell klassisch zur Untersuchung von Aufmerksamkeitsverhalten verwendet wird (Dowd & Dunnett, 2005; Lindgren *et al.*, 2014). Bei diesem Test muss zu Beginn eines Durchlaufs für eine bestimmte Zeit die Nase in einer Nosepoke-Einheit belassen werden, bevor dann eine Aufmerksamkeitsaufgabe folgt. In den beiden zitierten Studien variierte die geforderte Wartezeit zwischen den Durchläufen und lag zwischen 200 und 800 ms. Es wird jedoch kein Vergleich zwischen der Erfolgsquote der unterschiedlichen geforderten Wartezeiten angegeben, sondern nur der Gesamterfolg, was den Vergleich mit der vorliegenden Arbeit erschwert. Unabhängig von der geforderten Wartezeit lag die Erfolgsquote bei beiden Studien knapp unter 100 %. Im Vergleich zu der vorliegenden Arbeit entspricht dies dem Erfolg bei 400 ms. Bei den beiden längeren Wartezeiten (1000 ms, 1600 ms) war die Erfolgsquote in der Motivationsaufgabe dagegen deutlich niedriger (s. o.) als in den zitierten Studien. In anderen Arbeiten, in denen Verhalten von Ratten in einer Stimulus-Konfliktaufgabe untersucht wurde, erforderte der Start jedes neuen Durchlaufs eine Wartezeit von 1,5 s an der Nosepoke-Einheit (Marx *et al.*, 2012) oder am Hebel (Courtiere *et al.*, 2007). Im Anschluss daran mussten die Versuchstiere auf eine Stimulus-Konfliktaufgabe antworten. Unter Berücksichtigung beider Teilaufgaben wird in beiden Studien eine Erfolgsquote von 70-80 % angegeben. Somit war die Erfolgsquote trotz der anschließenden Stimulus-Konfliktaufgabe etwa 20 % höher als es in der vorliegenden Studie für die längste geforderte Wartezeit (1600 ms) der Fall war. Dass

die Versuchstiere in der vorliegenden Studie weniger Geduld aufbrachten, könnte daran liegen, dass sie weniger an die längeren Wartezeiten gewöhnt waren. Zum einen wurden innerhalb der Motivationsaufgabe seltener Durchgänge mit langen Zeiten präsentiert und zum anderen wurde in der vorliegenden Arbeit das Training entsprechend konzipiert. Wie im Material und Methodenteil (vgl. 2.5.3) ausführlich erläutert, mussten die Versuchstiere zu Beginn des Trainings für 400 ms ihre Nase in der Nosepoke-Einheit belassen und 150 erfolgreiche Durchläufe erreichen. Die Zeit wurde dann in weiteren Schritten auf 1000 ms und schließlich auf 1600 ms erhöht. Bei der längsten geforderten Wartezeit lag das Trainingskriterium nur noch bei 50 erfolgreichen Durchläufen. Diese Trainingskriterien wurden bewusst so festgelegt, um zu vermeiden, dass die Versuchstiere sich zu sehr an die langen Zeiten gewöhnen und sich folglich die Erfolgsrate nicht mehr zwischen den Durchläufen unterscheidet. Der Vergleich zwischen den zitierten Studien und den Ergebnissen der vorliegenden Studie deutet darauf hin, dass die Performance im Verhaltensparadigma extrem von dem genauen Aufbau der Studie und dem vorherigen Training abhängt. Diese Annahme wird auch durch Vorexperimente gestützt (nicht gezeigt): Es wurde ein Versuchsaufbau getestet, in dem insgesamt 20 geforderte Wartezeiten zwischen 100 und 3900 ms randomisiert präsentiert wurden. Hier lag der Erfolg bei einer geforderten Wartezeit von 100 und 250 ms bei über 80 %, musste jedoch eine Wartezeit von 400 ms abgewartet werden, sank die Erfolgsquote im Mittel schon auf unter 70 % und lag ab 700 ms bereits bei unter 50 %.

Da sich in der longitudinalen Schlaganfallstudie auch zeigte, dass sich das Verhalten der Kontrolltiere im Laufe der prä- und postoperativen Messungen nicht wesentlich änderte (vgl. 7.2.1), ist davon auszugehen, dass die geforderten Wartezeit für die Motivationsaufgabe adäquat ausgewählt wurden. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass mit der Motivationsaufgabe mögliche Motivationsveränderungen direkt gemessen werden können.

Nach einem erfolgreichen Durchlauf folgte eine einfache, belohnungsassoziierte Diskriminierungsaufgabe, in der zwischen zwei visuellen Stimuli diskriminiert werden musste (vgl. Material und Methoden 2.5.3). Die Erfolgsquote der Versuchstiere lag bei dieser Aufgabe bei etwa 50-60 %. In einer weiteren Studie, die ein Ba-

chelorstudent unter meiner Anleitung durchführte, wurde in einer ähnlichen visuellen Diskriminierungsaufgabe eine Erfolgsrate von ca. 80 % beobachtet. Dies steht auch im Einklang mit anderen Studien (Brown *et al.*, 2010; Carlsson & Swedberg, 2010; Winters *et al.*, 2010). Ein möglicher Grund für den Unterschied zwischen den Ergebnissen der vorliegenden Studie, der Studie im Rahmen einer Bachelorarbeit und Berichten aus der Literatur könnte darin liegen, dass die Ratten in den genannten Studien über Hebel antworteten, in der vorliegenden Arbeit aber über Futtertröge. Hebel haben den Vorteil, dass sie ein- und ausfahrbar sind und somit die Antwort des Tieres etwas besser kontrollieren. Die Futtertröge mussten jedoch aus technischen Gründen eingesetzt werden. Ratten neigen zu vorschnellen Antworten und längere Wartezeiten erhöhen diesen Effekt (Broersen & Uylings, 1999; Robbins, 2002). Um die Wahrscheinlichkeit zu vergrößern, dass die Ratten sich den visuellen Stimulus der Diskriminierungsaufgabe anschauen, bevor über den Futtertrog geantwortet wurde, wurde eine Antwort am Futtertrog erst 3 s nach Stimuluspräsentation belohnt (vgl. 2.5.3). Trotzdem war die Erfolgsquote deutlich niedriger als in anderen Studien. Für zukünftige Studien ist es daher empfehlenswert, dass die Antwort in der Diskriminierungsaufgabe über Hebel statt Futtertröge erfolgt. Dennoch schafften die Versuchstiere innerhalb einer Testung immer wieder sechs bis acht aufeinanderfolgende richtige Durchläufe (nicht gezeigt). In anderen Studien wird dies häufig als Lernkriterium verwendet, so dass davon ausgegangen werden kann, dass die Versuchstiere die visuelle Diskriminierungsaufgabe gelernt haben (Birrell & Brown, 2000; Cordova *et al.*, 2014).

Präoperativ wurde außerdem das Verhalten in den verschiedenen Bedingungen in Abhängigkeit vom Motivationslevel gemessen (reduziertes und hohes Motivationslevel). Dies wird zunächst im Folgenden diskutiert, bevor näher auf den Vergleich zwischen den Bedingungen (Verhalten, FDG, FDOPA, LDOPA) eingegangen wird. Nach der Vorfütterung sank die Motivation mitzuarbeiten unabhängig von der Versuchsbedingung (Verhalten, FDG, FDOPA, LDOPA) deutlich. Das äußerte sich vor allem darin, dass seltener an der Nosepoke-Einheit geantwortet wurde. Mit Ausnahme der FDOPA-Bedingung verlängerten sich außerdem die Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit. Der Vergleich zwischen den geforderten Wartezeiten zeigte, dass die Anzahl erfolgreicher Durchläufe unabhängig von der Länge abnahm. Es gab jedoch für keine der geforderten Wartezeiten einen signifikanten

Effekt zwischen dem Anteil erfolgreicher Durchläufe bei hoher und reduzierter Motivation. Lediglich in der LDOPA-Bedingung reduzierte die Vorfütterung den Anteil erfolgreicher Durchläufe so stark, dass der Unterschied nahe der Signifikanzgrenze lag. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Motivation einen Durchlauf anzufangen nach Vorfütterung zwar niedriger war, sobald aber mit einem Durchlauf begonnen wurde, war das Verhalten nach Vorfütterung vergleichbar mit dem Verhalten bei hoher Motivation. Dies bestätigt auch der Vergleich zwischen den Reaktionszeiten in der Diskriminierungsaufgabe, der keine Abhängigkeit vom Motivationslevel ergab. Dass eine Vorfütterung die Motivation von Ratten im anschließenden Verhaltensversuch mitzuarbeiten reduziert, entspricht den Erwartungen und steht im Einklang mit der Literatur (Balleine & Dickinson, 1998; Endepols *et al.*, 2010). Während in der vorliegenden Arbeit die Anzahl der Durchläufe im Mittel um über 50 % abnahm, reduzierte sich jedoch die Anzahl in den beiden zitierten Studien nur um 30-40 %.

Wie in Abschnitt 7.2 noch ausführlicher diskutiert wird, gab es außerdem einen Gewöhnungseffekt: Je öfter die Vorfütterung durchgeführt wurde, desto mehr Tiere machten im anschließenden Versuch gar nicht mehr mit. Beim Vergleich der Reaktionszeiten und des prozentualen Anteils erfolgreicher Durchläufe mussten daher einige Tiere ausgeschlossen werden. Für zukünftige Studien wäre daher zu überlegen, ob die Menge der Pellets bei der Vorfütterung reduziert wird. Dies wurde bereits im Rahmen der vorliegenden Arbeit getestet (nicht gezeigt): Bei Futtermengen von 5, 10 und 15 g gab es immer wieder Tiere, deren Leistung sich nicht von der Testbedingung mit hoher Motivation unterschied. Vor allem im Hinblick darauf, dass die Vorfütterung als Kontrollbedingung im Verhaltens-PET diene, erschien es daher sinnvoller, die Futtermenge auf 20 g festzulegen, so dass gewährleistet war, dass die Motivation mitzuarbeiten bei allen Tieren reduziert war. In Anbetracht dessen, dass sich im Laufe der Studie ein Gewöhnungseffekt einstellte, sollte dies jedoch noch mal überdacht werden. Alternativ könnte die Motivation beim Versuch mitzuarbeiten auch anders herabgesetzt werden. Eine Möglichkeit wäre z. B. bei der Vorfütterung keine Zuckerpellets sondern das üblichen Futter aus dem Heimkäfig anzubieten. In der Regel hat dies für Ratten einen geringeren Wert (Schweimer & Hauber, 2005), so dass anzunehmen ist, dass die Motivation im anschließenden Versuch mitzuarbeiten nicht ganz so stark herabgesetzt wer-

den würde und sich die Durchlaufanzahl daher nicht so stark reduzieren würde. Folglich könnten verschiedene Parameter wie die Reaktionszeiten, der prozentuale Anteil erfolgreicher Durchläufe und die Motivationsschwelle besser zwischen Messungen mit unterschiedlichem Motivationslevel verglichen werden.

Des Weiteren wurden die verschiedenen Messbedingungen (Verhalten, FDG, FDOPA, LDOPA) verglichen, um zu ermitteln, ob FDOPA bei i. p. Injektion im wachen Tier einen Effekt auf das Verhalten der Tiere hat. Wie bereits kurz erwähnt, ist aus der Literatur bekannt, dass die LDOPA-Behandlung sowohl im Tiermodell als auch beim Menschen einen modulatorischen Effekt auf Lernleistungen haben kann (Knecht *et al.*, 2004; Pavlis *et al.*, 2006; Reinholz *et al.*, 2009; Onur *et al.*, 2011). Der Vergleich zwischen den Bedingungen ergab, dass die Versuchstiere sich im FDOPA-Verhaltens-PET genauso verhielten wie in der Verhaltensmessung außerhalb des PET-Kontextes. Vor allem im Vergleich zur reinen Verhaltensbedingung machten die Versuchstiere jedoch in der FDOPA- und LDOPA-Bedingung etwas schlechter mit. Dies äußerte sich z. B. darin, dass die Anzahl erfolgreicher Durchläufe in der LDOPA-Bedingung unabhängig vom Motivationslevel etwas geringer war. Bei der FDOPA-Messung war dies für die kürzeste und mittlere Wartezeit auch der Fall. Obwohl die statistische Analyse keinen Zusammenhang mit dem Motivationslevel ergab, schien dieser Effekt im Mittel nach Vorfütterung etwas stärker zu sein, wobei die Standardabweichungen hoch waren. In der Diskriminierungsaufgabe antworteten die Tiere in der LDOPA-Bedingung langsamer als in der Verhaltens- und FDOPA-Bedingung. In der Tendenz zeigte sich ähnliches auch für den Vergleich zwischen den Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit: Im Vergleich zur Verhaltensmessung antworteten die Versuchstiere etwas langsamer wenn zuvor FDOPA oder LDOPA appliziert wurde. Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass FDOPA bzw. LDOPA die Motivation im Versuch mitzuarbeiten verringerte, wobei diese Effekte nur gering waren. In einer Humanstudie wird berichtet, dass eine LDOPA-Behandlung unmittelbar vor der Bewältigung einer Konflikt-aufgabe zumindest bei jungen Versuchspersonen zu verlängerten Reaktionszeiten führte, wenn die Antwortmöglichkeiten inkongruent waren (Onur *et al.*, 2011). Die Ergebnisse dieser Studie wurden mit einer Überaktivierung des Dopaminsystems erklärt. Dies könnte auch bei der Motivationsaufgabe zu einer schlechteren Leistung der Versuchstiere geführt haben. Aus Tiermodellstudien ist jedoch auch be-

kannt, dass die akute LDOPA-Gabe zu einer verbesserten Diskriminierungsleistung führt und eine längerfristige Behandlung mit LDOPA einen positiven Effekt auf das Langzeitgedächtnis hat (Pavlis *et al.*, 2006; Reinholz *et al.*, 2009). In beiden Studien hatten LDOPA-Mengen von 20-50 mg einen positiven Effekt. In der Studie von Pavlis *et al.* (2006) war die Diskriminierungsleistung nach einer akuten LDOPA-Gabe von 12,5 mg jedoch vergleichbar mit der von Kontrolltieren. Da in der vorliegenden Arbeit nur 0,6 mg/ml verabreicht wurde, ist ein Vergleich mit den zitierten Studien schwierig. Dennoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass das LDOPA auch in dieser geringen Menge einen modulatorischen Effekt hat. Wie oben bereits angedeutet, ist eine andere Möglichkeit, dass die Verhaltenseffekte durch den recht niedrigen pH-Wert von FDOPA und LDOPA ausgelöst wurden. Folglich könnte die Injektion der Substanz etwas schmerzhaft gewesen sein.



## 5.2 Diskussion des präoperativen Verhaltens-PETs

Verhaltens-PET wurde in Kombination mit FDG und FDOPA in drei verschiedenen Bedingungen durchgeführt: In der Bedingung „*hohes Motivationslevel*“ machten die Versuchstiere die Motivationsaufgabe wie gewohnt im hungrigen Zustand. Diese Bedingung wurde mit zwei Kontrollbedingungen verglichen und zwar nach Vorfütterung (*reduziertes Motivationslevel*) und in der *Durchlaufkontrolle*. In der letztgenannten Bedingung waren die Tiere zwar hungrig, die Anzahl an Durchläufen war aber limitiert auf die Anzahl, die bei reduzierter Motivation erreicht wurde. Danach stoppte der Versuch automatisch. Wie es auch schon bei der Beschreibung der Ergebnisse, liegt der Schwerpunkt der folgenden Diskussion auf motivations- und belohnungsassoziierten Arealen. Bevor näher auf die funktionelle Bedeutung der vorliegenden Ergebnisse eingegangen wird, werden kurz methodische Aspekte diskutiert.

### 5.2.1 Methodendiskussion

Bei der Interpretation der FDG-Ergebnisse muss beachtet werden, dass eine erhöhte metabolische Aktivität hauptsächlich synaptische Aktivität widerspiegelt. Eine Erhöhung des Blutflusses korreliert am besten mit lokalen Feldpotentialen und nicht mit neuronalen Aktionspotentialen. Das FDG-Signal, das mit einem erhöhtem Glukose- und Sauerstoffbedarf einhergeht, kann folglich am besten durch Eingangsaktivität und weniger durch die Ausgangsaktivität erklärt werden (vgl. Review Raichle & Mintun, 2006). Hinzu kommt, dass die Ionenpumpen der Dendriten und Astrozyten am meisten Energie verbrauchen (Raichle & Mintun, 2006). Es wird davon ausgegangen, dass das FDG-Signal gleichermaßen durch exzitatorische als auch durch inhibitorische Aktivität zu erklären ist (Raichle & Mintun, 2006; Figley & Stroman, 2011).

Wie in Abschnitt 5.1 diskutiert hörten die Versuchstiere nach der Vorfütterung frühzeitig auf im Versuch mitzuarbeiten, was sich auch darin äußerte, dass die Anzahl an Durchläufen stark reduziert war. Über die Kamera wurde beobachtet, dass die Tiere in der Regel dann bis zum Ende des Versuchs ruhten. Aus der Literatur ist bekannt, dass im Ruhezustand einige Areale aktiv sind, die als *Bewusstseinsnetzwerk* (engl. Default Mode Network) zusammengefasst werden (Agmo & Gomez,

1991). Beim Menschen wird vor allem der mediale präfrontale Kortex, der posteriore zinguläre Kortex, der Hippokampus mit assoziierten Arealen wie dem entorhinalen Kortex und dem ventralen Subiculum, der Lobus parietalis inferior und der laterale Anteil des temporalen Kortex mit einem solchen System in Verbindung gebracht (Anderberg *et al.*, 2014). Verschiedene Studien zeigen, dass auch bei Ratten ein solches Netzwerk existiert (Corbit *et al.*, 2003; Shimura *et al.*, 2006; Papp *et al.*, 2012). Bei Ratten zeigen vor allem der anteriore und mittlere zinguläre Kortex (MCC), der retrospleniale Kortex und der Hippokampus eine erhöhte Aktivität im Ruhezustand (Shimura *et al.*, 2006). In einer weiteren fMRT-Studie wird aber auch eine Beteiligung weiterer Areale inklusive dem lateralen und orbitalen frontalen Kortex (OFC), dem prälimbischen Kortex sowie dem visuellen und auditorischen Kortex angenommen (Corbit *et al.*, 2003). Dass die FDG-Aktivität in der vorliegenden Studie in beiden Messungen, die bei hoher Motivation durchgeführt wurden (hohes Motivationslevel, Durchlaufkontrolle) im OFC, im Hippokampus inklusive dem ventralen Subiculum, dem entorhinalen Kortex, sowie dem visuellen und auditorischen Kortex niedriger war als nach Vorfütterung, könnte also durch eine erhöhte Ruheaktivität zu erklären sein. Auch die höhere Aktivität einiger Voxel im mittleren zingulären Kortex könnte dadurch bedingt sein. Wie ausführlicher in Abschnitt 5.1 diskutiert, sollte daher in Betracht gezogen werden, für zukünftige Studien das Motivationslevel nicht so stark zu reduzieren. Zum Beispiel könnten die Tiere statt Zuckerpellets Futter aus dem Heimkäfig bei der Vorfütterung erhalten (vgl. 5.1). Außerdem könnte über eine alternative Kontrollbedingung nachgedacht werden. Eine gute Möglichkeit wäre z. B. das Motivationsverhalten in der üblichen Motivationsaufgabe mit nur einer Bedingung zu testen so dass in allen Durchläufen beispielsweise nur eine kurze geforderte Wartezeit von 400 ms eingehalten werden muss. In Bezug auf die longitudinale Schlaganfallstudie war die starke Reduktion der Durchläufe bei reduziertem Motivationslevel jedoch unproblematisch, da das Ausmaß der Reduktion des Motivationslevels vor und nach Schlaganfall gut vergleichbar war (vgl. 7.3.1). Außerdem bestand dieses Problem in den anderen beiden Verhaltens-PET Bedingungen (hohes Motivationslevel, Durchlaufkontrolle) nicht.

Wie im Material und Methodenteil (vgl. 2.6.2.2) erläutert, spiegelt FDOPA-Aktivität hauptsächlich die präsynaptische Dopaminaktivität wider. FDOPA wird in der Prä-

synapse von der aromatischen-L-Aminosäure-Decarboxylase in FDA umgewandelt und dann wie Dopamin vesikulär gespeichert. Ein großer Teil des FDAs wird dann vesikulär aufgenommen und irreversibel bis zur Ausschüttung der Vesikel gespeichert (Kumakura & Cumming, 2009). Die Korrelationsanalyse zwischen der Motivationsschwelle und der FDOPA-Aktivität bei hoher Motivation ergab negative Korrelationseffekte in verschiedenen motivations- und belohnungsassoziierten Arealen. Unter anderem ging eine hohe Motivationsschwelle mit einer niedrigeren FDOPA-Aktivität im anterioren zingulären Kortex (ACC) und MCC, sowie im retrosplenialen Kortex einher. Die FDOPA-Aktivität war außerdem in weiteren Arealen wie dem prä- und infralimbischen Kortex, dem primären und sekundären motorischen Kortex, verschiedenen Arealen des Hypothalamus und im ventralen Hippokampus negativ mit der Motivationsschwelle korreliert. Es ist nicht vollständig auszuschließen, dass dieser Korrelationseffekt auf die Normalisierung zurückzuführen ist: Wie im Material und Methodenteil ausführlich erläutert (vgl. 2.6.4.2) wurden alle FDOPA-Bilder, wie es auch in humanen FDOPA-Studien üblich ist, auf das Cerebellum normalisiert (Kumakura & Cumming, 2009). Das Cerebellum verfügt jedoch bei der Ratte über einige wenige und dünne dopaminerge Eingangsfasern (vgl. Material und Methoden 2.6.4.2; Panagopoulos *et al.*, 1991), die möglicherweise den negativen Korrelationseffekt beeinflussen könnten. Durch diese dünnen Eingangsfasern könnte theoretisch bei unterschiedlich starker motorischer Bewegung ein Normalisierungsfehler entstehen, da mehr FDOPA-Aktivität herausgerechnet worden sein könnte, als erforderlich gewesen wäre. Dieser Unterschied ist jedoch wahrscheinlich nur minimal, da die visuelle Kontrolle der Normalisierung zeigte, dass die FDOPA-Bilder nach der Normalisierung sehr ähnlich aussahen (vgl. Material und Methoden 2.6.4.2). Außerdem betrug die Nettoaktivität im Cerebellum nach der Normalisierung genau eins. Es ist dennoch nicht vollständig auszuschließen, dass auch ein geringer Normalisierungsfehler zu einer Unterinterpretation der Unterschiede zwischen den Bedingungen führen kann.

Wie auch schon im Material und Methodenteil erläutert, ist zudem der Abbau von FDOPA in seine Metabolite und der dadurch entstehende Fehler kein Problem, das nur im Verhaltens-PET besteht. Dies muss auch bei dynamischen PET-Messungen beachtet werden, bei denen das FDOPA zeitgleich mit dem Beginn des Emissionscans injiziert wird (Kumakura & Cumming, 2009). Kumakura und Cumming

(2009) schlagen daher ein Modell vor, in dem auch die Auswaschung der FDOPA-Metabolite berücksichtigt wird. Allerdings ist es für diese Methode notwendig, regelmäßig arterielle Blutproben zu entnehmen (Kumakura *et al.*, 2010). Dies ist aber im Verhaltens-PET nicht möglich, da das Tier während der Akkumulation des Radiopharmakons im Verhaltensversuch ist. In der vorliegenden Arbeit wurde auch getestet, ob die Normalisierung möglicherweise über eine Korrektur optimiert werden kann (nicht gezeigt). Unter anderem wurde getestet, ob eine Korrektur des Normalisierungswerts in Abhängigkeit von der injizierten FDOPA-Menge zu einer Verbesserung führt. Keine der getesteten Methoden hatte eine sichtbare Optimierung zur Folge.

### 5.2.2 FDG- und FDOPA-Verhaltens-PET

Sowohl im FDG-Verhaltens-PET als auch im FDOPA-Verhaltens-PET betrug die Aktivitätsdifferenz zwischen den Testbedingungen meist zwischen 8 und 12 %. Dies entspricht vorherigen Verhaltens-PET Studien (Endepols *et al.*, 2010; Rohleder *et al.*, 2014).

Wie in der Einleitung ausführlich erläutert, wird besonders dem ACC eine wichtige Funktion bei der Förderung zielgerichteter, motivationsassoziierter Handlungsweisen zugesprochen (vgl. Einleitung 1.5.1). Daher sollen die FDG- und FDOPA-Verhaltens-PET Ergebnisse zunächst in Bezug auf dieses Areal diskutiert werden.

In der Durchlaufkontrolle war die FDG-Aktivität im ACC im Vergleich zu den Messungen bei hohem Motivationslevel höher. Wie vor allem aus dem Aktivitätsdifferenzbild hervorgeht, war dies auch für den Vergleich zwischen der Durchlaufkontrolle und der Messung bei reduzierter Motivation der Fall. Allerdings war dieser Unterschied nur für wenige Voxel signifikant. Eine Interpretationsmöglichkeit ist, dass die erhöhte Aktivität in der Durchlaufkontrolle auch durch eine erhöhte Ruheaktivität zustande kommt (vgl. 5.2.1). Dies ist jedoch unwahrscheinlich, da dann erstens keine Unterschiede zwischen der Messung bei reduzierter Motivation und der Durchlaufkontrolle zu erwarten wären und zweitens beobachtet wurde, dass die Tiere zunächst weiterhin versuchten, an der Nosepoke-Einheit Erfolg zu haben. Hinzu kommt, dass über die Kamera beobachtet wurde, dass die Versuchstiere

darüber frustriert waren, dass der Versuch nicht weiterlief. Dies äußerte sich zum Beispiel darin, dass die Tiere sich in der operanten Konditionierungsbox sehr unruhig verhielten und nach dem Versuch gereizter wirkten. Die Versuchstiere wurden zudem nur im PET mit dieser Situation konfrontiert, so dass sie nicht an die Bedingung gewöhnt waren. Auch in Extinktionsversuchen, in denen der übliche Versuch weiterläuft, ohne dass eine Belohnung erfolgt, wird beobachtet, dass die Tiere zunächst mit dem Versuch weitermachen, dies aber mit der Zeit immer weniger wird (vgl. Review Berridge, 1996). Ein solcher Umgang mit Extinktion ist auch essentiell, da in einer sich ständig verändernden Umwelt eine schnelle Anpassung überlebensnotwendig ist (Berridge, 1996). Die erhöhte metabolische Aktivität im ACC bei der Durchlaufkontrolle könnte also dadurch bedingt sein, dass die Bereitschaft da war, bekannte Verhaltensweisen an die neue Situation anzupassen um Belohnung zu erhalten. Wie in der Einleitung ausführlich erläutert, entspricht dies der Literatur: Dem ACC wird eine Funktion bei der Überwachung und Optimierung von Handlungsstrategien zugesprochen (vgl. 1.5.1; Walton *et al.*, 2007; Rushworth & Behrens, 2008). Im FDG-Verhaltens-PET konnte kein Zusammenhang zwischen der metabolischen Aktivität und der Motivationsschwelle beobachtet werden. Dies könnte jedoch dadurch bedingt sein, dass der ACC auch an der Regulation verschiedener anderer komplexer Verhaltensweisen wie Fehlerdetektion und Handlungsüberwachung eine Rolle spielt (Holroyd & Coles, 2002; Weible, 2013), die für die Motivationsaufgabe relevant waren, aber nicht direkt mit der Motivationsschwelle *per se* zusammenhängen. Wie im späteren Abschnitt noch erläutert wird, wurde allerdings postoperativ ein Zusammenhang zwischen der Motivationsschwelle und der FDG-Aktivität im ACC festgestellt (vgl. 6.5.1.2).

Der Vergleich zwischen den FDOPA-Bedingungen ergab keinen Aktivitätsunterschied im ACC. Dies entspricht nicht den Erwartungen, da, wie in der Einleitung erwähnt, vor allem Dopamin als kritischer Neurotransmitter für die Regulation von Motivationsverhalten fungiert (Salamone *et al.*, 1994; Schweimer & Hauber, 2006; Holroyd & Yeung, 2012). Unter anderem führt die Blockade von D<sub>1</sub>-Rezeptoren zu einer Verschiebung von Kosten-Nutzen-Abwägungen (vgl. Einleitung 1.5.3, Schweimer & Hauber, 2006). In einer anderen Studie führte die systemische Gabe eines D<sub>2</sub>-Rezeptorantagonisten zu einer ähnlichen Beeinträchtigung (Walton *et al.*, 2009). Anzunehmen ist, dass beide Rezeptortypen für

die Motivationsaufgabe und auch Kosten-Nutzen-Abwägungen wichtig sind (Floresco *et al.*, 2008b; Walton *et al.*, 2009), die FDOPA-PET-Methode aber nicht sensitiv genug ist, um diese zu detektieren. Außerdem ist die Beteiligung anderer Neurotransmitter wie zum Beispiel Glutamat wahrscheinlich (Floresco *et al.*, 2008b), so dass das erhöhte FDG-Signal in der Durchlaufkontrolle auch dadurch bedingt sein könnte.

Die metabolische Aktivität war vor allem linkshemisphärisch in einigen zentralen Arealen des Belohnungssystems bei hoher Motivation niedriger als nach Vorfütterung. Dies betraf sowohl die Kern- und Schalenregion des Ncl. Accumbens, den OFC als auch das ventrale Pallidum. Diese Aktivitätsunterschiede waren deutlich mit der Menge gefressener Belohnung korreliert, d. h., dass die metabolische Aktivität von der Menge der gefressenen Zuckerpellets vor und während des Versuchs abhängig war. Je mehr Zuckerpellets gefressen wurden, desto höher war die metabolische Aktivität in diesen Arealen. In Bezug auf den Versuch bedeutet dies, dass die Aktivität in diesen belohnungs- und motivationsassoziierten Arealen nach Vorfütterung besonders hoch war. Dies betraf auch die Voxel im olfaktorischen Tuberkulum, im Hypothalamus, in der Amygdala und im Hippokampus. Wie für einige Areale auch schon in der Einleitung erläutert, gehören diese Areale alle zum Belohnungssystem (Ikemoto, 2007; Koob & Volkow, 2010; Russo & Nestler, 2013). Vor allem die Aktivität im Hippokampus und vielleicht auch im OFC ist jedoch wahrscheinlich auf eine erhöhte Ruheaktivität nach der Vorfütterung zurückzuführen (vgl. 5.2.1).

Im FDOPA-Verhaltens-PET zeigte der Vergleich beider Motivations-Bedingungen, dass die dopaminerge Aktivität einiger Voxel beidseitig in der Kernregion und in der linken Schalenregion des Ncl. Accumbens dann höher war, wenn die Motivation hoch war. Auch hier zeigte die Korrelationsanalyse eine Abhängigkeit von der Menge der gefressenen Belohnung: Je mehr Belohnung die Versuchstiere vor und nach dem Versuch gefressen hatten, desto niedriger war die Aktivität im Ncl. Accumbens. Auch in Arealen des Hypothalamus, im ventralen und dorsalen Subiculum war die Dopaminaktivität bei hoher Motivation stärker als nach Vorfütterung.

Der Vergleich zwischen dem FDG- und FDOPA Verhaltens-PET zeigt, dass die prä-

synaptische dopaminerge Aktivität in einigen belohnungs- und motivationsassoziierten Arealen dann höher war, wenn die Tiere hungrig und motiviert waren im Versuch mitzuarbeiten. Umgekehrt war die metabolische Aktivität teilweise in den gleichen Arealen in dieser Bedingung reduziert. Dies wird im Folgenden nun für die verschiedenen Areale diskutiert.

Wie bereits erwähnt, könnte die erhöhte Aktivität im OFC bei reduzierter Motivation auch durch eine erhöhte Ruheaktivität zu erklären sein. Allerdings sind die Ergebnisse in der Literatur inkonsistent (Corbit *et al.*, 2003; Shimura *et al.*, 2006; Papp *et al.*, 2012). Der OFC wird sowohl beim Menschen als auch bei Ratten mit Belohnungsbewertung in Verbindung gebracht (Gallagher *et al.*, 1999; vgl. Review Wallis, 2012). Verschiedene humane funktionelle MRT-Studien zeigen, dass der OFC belohnende Stimuli z. B. in Form von Geld oder Nahrung kodiert (Knutson *et al.*, 2003, Valentin *et al.*, 2007). Eine ähnliche Funktion wird dem OFC im Hinblick auf die Kodierung aversiver und schmerzhafter Stimuli zugesprochen, wobei fMRT-Studien darauf hindeuten, dass der mediale OFC beim Menschen eher belohnende und der laterale OFC eher aversive Stimuli verarbeitet (Gottfried *et al.*, 2002; Rolls *et al.*, 2003). Bei Ratten führen Läsionen im lateralen und ventralen OFC dazu, dass die Entwertung eines zuvor belohnenden Stimulus nicht dazu führt, dass dieser Stimulus seltener ausgewählt wird, obwohl dies bei Kontrolltieren wie zu erwarten der Fall ist (Gallagher *et al.*, 1999). Weitere Studien mit Ratten unterstützen die Annahme, dass der OFC auch bei Ratten eine wichtige Funktion bei der Stimulusbewertung spielt (Keiflin *et al.*, 2013; Zeeb & Winstanley, 2013). Dass die FDG-Aktivität im OFC höher war, wenn Versuchstiere besonders viel Belohnung gefressen hatten, könnte also auch darauf zurückzuführen sein, dass das Genussgefühl nach der Vorfütterung besonders hoch war. Diese Annahme wird auch durch eine humane fMRT-Studie gestützt, die zeigte, dass die Blutflussantwort im OFC dann besonders hoch war, wenn die Versuchspersonen das Verspeisen von Süßem als besonders genussvoll empfanden (Small *et al.*, 2001; Kringelbach *et al.*, 2003). In der vorliegenden Studie unterschied sich die FDG-Aktivität außerdem zwischen der Durchlaufkontrolle und der Messung bei hoher Motivation. Die Motivation war zwar in beiden Bedingungen hoch, aber in der Durchlaufkontrolle durften die Versuchstiere nur so viele Durchläufe machen, wie sie zuvor in der Messung bei reduzierter Motivation erreicht hatten (vgl. Material und Methoden 2.6.3). In diesem

Zusammenhang muss beachtet werden, dass die Tiere an die reguläre Durchführung der Motivationsaufgabe gewöhnt waren, an die Durchlaufkontrolle aber nicht. Die Versuchstiere erhielten folglich weniger Belohnung als bei der regulären Messung bei hoher Motivation, so dass anzunehmen ist, dass das Frustrationsgefühl in dieser Bedingung besonders hoch war. In der Literatur gibt es Hinweise darauf, dass der OFC auch eine funktionelle Rolle bei der Neuorientierung nach enttäuschendem Ausgang und der Anpassung von Strategien spielt (Ghods-Sharifi *et al.*, 2008; Steiner & Redish, 2012; Wallis, 2012; Rudebeck *et al.*, 2013). Außerdem wird der OFC mit der Stimulusbewertung in Verbindung gebracht (Wallis, 2012; Rudebeck *et al.*, 2013). Möglich ist, dass die erhöhte OFC Aktivität in der Durchlaufkontrolle zum einen durch den enttäuschenden Ausgang bedingt ist und zum anderen auf den Versuch, die Strategie anzupassen, um weiterhin belohnt zu werden, zurückzuführen ist.

Im linken Ncl. Accumbens verhielt sich der metabolische Aktivitätsvergleich zwischen den Bedingungen ähnlich wie im OFC. Auch hier war die FDG-Aktivität in der Messung bei hohem Motivationslevel niedriger als in der Durchlaufkontrolle und nach Vorfütterung. Die Korrelationsanalyse, in der die Messungen bei hoher und reduzierter Motivation berücksichtigt wurden, zeigte außerdem einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Menge der gefressenen Pellets und der FDG-Aktivität: Wie im OFC auch war die FDG-Aktivität höher, wenn vor und während des Versuchs viel Belohnung gefressen wurde. Die Ergebnisse des FDOPA-PETs zeigten aber das Gegenteil: Nach Vorfütterung war die präsynaptische FDOPA-Aktivität niedriger als bei hoher Motivation und in der Durchlaufkontrolle. Die präsynaptische FDOPA-Aktivität zwischen der Messung bei hoher Motivation und der Durchlaufkontrolle unterschied sich hingegen nicht. Der Vergleich zwischen den Ergebnissen des FDG- und FDOPA-PET lässt vermuten, dass die reduzierte metabolische Aktivität im Ncl. Accumbens durch nicht-dopaminerge Aktivität zu erklären ist. Bevor dies näher erläutert wird, werden jedoch zunächst die FDOPA-Ergebnisse diskutiert.

Der Ncl. Accumbens wird in der Literatur als Schnittstelle zwischen dem limbischen und motorischen System angesehen und gilt als zentrales Areal des Belohnungssystems (Mogenson *et al.*, 1980). Wie in der Einleitung ausführlich erläutert

wird dem Ncl. Accumbens eine Funktion innerhalb des Motivationsnetzwerks zugesprochen wobei Dopamin eine zentrale Rolle zu spielen scheint. Die Funktionen des Ncl. Accumbens sind jedoch sehr komplex (Di Chiara, 2002). Dass das FDOPA-Signal höher war wenn der Hunger größer war entspricht den Erwartungen. In mehreren Studien wurde gezeigt, dass das extrazelluläre Dopaminsignal besonders hoch war, wenn die Tiere hungrig waren und nach Vorfütterung sank (Wilson *et al.*, 1995; Ostlund *et al.*, 2011; Nunes *et al.*, 2013). 6-Hydroxydopamin (6-OHDA)-Läsionen im Ncl. Accumbens, wodurch selektiv Dopaminneurone zerstört werden, führen zu einer geringeren Motivation im Versuch mitzuarbeiten (Lex & Hauber, 2010). In einer Studie von Ostlund *et al.* (2011) wurde das extrazelluläre Dopaminsignal während einer Kosten-Nutzen-Abwägungsaufgabe (vgl. 1.5.1, 5.1) in Abhängigkeit vom Motivationslevel gemessen. In dieser Studie war die extrazelluläre Dopaminaktivität in der Schalen- und Kernregion dann besonders hoch, wenn die Versuchstiere hungrig waren. Wurde das Motivationslevel jedoch gesenkt, in dem die Tiere vorgefüttert wurden, nahm das extrazelluläre Dopaminsignal sowohl in der Kern- als auch in der Schalenregion ab. Die erhöhte dopaminerge Aktivität wurde in dieser Studie wie auch in den anderen oben zitierten Studien vor allem mit einem erhöhten tonischen Dopaminsignal erklärt (vgl. Einleitung 1.5.2). Über die tonische Ausschüttung wird das Dopaminlevel auf einem bestimmten Baselinelevel gehalten, das Aufschluss über den Motivationsstatus des Tiers geben könnte (Wilson *et al.*, 1995; Ostlund *et al.*, 2011; Nunes *et al.*, 2013). Wie in der Einleitung erwähnt scheinen Dopaminneurone nur aus dem tonischen Zustand, nicht aber aus dem inaktiven, ins phasische Burstfeuern übergehen zu können. Eine erhöhte tonische Aktivität ist also wichtig, um auf verhaltensrelevante Stimuli, die hauptsächlich über phasische Aktivität kodiert werden, antworten zu können (vgl. Einleitung 1.5.2; Grace *et al.*, 2007). Die Funktionen von Dopamin in Bezug auf belohnungs- und motivationsassoziiertes Verhalten sind vielfältig. Über motivations- und belohnungsrelevante Stimuli scheint der Ncl. Accumbens dazu zu verhelfen, Verhalten in einer sich verändernden Umwelt anzupassen und zu optimieren (Salamone *et al.*, 2007; Schultz, 2007). Dopamin im Ncl. Accumbens wird mit verschiedenen verhaltensrelevanten Stimuli in Verbindung gebracht. So kodieren Dopaminneurone im Ncl. Accumbens auch den Belohnungsvorhersagefehler (Schultz, 2007) und Dopamin ist im Ncl. Accumbens an der Regulation von

Prozessen wie Aufmerksamkeitskontrolle oder Entscheidungsfindung beteiligt (Block *et al.*, 2007; Pezze *et al.*, 2007; Salamone *et al.*, 2007; Kurniawan *et al.*, 2011). Die erhöhte FDOPA-Aktivität bei hohem Motivationslevel könnte also auch auf verschiedene verhaltensregulatorische Funktionen zur Optimierung zielgerichteten Verhaltens zurückzuführen sein.

Dass die metabolische Aktivität im gesamten Ncl. Accumbens nach Vorfütterung höher war als bei hohem Motivationslevel scheint zunächst ein Widerspruch zu der erhöhten FDOPA-Aktivität in der letztgenannten Bedingung zu sein. Das Striatum besteht hauptsächlich aus sogenannten „*Medium Spiny Neuronen*“ die GABAerg sind und Dopamin scheint maßgeblich an der Regulation dieser Neurone beteiligt zu sein (Bentivoglio & Morelli, 2005; Surmeier *et al.*, 2007). Sowohl Glutamat als auch GABA wird in der Schalenregion des Ncl. Accumbens mit der Regulation von Fressverhalten assoziiert (Stratford & Kelley, 1997; Stratford *et al.*, 1998). Des Weiteren könnte die erhöhte Aktivität im Ncl. Accumbens nach der Vorfütterung durch einen erhöhten Input aus dem Hypothalamus zu erklären sein. Vor allem Verbindungen zwischen dem lateralen Hypothalamus und dem Ncl. Accumbens sind wichtig für die Regulation von Fressverhalten (vgl. Review Stanley *et al.*, 2011). Ein höhere Aktivität nach Vorfütterung könnte also durch eine erhöhte regulatorische Funktion des Fressverhaltens bedingt sein.

Wie schon erwähnt führt die systemische Gabe von D<sub>2</sub>-Rezeptorantagonisten außerdem zu einer Beeinträchtigung bei Kosten-Nutzen-Abwägungen (Walton *et al.*, 2009). Des Weiteren führt die Injektion von D<sub>1</sub>- und auch von D<sub>2</sub>-Rezeptoragonisten sowohl in die Schalen- als auch in der Kernregion dazu, dass Ratten sich eher für eine frei verfügbare, aber schlechtere Belohnung entscheiden, statt für eine bessere Belohnung Hebel zu drücken (Nowend *et al.*, 2001). Dies impliziert, dass sowohl Rezeptoren vom D<sub>1</sub>- als auch vom D<sub>2</sub>-Typ an der Regulation von motivationsassoziiertem Entscheidungsverhalten beteiligt sind. Im Ncl. Accumbens ist die Konzentration beider Rezeptorgruppen hoch (Beaulieu & Gainetdinov, 2011). Beide Rezeptortypen regulieren die GABAergen „*Medium Spiny Neurone*“ (Surmeier *et al.*, 2007). Wie in der Einleitung erwähnt, haben D<sub>1</sub>-Rezeptoren eine exzitatorische Wirkung und D<sub>2</sub>-Rezeptoren eine inhibitorische. Da FDOPA-PET lediglich ein Maß für die präsynaptische Dopaminaktivität ist, kann anhand der

vorliegenden Ergebnisse keine weitere Aussage darüber getroffen werden, mit welcher Rezeptorgruppe das erhöhte FDOPA-Signal eher assoziiert ist. Eine Interpretationsmöglichkeit ist aber, dass die reduzierte FDG-Aktivität im Ncl. Accumbens durch die inhibitorische erhöhte D<sub>2</sub>-Rezeptoraktivität bei hoher Motivation zustande gekommen ist.

Die metabolische Aktivität im Ncl. Accumbens unterschied sich auch zwischen der Durchlaufkontrolle und der Messung bei hoher Motivation: Auch hier war die FDG-Aktivität in der Durchlaufkontrolle höher als in der regulären Messung bei hoher Motivation. Die FDOPA-Aktivität unterschied sich zwischen den beiden Bedingungen im Ncl. Accumbens nicht signifikant. Auffällig war aber, dass im Vergleich zur Messung nach Vorfütterung in der Durchlaufkontrolle eine größere Voxelgruppe signifikant war als es in der regulären Messung bei hoher Motivation der Fall war. Wie bereits in Bezug auf den ACC erläutert, könnten die Tiere in der Durchlaufkontrolle nach einer neuen Strategie gesucht haben um mehr Belohnung zu erhalten. Der Ncl. Accumbens erhält dichten glutamatergen Eingang aus frontalen Arealen wie dem prälimbischen Kortex und dem ACC (Grace *et al.*, 2007; Nunes *et al.*, 2013). Präfrontalen Arealen, aber auch dem Ncl. Accumbens wird eine kritische Funktion bei der Anpassung von Handlungsstrategien zugesprochen (Block *et al.*, 2007). Zudem ist anzunehmen, dass die Motivation in der Durchlaufkontrolle höher war, da die Tiere weniger Belohnung erhielten und der Anreiz vermutlich entsprechend höher war. Auch die erhöhte FDG- und FDOPA-Aktivität in der Durchlaufkontrolle im Caudate-Putamen könnte ähnlich bedingt sein. Die FDG-Aktivitätsunterschiede betrafen vor allem den dorsomedialen Teil des Caudate-Putamen. In der Literatur wird dieses Areal vor allem mit der Kontrolle zielgerichteter Verhaltensweisen und Verhaltensflexibilität in Verbindung gebracht (Balleine & O'Doherty, 2010; Lindgren *et al.*, 2013). Im Vergleich zur Messung bei hoher Motivation war die Dopaminaktivität dagegen vor allem im dorsolateralen Striatum höher. Wie in der Einleitung beschrieben reguliert Dopamin Bewegungen vor allem über den nigrostriatalen Projektionsweg, der das Caudate-Putamen dicht innerviert. Dass das FDOPA-Signal in der Durchlaufkontrolle höher war als in der Messung bei hoher Motivation lässt annehmen, dass sich die Tiere mehr bewegten. Wie bereits erwähnt, wurde auch immer wieder beobachtet, dass die Tiere mehr

ungerichtete Bewegungen machten, vermutlich aufgrund von Frustration darüber, dass der Versuch nicht weiterlief.

Im FDG-Verhaltens-PET gab es weitere Aktivitätsunterschiede im ventralen Pallidum. Hier verhielt sich die FDG-Aktivität ähnlich wie im Ncl. Accumbens: Auch hier war die metabolische Aktivität bei der regulären Messung bei hoher Motivation am niedrigsten: Sowohl im Vergleich zur Durchlaufkontrolle als auch im Vergleich zur Messung nach Vorfütterung war dieser Unterschied signifikant. Das ventrale Pallidum besteht hauptsächlich aus GABAergen Neuronen und erfüllt verschiedene Funktionen im Hinblick auf die Regulation von belohnungs- und motivationsassoziiertem Verhalten (vgl. Review Smith *et al.*, 2009). Das ventrale Pallidum scheint außerdem an der Regulation der Aktivität dopaminergener Neurone in der VTA beteiligt zu sein (Grace *et al.*, 2007). Neurone aus dem ventralen Pallidum scheinen Dopaminneurone in der VTA zu inhibieren und so tonisches Feuern zu verhindern. Es wird angenommen, dass der Ncl. Accumbens wiederum über die Inhibition des ventralen Pallidum tonisches Feuern in der VTA fördert (Grace *et al.*, 2007). Die niedrigere FDG-Aktivität bei hoher Motivation könnte durch einen verringerten inhibitorischen Eingang aus dem Ncl. Accumbens bedingt sein. Dies steht auch im Einklang mit den Ergebnissen des FDOPA-PET, da hier wie oben diskutiert zumindest die Dopaminaktivität im Ncl. Accumbens höher war, wenn die Tiere hungrig waren. Wie in der Einleitung (vgl. 1.5.2) erläutert, erhält der Ncl. Accumbens hauptsächlich dopaminergen Eingang aus der VTA. Außerdem wird der Verbindung zwischen der Schalenregion des Ncl. Accumbens, dem ventralen Pallidum und dem lateralen Hypothalamus eine kritische Funktion bei der Regulation von Fressverhalten zugesprochen (Stratford *et al.*, 1999). Das ventrale Pallidum erhält dichten inhibitorischen Eingang aus dem Ncl. Accumbens und die Blockade von GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren fördert das Fressverhalten bei eigentlich gesättigten Ratten (Stratford *et al.*, 1999). Die erhöhte FDG-Aktivität nach der Vorfütterung könnte entsprechend auch auf einen erhöhten inhibitorischen Eingang aus der Schalenregion des Ncl. Accumbens zurückzuführen sein. Dass die metabolische Aktivität jedoch in der Durchlaufkontrolle im ventralen Pallidum höher war als bei hoher Motivation und sich die Aktivität gleichzeitig nach der Vorfütterung nicht unterschied, hat vermutlich eine andere Ursache: Wäre dies durch das Futterverhalten *per se* oder die Regulation der Dopaminneurone in der VTA bedingt, wäre eine

niedrigere FDG-Aktivität zu erwarten gewesen. Das ventrale Pallidum erhält jedoch auch glutamergen Eingang aus verschiedenen präfrontalen Arealen (Smith *et al.*, 2009). Funktionell wird dem ventralen Pallidum nicht nur eine Funktion im Hinblick auf den Erhalt, sondern auch auf das Streben nach Belohnung zugesprochen, wobei die neuronalen Mechanismen noch weitgehend ungeklärt sind (Smith *et al.*, 2009). Das erhöhte FDG-Signal in der Durchlaufkontrolle könnte möglicherweise auf eine solche Funktion des ventralen Pallidums zurückzuführen sein.

Des Weiteren unterschied sich die FDG-Aktivität zwischen den Bedingungen in der Amygdala: Nach Vorfütterung war die Aktivität in der linken Amygdala höher als bei hoher Motivation. Die Korrelationsanalyse zeigte weiter, dass die FDG-Aktivität dann besonders hoch war, wenn die Versuchstiere viel Belohnung gefressen hatten. Die Amygdala scheint sowohl positive als auch negative Stimuli zu kodieren (Burgdorf & Panksepp, 2006). Vor allem die Aktivierung nach positiven Stimuli ist in der Literatur aber nicht konsistent: Während einige Humanstudien bei der Präsentation positiver Anreize mittels PET oder fMRT eine Aktivierung der Amygdala beobachteten (Beauregard *et al.*, 2001; Knutson *et al.*, 2001; Hamann *et al.*, 2002), konnte dies in anderen Studien nicht bestätigt werden (Dolan *et al.*, 1996; Damasio *et al.*, 2000). Die Unterschiede zwischen den Studien könnten dadurch bedingt sein, dass die Aktivierung der Amygdala vor allem bei positiven Stimuli auch von der Stärke des Glücksgefühls abzuhängen scheint (Zald, 2003). Da davon auszugehen ist, dass in der vorliegenden Studie die Zufriedenheit nach der Vorfütterung groß war, ist wahrscheinlich, dass die erhöhte FDG-Aktivität auf die Kodierung positiver Emotionen zurückzuführen ist. Weiterhin gab es jedoch einen negativen Korrelationseffekt in der Amygdala: In der regulären Messung bei hoher Motivation war die FDG-Aktivität rechtshemisphärisch negativ mit der Motivationsschwelle korreliert. Die Amygdala wird mit der Regulation verschiedener Emotionen in Verbindung gebracht (Cardinal *et al.*, 2002; Fernando *et al.*, 2013). Der Korrelationseffekt könnte darauf zurückzuführen sein, dass das Frustgefühl bei den Tieren mit geringerer Motivationsschwelle höher war, da sie weniger Belohnung erhielten. Andererseits könnte dieser Effekt aber z. B. auf ein unterschiedliches Angstverhalten der Tiere zurückzuführen sein. Allerdings ist diese Erklärung unwahrscheinlich, da die Tiere an die operante Konditionierungsbox und die Umgebung gewöhnt waren.

Des Weiteren unterschied sich die FDG-Aktivität im ventralen Hippokampus: Im Vergleich zur Durchlaufkontrolle war die Aktivität hier höher, wenn die Versuchstiere hochmotiviert waren. Dem ventralen Hippokampus wird unter anderem eine Funktion bei der Kontrolle von Impulsivität zugesprochen (Cheung & Cardinal, 2005; Abela *et al.*, 2013; Zoratto *et al.*, 2013). Dies äußert sich unter anderem darin, dass die Läsionen im ventralen Hippokampus bei Ratten dazu führen, dass das Abwarten auf eine größere Belohnung schwerer fällt und folglich eine kleinere Belohnung, die sofort verfügbar ist, bevorzugt gewählt wird (Cheung & Cardinal, 2005; Abela *et al.*, 2013). Die erhöhte FDG-Aktivität in der Messung bei hoher Motivation könnte also dadurch bedingt sein, dass in dieser Bedingung insgesamt mehr Durchläufe gemacht wurden, in denen eine Wartezeit eingehalten werden musste als in der Durchlaufkontrolle. Somit war in dieser Bedingung eine stärkere Kontrollfunktion des Hippokampus erforderlich. Wie bereits in Abschnitt 5.2.1 erwähnt, sind die Unterschiede zwischen der Messung bei hoher und reduzierter Motivation dagegen eher auf eine erhöhte Ruheaktivität nach der Vorfütterung zurückzuführen.

Die FDG-Aktivität in der Substantia nigra pars compacta und auch in der Substantia nigra pars reticulata war höher, wenn die Tiere hungrig waren. Dies traf sowohl auf die reguläre Messung bei hoher Motivation zu als auch auf die Durchlaufkontrolle. Der Aktivitätsunterschied in der Substantia nigra pars compacta steht im Einklang mit den Ergebnissen des FDOPA-PETs. Wie in der Einleitung erläutert, ziehen die dopaminergen Axone aus der Substantia nigra pars compacta in das Striatum. Die FDOPA-Aktivität war in beiden Bedingungen im Ncl. Accumbens höher und wie bereits erwähnt traf dies in der Durchlaufkontrolle auch auf das Caudate-Putamen zu. Wie in der Einleitung beschrieben, ziehen die dopaminergen Fasern aus dem Mittelhirn über verschiedene Projektionswege in das Caudate-Putamen. Die erhöhte FDG-Aktivität ist also vermutlich auf eine stärkere Dopaminaktivität im Striatum zurückzuführen. Dass der Aktivitätsunterschied in der VTA nicht beobachtet wurde, liegt wahrscheinlich an der PET-Auflösung: Wie im Material und Methodenteil ausführlich erläutert, beträgt die Schichtdicke im PET 0,8 mm. Die VTA ist bei der Ratte sehr klein, so dass es möglich ist, dass ein potentieller Unterschied zwischen den Bedingungen nicht detektiert werden konnte.

Die Substantia nigra pars reticulata wird zusammen mit dem Globus pallidus internus als wichtiger Ausgang der Basalganglien beschrieben und ist unter anderem an der Kontrolle von Bewegungen beteiligt (vgl. Review Utter & Basso, 2008). Die erhöhte metabolische Aktivität ist also wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die Versuchstiere sich sowohl in der Durchlaufkontrolle als auch bei hohem Motivationslevel mehr bewegten.

Die Korrelationsanalyse mit der Motivationsschwelle ergab außerdem, dass die FDG-Aktivität in der Habenula sowie in einigen medialen und lateralen thalamischen Arealen dann höher war, wenn die Motivationsschwelle hoch war. Die Habenula wird sowohl mit der Kodierung belohnungsrelevanter als auch aversiver Stimuli in Verbindung gebracht. Auch der Habenula wird eine Funktion bei der Kodierung motivationsrelevanter Stimuli zugesprochen (Hikosaka, 2010). Neurone in der lateralen Habenula scheinen belohnungsassoziiertes Feedback zu kodieren und Dopaminneurone im Mittelhirn über indirekten inhibitorischen Input aus dem Ncl. tegmentalis rostromedialis zu regulieren (Ji & Shepard, 2007; Matsumoto & Hikosaka, 2007; Hikosaka, 2010). In einer fMRT-Studie wurde die Habenula ebenfalls mit negativem Feedback-Signal assoziiert (Ullsperger & von Cramon, 2003). Die Assoziation einer höheren Motivationsschwelle mit einer erhöhten Habenulaaktivität ist folglich wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass mit einer erhöhten Motivationsschwelle auch eine verstärkte Kontrolle belohnungsassoziierten Verhaltens einherging. Gleichzeitig gab es einen negativen Korrelationseffekt in der Substantia nigra pars compacta und pars reticulata. Dies könnte eine direkte Folge der Habenulaaktivität sein: Die elektrische Stimulation von Neuronen in der lateralen Habenula führt zur Inhibition von 85-91 % der dopaminergen Neurone in der VTA und in der Substantia nigra pars compacta (Christoph *et al.*, 1986).

Die erhöhte Aktivität im mediodorsalen Thalamus könnte unmittelbar auf eine erhöhte Motivation zurückzuführen sein: Der mediodorsale Thalamus erhält sowohl dichten Eingang aus dem ACC als auch aus dem prälimbischen Kortex (Gabbott *et al.*, 2005). Über die Basalganglien-Kortex-Schleifen ist dieses Areal an der Regulation verschiedener limbischer Funktionen beteiligt (Bonelli & Cummings, 2007). Wie in der Einleitung erwähnt, können auch Läsionen im medi-

odorsalen Thalamus zu apathischen Symptomen führen (Engelborghs *et al.*, 2000). Außerdem ist der mediodorsale Thalamus wichtig für die Bewertung von Belohnung. Läsionen in diesem Areal führen bei Ratten dazu, dass ein entwerteter Stimulus weiterhin ähnlich häufig gewählt wird wie ein Stimulus mit höherem Belohnungswert (Corbit *et al.*, 2003). Möglich ist daher auch, dass die erhöhte Aktivität im mediodorsalen Thalamus bei den Tieren mit höherer Motivationsschwelle dadurch bedingt ist, dass diese Tiere Belohnung *per se* als positiver empfanden als die Tiere mit niedrigerer Motivationsschwelle.

### 5.3 Fazit

Mit der Motivationsaufgabe wurde ein Paradigma konzipiert mit dem Motivationsverhalten in Abhängigkeit vom Motivationslevel gemessen werden kann. Wie in der Einleitung erläutert, gehören apathische Störungen zu den häufigsten Symptomen nach einem ACA-Infarkt beim Menschen (Kumral *et al.*, 2002; Arboix *et al.*, 2009). In vorherigen Studien die sich mit den Auswirkungen eines ACA-Infarkts bei der Ratte beschäftigten, wurde Motivationsverhalten *per se* nicht untersucht, obwohl es Hinweise darauf gibt, dass es bei Ratten auch zu motivationalen Beeinträchtigungen nach ACAo kommt (vgl. Einleitung 1.3.1; Ward *et al.*, 1998; Endepols *et al.*, 2014). Sowohl die Kombination der Motivationsaufgabe mit FDG- als auch mit FDOPA-PET bestätigte, dass es sich um eine geeignete Methode handelt um motivations- und belohnungsrelevante Areale mittels PET zu detektieren.

Anhand des unterschiedlichen Aktivierungsmusters des Ncl. Accumbens im FDG- und FDOPA-PET in Abhängigkeit von der Testbedingung, wird deutlich, dass es sinnvoll ist im Verhaltens-PET mit unterschiedlichen Radiopharmaka zu arbeiten. Auf diese Weise können wesentlich mehr Informationen über Gehirnareale gewonnen werden, die für die untersuchten Verhaltensweisen relevant sind. Die Interpretation der Verhaltens-PET Daten ist jedoch komplex. Für die Untersuchung von motivations- und belohnungsrelevantem Verhalten im unbehandelten Tier sollte daher, wie bereits erläutert, eine Anpassung der Kontrollbedingung und die Einführung weiterer Verhalten-PET Bedingungen in Betracht gezogen werden.

## 6 Ergebnisse der longitudinalen Schlaganfallstudie

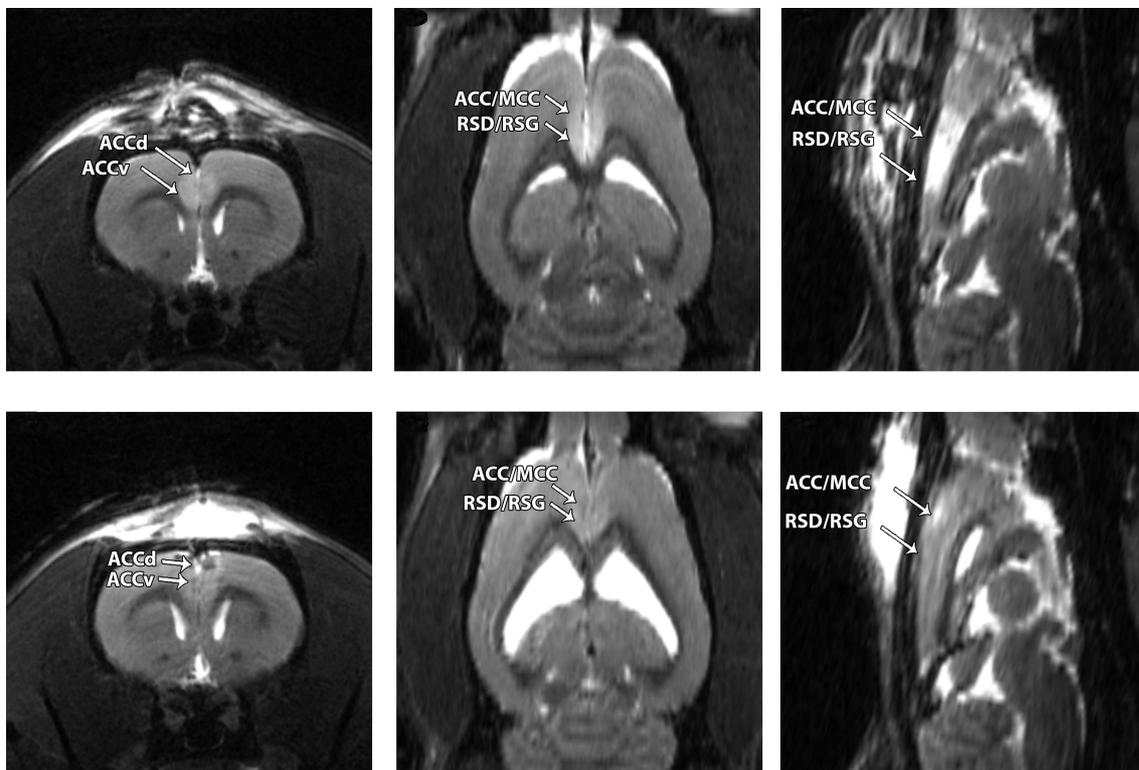
### 6.1 Läsionen nach Okklusion der ACA

Insgesamt konnten die postoperativen Messungen mit 13 ACA und 5 scheinoperierten Tieren durchgeführt werden. Wie im Methodenteil erläutert (vgl. 2.8.1) wurde zur Bestimmung der Läsionsgröße und -lokalisierung nach Okklusion der ACA eine Magnetresonanztomographie (MRT)-Aufnahme 24 Stunden nach Operation angefertigt sowie eine weitere nach 7 Tagen. Die Läsionsgrößen fielen insgesamt sehr heterogen aus und lagen zwischen 3,84 mm<sup>3</sup> (Tier: 28286) und 26,28 mm<sup>3</sup> (Tier: 27287). Aus Tabelle 1 sind die Läsionsgrößen sowie das rostro-caudale Läsionsausmaß relativ zu Bregma für die einzelnen Tiere zu entnehmen.

**Tabelle 1:** Angabe der Läsionsgröße für die einzelnen Tiere

<b>Tiernummer</b>	<b>Läsionsgröße</b>	<b>Läsionsausmaß (relativ zu Bregma)</b>
27285	8,84 mm <sup>3</sup>	+4,20 - (-1,32) mm
27286	14,53 mm <sup>3</sup>	+4,68 - (-3,48) mm
27287	26,28 mm <sup>3</sup>	+4,68 - (-3,60) mm
27344	11,49 mm <sup>3</sup>	+3,24 - (-1,08) mm
27345	7,72 mm <sup>3</sup>	+3,24 - (-1,20) mm
27346	5,16 mm <sup>3</sup>	+3,00 - (-1,56) mm
27347	14,53 mm <sup>3</sup>	+3,24 - (-3,60) mm
28282	11,11 mm <sup>3</sup>	+3,24 - (-3,24) mm
28283	19,25 mm <sup>3</sup>	+3,24 - (-4,68) mm
28286	3,84 mm <sup>3</sup>	+1,80 - (-0,00) mm
28287	21,64 mm <sup>3</sup>	+3,24 - (-4,20) mm
28289	7,94 mm <sup>3</sup>	+2,76 - (-1,08) mm
28290	10,38 mm <sup>3</sup>	+3,24 - (-1,92) mm

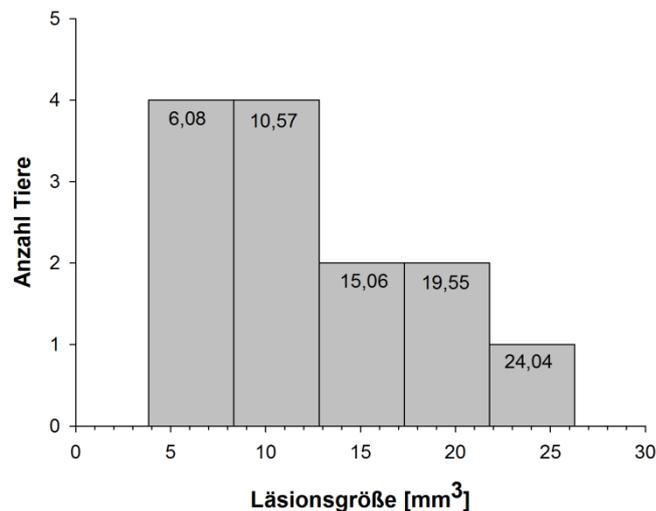
Eine Beispiel MRT-Aufnahme 7 Tage postoperativ für ein Tier mit großer Läsion (27287, Läsionsgröße: 26,28 mm<sup>3</sup>) sowie für ein Tier mit deutlich kleinerer Läsion (27345, Läsionsgröße: 7,72 mm<sup>3</sup>) ist in Abbildung 50 dargestellt. Der Vergleich der MRT-Aufnahmen zeigt deutlich, dass bei dem Tier mit größerer Läsion der anteriore und mittlere zinguläre Kortex (ACC, MCC) stärker und bilateral betroffen war. Außerdem dehnte sich die Läsion bis in den retrosplenialen Kortex aus. Bei dem Tier mit kleiner Läsion war dagegen vor allem der ACC geschädigt. Während ein Tag nach der ACAo noch eine Läsion im MCC und im retrosplenialen Kortex zu erkennen war (hier nicht dargestellt), war diese 7 Tage postoperativ nur noch schwach ausgeprägt.



**Abbildung 50: Transaxial-, Horizontal- und Sagittalschnitt einer MRT-Aufnahme (T2-gewichtet) 7 Tage nach Okklusion der ACA mit Endothelin (ET-1).** Die Läsion erscheint heller als intaktes Gewebe. a) MRT-Aufnahme einer Ratte (27287) mit großer Läsion. Der gesamte zinguläre Kortex (ACC und MCC), sowie Teile des retrosplenialen Kortex (RSD/RSG) war hier bilateral betroffen. b) MRT-Aufnahme einer Ratte (27345) mit kleiner Läsion nach ACAo. Wie aus den Aufnahmen ersichtlich ist, war vor allem der ACC betroffen. Während ein Tag postoperativ noch eine leichte Läsion im MCC und im retrosplenialen Kortex (RSD/RSG) zu erkennen war, war diese sieben Tage postoperativ nur noch sehr schwach ausgeprägt.

(**Abk:** ACCd: dorsaler anteriorer zingulären Kortex, ACCv: ventraler anteriorer zingulärer Kortex, MCCd: dorsaler mittlerer zingulärer Kortex, MCCv: ventraler mittlerer zingulärer Kortex, RSD: retrosplenialer Kortex (dysgranulär), RSG: retrosplenialer Kortex (granulär)).

Um die postoperativen Ergebnisse besser interpretieren zu können, wurden die ACA-Tiere ausgehend von der Läsionsgröße in zwei Gruppen aufgeteilt. Dafür wurde anhand der Läsionsgrößen ein Histogramm erstellt (5 Klassen, Abbildung 51). Alle Tiere, deren Läsionsgröße innerhalb der beiden kleineren Klassenzentren ( $6,08 \text{ mm}^3$  bzw.  $10,57 \text{ mm}^3$ ) lag, wurden der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion ( $N = 8$ ) zugeordnet, die Tiere der drei anderen Klassen hingegen der ACA-Gruppe mit großer Läsion ( $N = 5$ ; Klassenzentren bei  $15,06$ ,  $19,55$  und  $24,04 \text{ mm}^3$ ). Diese Einteilung erschien auch bei Betrachtung der Absolutwerte der Läsionsgröße sinnvoll, da der Abstand zwischen der kleinsten Läsion in der Gruppe mit großer Läsion und dem Tier mit größter Läsion in der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion bei  $3 \text{ mm}^3$  lag.

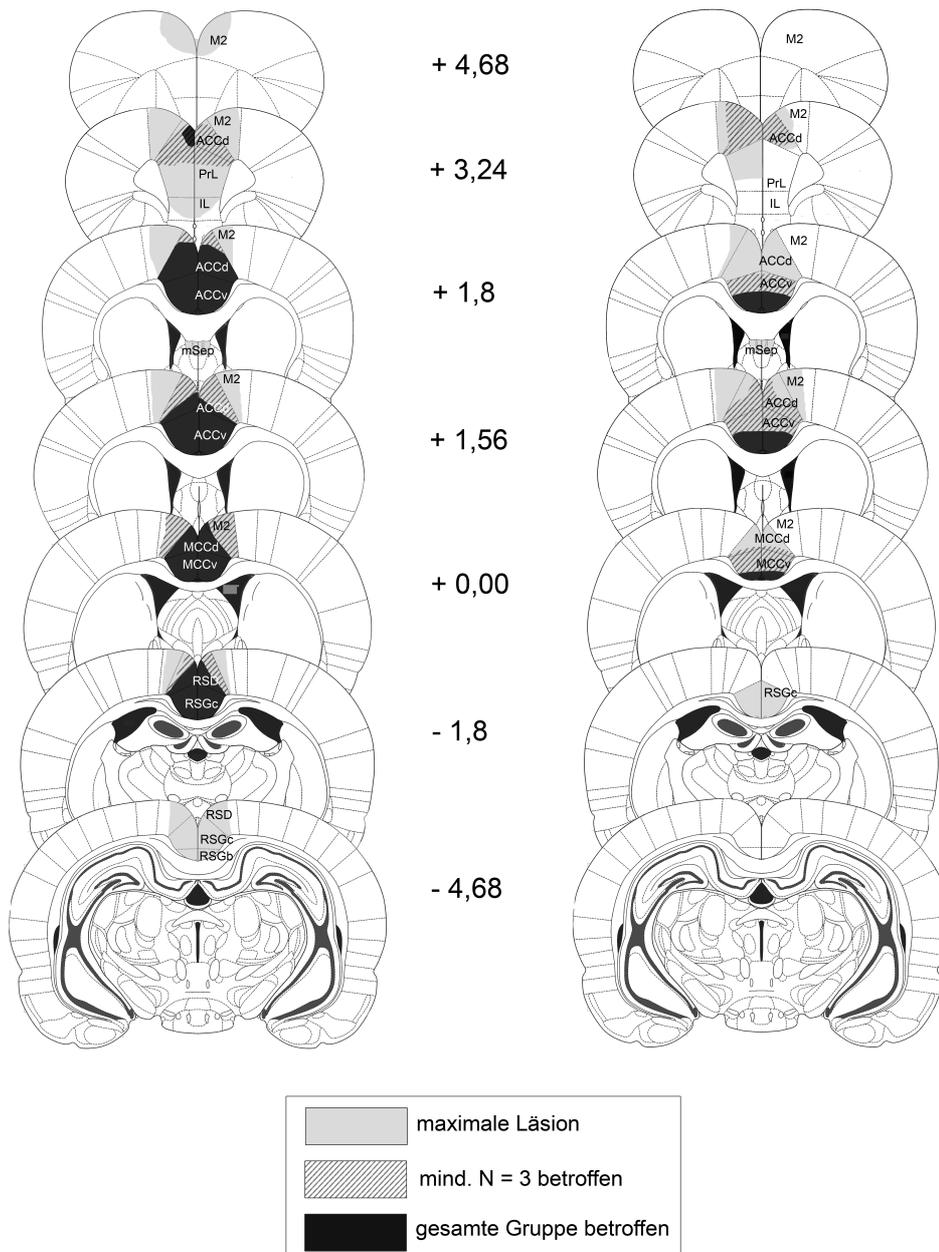


**Abbildung 51: Häufigkeitsdichte der Läsionsgrößen eingeteilt in 5 Klassen.** Anhand des Histogramms wurden die Versuchstiere nach Läsionsgröße in zwei Gruppen mit großer und kleiner Läsion eingeteilt. Die Tiere aus den beiden kleineren Klassenzentren wurden der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion zugeordnet ( $N = 8$ ). Die Tiere aus den drei anderen Klassen wurden zur ACA-Gruppe mit großer Läsion zusammengefasst ( $N = 5$ ).

Für beide Gruppen ist das Läsionsausmaß (maximale Läsionsgröße, das bei allen Tieren betroffene Läsionsareal sowie die Bereiche, die bei mindestens drei Tieren betroffen waren) und die Läsionslokalisation in Abbildung 52 dargestellt.

große ACA Läsion (N = 5)

kleine ACA Läsion (N = 8)



**Abbildung 52: Läsionsausmaß und -lokalisierung für die ACA-Gruppe mit großer (links) und kleiner Läsion (rechts) projiziert auf transaxiale Hirnschnitte aus dem Paxinos und Watson Rattenatlas (2005).** Um das Läsionsausmaß darzustellen, wurde mit Hilfe der MRT-Aufnahmen (24 Stunden und 7 Tage postoperativ) für jedes Tier das genaue Läsionsausmaß und sowie ihre Lokalisation bestimmt. Die Abbildung fasst die maximale Ausdehnung der Läsion (hellgrau), die Hirnregionen, die mindestens bei drei Ratten (Schraffur) sowie die Areale die von der Gesamtgruppe betroffen waren (schwarz), zusammen. Mittig ist die Position vor (+) bzw. hinter (-) Bregma für die einzelnen Hirnschnitte angegeben.

(**Abk:** ACCd: dorsaler anteriorer zingulärer Kortex, ACCv: ventraler anteriorer zingulärer Kortex, MCCd: dorsaler mittlerer zingulärer Kortex, MCCv: ventraler mittlerer zingulärer Kortex, IL: infralimbischer Kortex, M2: sekundärer motorischer Kortex, PrL: prälimbischer Kortex, RSD: dysgranulärer retrosplenialer Kortex, RSGb: ventraler granulärer retrosplenialer Kortex, RSGc: dorsaler granulärer retrosplenialer Kortex).

Bei zwei Tieren mit großer Läsion begann diese bereits 4,68 mm vor Bregma (27286, 27287). Bei den meisten anderen Tieren fing die Läsion 3,24 mm vor Bregma an, bei einem Tier jedoch erst kurz vor der Injektionsstelle (28286; 1,5 mm anterior von Bregma).

In der ACA-Gruppe mit großer Läsion gab es ein Tier, bei dem sich die Läsion posterior sehr weit ausdehnte und zwar bis 4,68 mm hinter Bregma (28283). Bei allen anderen Tieren mit großer Läsion und weiteren mit kleiner Läsion endete die Läsion höchstens 3 mm hinter Bregma (27286, 27287, 27347, 28282, 28287; vgl. Tabelle 1). Bei den übrigen Tieren mit kleiner Läsion dehnte sich die Läsion nur bis zu 1,08 und 1,92 mm nach Bregma aus (27285, 27344, 27345, 27346, 28289, 28290; vgl. Tabelle 1) und bei einem Tier mit besonders kleiner Läsion war hinter Bregma keine Läsion mehr zu erkennen (28286).

Wie aus der Abbildung 52 ersichtlich ist, war der ventrale ACC und MCC bei allen Tieren zumindest teilweise läsiert. Der ACC war insgesamt das am stärksten betroffene Areal. Bei den Tieren mit ausgeprägter posteriorer Läsion (27286, 27287, 27347, 28282, 28283, 28287, 28290), war auch der retrospinale Kortex (RSD/RSG) läsiert. Bei sechs Tieren mit kleinerer Läsion war der gesamte ventrale zinguläre Kortex zwar auch läsiert, die Läsion dehnte sich aber nur bei einem Tier in den retrospinalen Kortex aus (28290). Innerhalb der Gesamtgruppe war der ventrale ACC und MCC besonders stark im Bereich von + 1,8 mm vor Bregma bis 0,0 mm Bregma betroffen. Außerdem wiesen alle Tiere außer eines (28286) Läsionen im dorsalen ACC und MCC auf. Während bei den Tieren mit großer Läsion (27286, 27287, 27347, 28283, 28287) der gesamte dorsale ACC und MCC stark läsiert war, war in der Gruppe mit kleiner Läsion vor allem der ACC betroffen. Einige Tiere (27287; 28287, 27344) hatten zudem Läsionen im prälimbischen und infralimbischen Kortex (vgl. Schnitt + 3,24 mm). Bei einigen Tieren (vor allem in der Gruppe mit großer Läsion) war außerdem der sekundäre motorische Kortex (M2) betroffen (27285, 27286, 27287, 27344, 27345, 27347, 28287, 28283). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass vor allem die Tiere mit großer Läsion bilaterale Läsionen des dorsalen und ventralen ACC und MCC aufwiesen und sich die Läsion posterior deutlich weiter ausdehnte. In der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion fielen die Läsionen hingegen etwas heterogener aus.

## 6.2 Hörfähigkeit

Postoperativ verschlechterte sich die Hörfähigkeit von drei Tieren um 20 (27285, 27286) bzw. 30 dB SPL (28283) auf dem linken Ohr und betrug postoperativ 45 bzw. 55 dB SPL. Diese Tiere hatten auf dem rechten Ohr weiterhin eine Hörschwelle von 25 dB SPL, so dass angenommen werden kann, dass die Töne in der operanten Konditionierungsbox weiterhin gut wahrgenommen werden konnten. Die Hörschwelle der anderen Tiere änderte sich postoperativ nicht und lag weiterhin zwischen 25 und 35 dB SPL.

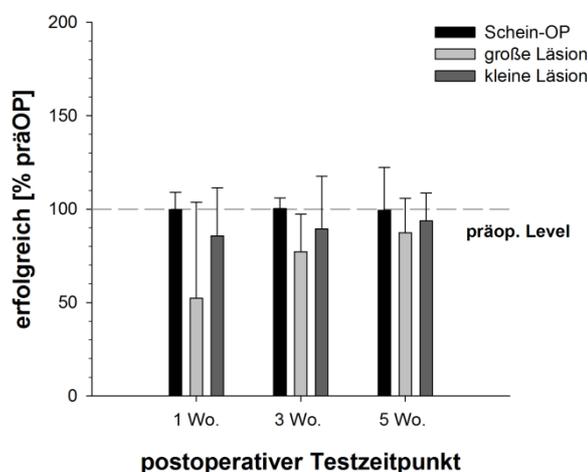
## 6.3 Motivationsaufgabe

Im Folgenden werden die postoperativen Verhaltensergebnisse der Motivationsaufgabe im Vergleich zur präoperativen Messung dargestellt und erläutert. Wie im Methodenteil (vgl. 2.5.6, 2.9.4) beschrieben, wurde die prozentuale Änderung der postoperativen Messungen 1 Woche, 3 Wochen und 5 Wochen (alle Messungen bei hohem Motivationslevel und ohne PET) im Vergleich zur präoperativen Messung bestimmt. Werte unter 100 % geben an, dass der postoperative Wert geringer war als der präoperative, Werte über 100 % bedeuten, dass der gemessene Parameter postoperativ höher war.

Statistisch wurden die Testzeitpunkte (1 Woche, 3 Wochen und 5 Wochen nach OP) und die Gruppen (Schein-OP, ACA-Gruppe mit großer Läsion, ACA-Gruppe mit kleiner Läsion) verglichen (gemischte zweifaktorielle-ANOVA mit Messwiederholung, Faktoren: Testzeitpunkt und Versuchsgruppe). Je nach Verhaltensparameter kommt als weiterer Faktor noch die Länge der geforderten Wartezeit hinzu. Zur Auflösung signifikanter Haupteffekte wurde die Posthoc-Analyse Sidak hinzugezogen. Bei signifikanten Interaktionseffekten wurden wieder Graphen einbezogen. Des Weiteren wurden postoperative Änderung aller Verhaltensparameter mit der Läsionsgröße korreliert. Sofern es signifikante Korrelationseffekte gab, werden diese im Folgenden erläutert.

### 6.3.1 Antworten an der Nosepoke-Einheit

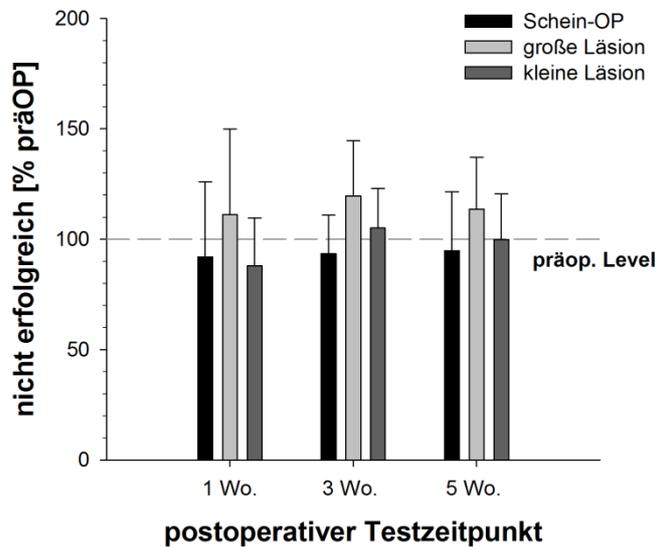
Der Erfolg an der Nosepoke-Einheit (Einhalten der geforderten Wartezeit gemittelt über alle geforderten Wartezeiten) änderte sich postoperativ weder in der scheinoperierten Gruppe, noch in den ACA-Gruppen signifikant (Abbildung 53). Während die scheinoperierte Gruppe im Mittel zu allen postoperativen Testzeitpunkten das präoperative Level beibehielt, sank die mittlere Anzahl erfolgreicher Durchläufe in der ACA-Gruppe mit großer Läsion 1 Woche nach der Operation um ca. 52 %. Anschließend stieg die Anzahl erfolgreicher Durchläufe an der Nosepoke-Einheit wieder an und lag 4 Wochen postoperativ bei ca. 87 % des Ausgangswertes. Da die Standardabweichungen sehr hoch waren, war die beobachtete Reduktion nicht signifikant und es konnte nur ein tendenzieller Unterschied zwischen den Gruppen beobachtet werden ( $F(2, 15) = 2,76, p = 0,095$ ). Auch die Testzeitpunkte unterschieden sich nicht ( $F(2, 30) = 2,48, p = 0,101$ ) und es gab auch keinen Interaktionseffekt zwischen dem Testzeitpunkt und der Gruppe ( $F(4, 30) = 1,23, p = 0,362$ ).



**Abbildung 53: Postoperative prozentuale Änderung erfolgreicher Durchläufe in Abhängigkeit von der Gruppe und dem postoperativen Testzeitpunkt gemittelt über alle Wartezeiten.** Zwar sank die Anzahl der erfolgreichen Durchläufe an der Nosepoke-Einheit bei den Tieren mit großer Läsion 1 Woche postoperativ, aber im Mittel hatte die ACAo keinen signifikanten Effekt auf die prozentuale Änderung. (Die gestrichelte Linie gibt das präoperative Level an).

Auch die postoperative Änderung der Anzahl erfolgloser Durchläufe (Abbildung 54, geforderte Wartezeit nicht eingehalten, ohne Berücksichtigung der Länge der geforderten Wartezeit) unterschied sich weder zwischen den Gruppen ( $F(1, 15) = 2,11, p = 0,156$ ) noch zwischen den postoperativen Testzeitpunkten ( $F(1,41, 21,14) = 0,289, p = 0,675$ ; Mauchly-Test ( $p = 0,022$ ), Greenhouse-Geisser Korrektur ( $\varepsilon = 0,704$ )). In der ACA-Gruppe mit großer Läsion erhöhte sich der Anteil nicht erfolgreicher Durchläufe postoperativ leicht (10-20 %). Da die Änderun-

gen nur klein waren und die Varianz innerhalb der Gruppen verhältnismäßig groß, unterschieden sich die drei Gruppen nicht signifikant voneinander.



**Abbildung 54: Prozentuale post-operative Änderung erfolgloser Durchläufe (geforderte Wartezeit nicht eingehalten) in Abhängigkeit von der Gruppe und dem Testzeitpunkt ohne Berücksichtigung der geforderten Wartezeit.** Es gab keine signifikanten Haupteffekte (Faktoren: Gruppe, Testzeitpunkt). In der scheinoperierten Gruppe und der ACA Gruppe mit kleiner Läsion war die Anzahl nicht erfolgreicher Durchläufe postoperativ zwar etwas geringer als präoperativ, die Standard-

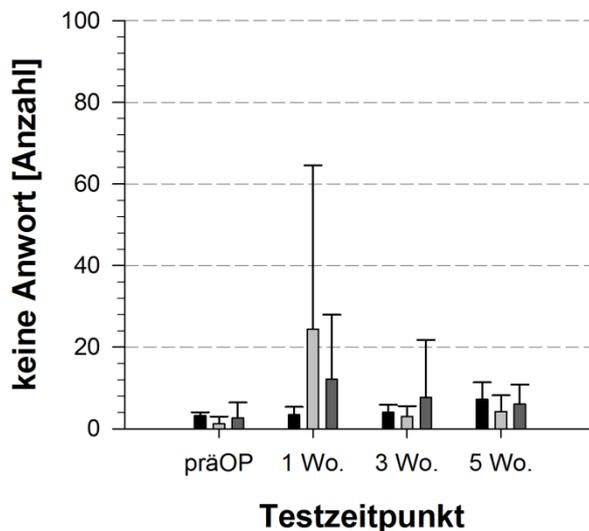
abweichungen waren aber sehr hoch. (Die gestrichelte Linie gibt das präoperative Level an).

Die Korrelationsanalyse zeigte weder für die prozentuale Änderung erfolgreicher (keine Normalverteilung gegeben, daher Spearman-Korrelation) noch für die erfolglosen Durchläufe an der Nosepoke-Einheit einen signifikanten Zusammenhang mit der Läsionsgröße. 1 Woche nach der Operation war die prozentuale Änderung der erfolgreichen Durchläufe jedoch tendenziell negativ mit der Läsionsgröße korreliert ( $r_s = -0,539$ ,  $p = 0,057$ ). Je größer die Läsion, umso geringer war der Anteil erfolgreicher Durchläufe im Vergleich zur präoperativen Messung (nicht gezeigt, da keine signifikante Korrelation).

In Abbildung 55 sind die Mittelwerte der nicht beantworteten Durchläufe als Absolutwerte für die verschiedenen Testzeitpunkte dargestellt. Die prozentuale Änderung wurde aufgrund der geringen Anzahl nicht berechnet, um eine Überbewertung kleiner Werte zu vermeiden.

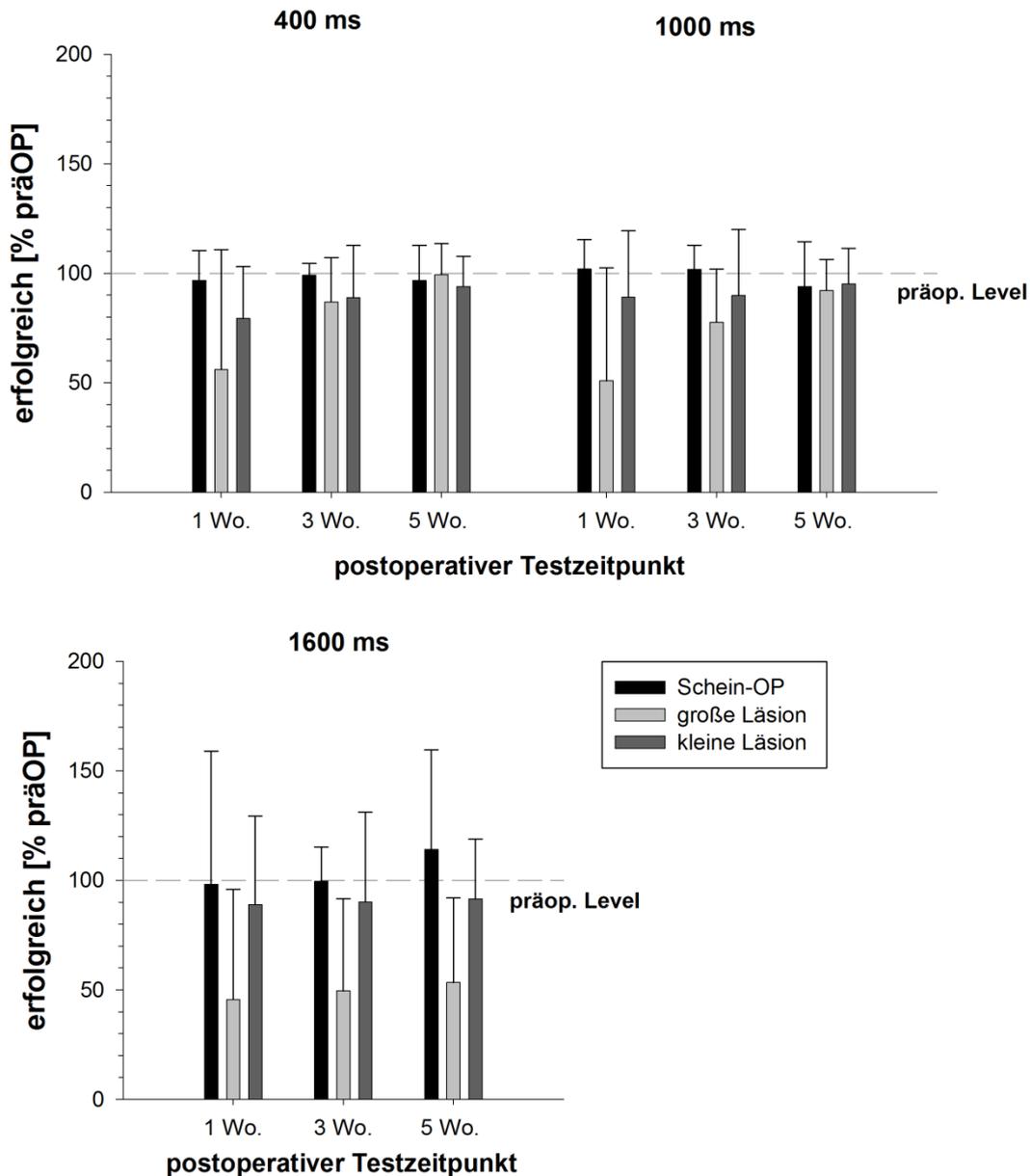
Die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe war im Mittel zu allen Testzeitpunkten ( $F(1,33, 20) = 0,108$ ,  $p = 0,108$ ; Mauchly-Test ( $p < 0,001$ ), Greenhouse-Geisser Korrektur ( $\epsilon = 0,444$ )), sowie zwischen den Gruppen vergleichbar ( $F(2, 15) = 0,306$ ,  $p = 0,741$ ). 1 Woche postoperativ waren die Standard-

abweichungen beider ACA-Gruppen jedoch sehr hoch. Dies kam in beiden Gruppen vor allem durch ein Tier zustande (ACA-Gruppe mit großer Läsion: 27287; ACA-Gruppe mit kleiner Läsion: 28282). Zu keinem der postoperativen Testzeitpunkte war die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe signifikant mit der Läsionsgröße korreliert.



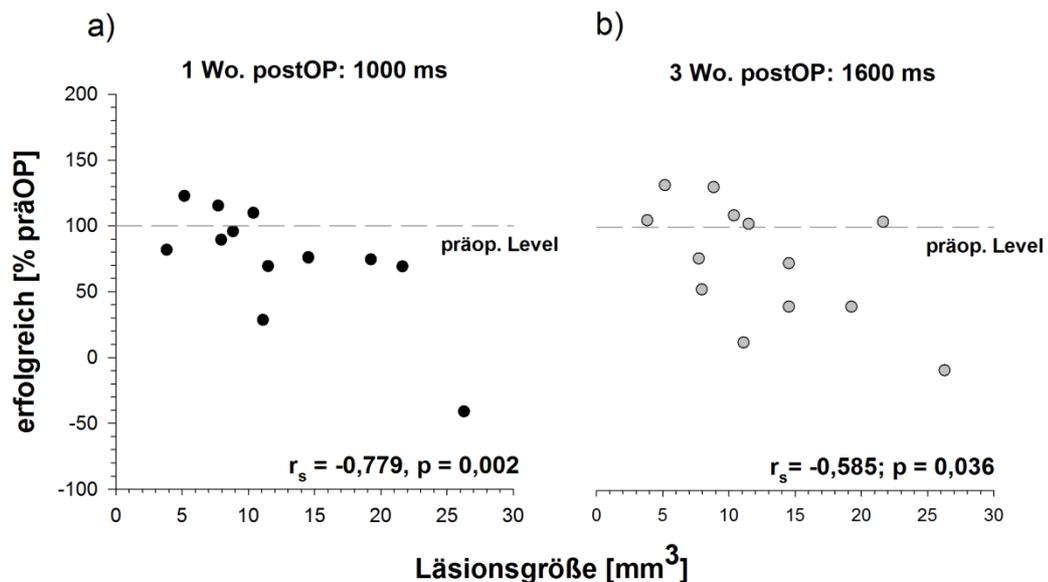
**Abbildung 55: Absolute Anzahl nicht beantworteter Durchläufe an der Nosepoke-Einheit in Abhängigkeit vom Testzeitpunkt und der Gruppe.** Es gab weder zwischen den Testzeitpunkten noch zwischen den Gruppen einen signifikanten Unterschied. Auffällig waren jedoch die hohen Standardabweichungen beider ACA-Gruppen zum ersten postoperativen Testzeitpunkt. In beiden Gruppen antwortete jeweils ein Tier deutlich seltener als die anderen Tiere der Gruppe (27287: 96 Durchläufe ohne Antwort, 28282: 49 Durchläufe ohne Antwort).

In Abbildung 56 ist die prozentuale Änderung erfolgreicher Durchläufe in Abhängigkeit von der geforderten Wartezeit (400 ms, 1000 ms, 1600 ms) dargestellt. Die prozentuale postoperative Änderung war unabhängig von der geforderten Wartezeit ( $F(1,18, 17,72) = 0,41, p = 0,564$ ). Da die Sphärizitätsannahme verletzt war ( $p < 0,001$ ), wurden die Freiheitsgrade Greenhouse-Geisser korrigiert ( $\epsilon = 0,591$ ). Auch zwischen den postoperativen Testzeitpunkten gab es keinen Unterschied ( $F(2, 30) = 2,42, p = 0,106$ ). In der Tendenz war jedoch ein Gruppeneffekt zu erkennen ( $F(2, 15) = 3,03, p = 0,079$ ). Dieser war dadurch bedingt, dass die ACA-Gruppe mit großer Läsion im Mittel unabhängig von der geforderten Wartezeit postoperativ die geforderte Wartezeit seltener einhielt (maximale Reduktion: 65 %), sich der Erfolg der scheinoperierten Gruppe im Vergleich zu präoperativen Messung aber kaum änderte (maximale Reduktion: 6 %). Die Standardabweichungen innerhalb der ACA-Gruppe mit großer Läsion waren jedoch sehr groß, was vermutlich dazu führte, dass der beobachtete Unterschied nicht signifikant war.



**Abbildung 56: Prozentuale postoperative Änderung der Anzahl erfolgreicher Durchläufe in Abhängigkeit vom Testzeitpunkt (1 Woche, 3 Wochen und 5 Wochen postoperativ), der Gruppe und der geforderten Wartezeit.** Es gab weder für den Faktor Testzeitpunkt noch für die geforderte Wartezeit einen statistischen Effekt. Allerdings unterschieden sich die Versuchsgruppen tendenziell voneinander ( $p = 0,082$ ). Dieser Unterschied kam durch eine tendenzielle Abnahme erfolgreicher Durchläufe in der ACA-Gruppe mit großer Läsion zustande. Es gab keinen Interaktionseffekt, so dass die beobachteten Veränderungen statistisch gesehen unabhängig von der geforderten Wartezeit und dem Testzeitpunkt waren. Im Mittel war die prozentuale Verringerung erfolgreicher Durchläufe in der ACA-Gruppe mit großer Läsion bei der längsten geforderten Wartezeit jedoch am stärksten. (Die gestrichelte Linie gibt das präoperative Level an).

Der Zusammenhang zwischen der Läsion nach ACAo und der Motivation, die geforderte Wartezeit einzuhalten, wurde in der Korrelationsanalyse (keine Normalverteilung gegeben, daher Spearman-Korrelation) etwas deutlicher (Abbildung 57). Eine Woche nach der Operation waren die prozentualen Änderungen erfolgreicher Durchläufe bei einer geforderten Wartezeit von 1000 ms negativ mit der Läsionsgröße korreliert ( $r_s = -0,779$ ,  $p = 0,002$ ). Je größer die Läsion nach ACAo ausfiel, umso erfolgloser waren die Versuchstiere bei einer geforderten Wartezeit von 1000 ms. 3 Wochen postoperativ war die Läsionsgröße mit der prozentualen Änderung erfolgreicher Durchläufe nicht mehr mit der mittleren, sondern mit der längsten geforderten Wartezeit (1600 ms) negativ korreliert ( $r_s = -0,585$ ,  $p = 0,036$ ). Für die anderen geforderten Wartezeiten gab es keine signifikanten oder tendenziellen Effekte.

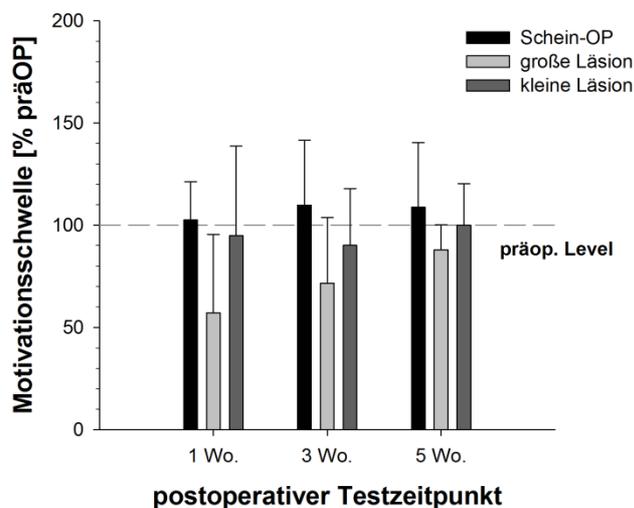


**Abbildung 57: Signifikante Korrelationen zwischen der Läsionsgröße und der prozentualen Änderung erfolgreicher Durchläufe 1 Woche und 3 Wochen postoperativ für eine geforderte Wartezeit von 1000 ms und 1600 ms. a)** 1 Woche nach der ACAo waren die prozentualen Änderungen erfolgreicher Durchläufe bei einer geforderten Wartezeit von 1000 ms negativ mit der Läsionsgröße korreliert. **b)** 3 Wochen postoperativ wurde ebenfalls eine signifikante Korrelation beobachtet: Nun war die Läsionsgröße mit der prozentualen Änderung erfolgreicher Durchläufe bei der längsten geforderten Wartezeit (1600 ms) korreliert. Negative Werte entsprechen Änderungen gegenüber der präoperativen Messung von über 100 % (vgl. Midpointberechnung Material und Methodenteil 2.5.6;  $r_s$ : Spearman-Korrelationskoeffizient; die gestrichelte Linie gibt das präoperative Level an).

Wie in Abschnitt 2.5.6 beschrieben wurde für jedes Tier eine Motivationsschwelle bestimmt, die die berechnete geforderte Wartezeit angibt, bei der genau 70 % der Durchläufe erfolgreich wären. Abbildung 58 zeigt die prozentuale Änderung der mittleren Motivationsschwelle, wobei Werte unter 100 % angeben, dass die Wartezeit, bei der noch 70 % der Durchläufe erfolgreich waren, durchschnittlich kürzer war als präoperativ.

Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Testzeitpunkten ( $F(2,63, 19,69) = 1,69, p = 0,213$ ). Da die Sphärizitätsannahme für den Faktor Testzeitpunkt verletzt war ( $p = 0,006$ ), mussten die Freiheitsgrade Greenhouse-Geisser korrigiert werden ( $\epsilon = 0,656$ ). Die Gruppen unterschieden sich nur tendenziell ( $F(2, 15) = 3,4, p = 0,061$ ). Es gab keinen Interaktionseffekt zwischen den Faktoren Testzeitpunkt und Gruppe ( $F(4, 30) = 0,427, p = 0,788$ ).

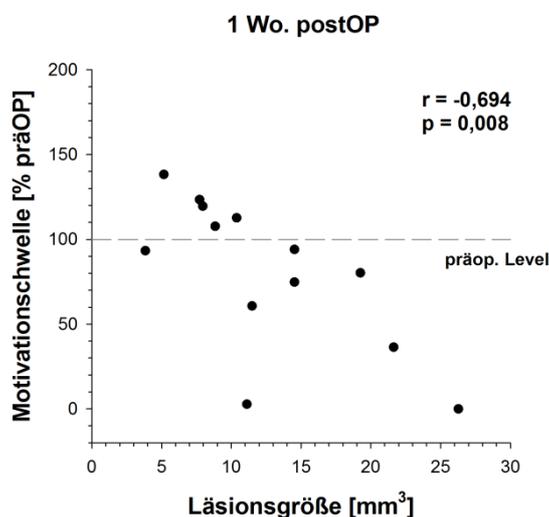
Wie aus Abbildung 58 hervorgeht, war die mittlere Motivationsschwelle der ACA-Gruppe mit großer Läsion 1 Woche nach ACAo um 43 % ( $\pm 38$  %) geringer als präoperativ, während die mittlere Motivationsschwelle der scheinoperierten Gruppe postoperativ knapp über der präoperativen lag (im Mittel: 102-108 %). Auch die ACA-Gruppe mit kleiner Läsion lag postoperativ zu allen Testzeitpunkten im Mittel bei 90 % - 100 % des präoperativen Werts. In der ACA-Gruppe mit großer Läsion war die Motivationsschwelle also zumindest in der Tendenz nach der Operation geringer als präoperativ.



**Abbildung 58: Prozentuale Änderung der Motivationsschwelle in Abhängigkeit vom postoperativen Testzeitpunkt und der Gruppe.** Es gab keine signifikanten Effekte. In der Tendenz war die Motivationsschwelle der ACA-Gruppe mit großer Läsion jedoch niedriger als in der scheinoperierten Gruppe. 1 Woche postoperativ war die Motivationsschwelle in der ACA-Gruppe mit großer Läsion besonders niedrig. (Die gestrichelte Linie gibt das präoperative Level an.)

Die Ergebnisse der Korrelationsanalyse zwischen der Läsionsgröße und der prozentualen Änderung der Motivationsschwelle bestärken die Annahme, dass die ACAo einen Effekt auf das Motivationsverhalten hatte (Abbildung 59). 1 Woche nach der Operation war die Motivationsschwelle negativ mit der prozentualen Änderung der Motivationsschwelle korreliert ( $r = -0,694$ ;  $p = 0,008$ ). Je größer die Läsion war, umso geringer war die Motivationsschwelle im Vergleich zur präoperativen Messung.

Zu den beiden späteren postoperativen Testzeitpunkten gab es keinen Zusammenhang mehr mit der Läsionsgröße (3 Wochen postoperativ:  $r = -0,337$ ;  $p = 0,261$ ; 5 Wochen postoperativ:  $r = -0,165$ ;  $p = 0,589$ ).

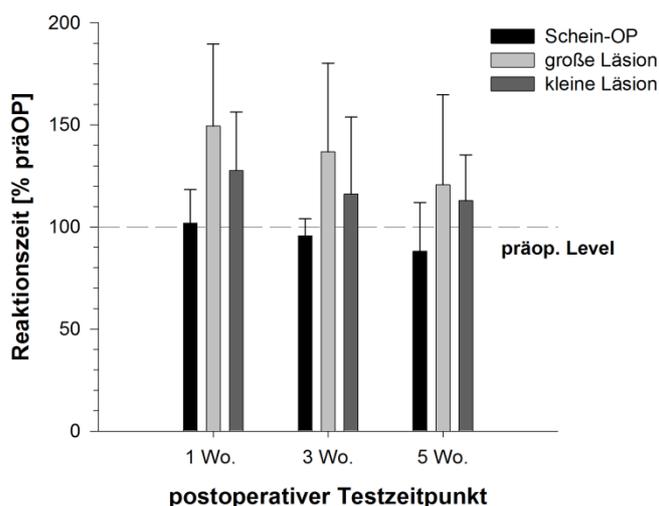


**Abbildung 59: Signifikante Korrelation zwischen der Läsionsgröße und der prozentualen Änderung der Motivationsschwelle 1 Woche postoperativ.** Je größer die Läsion war, umso stärker nahm die Motivationsschwelle im Vergleich zur präoperativen Messung ab. Negative Werte entsprechen einer postoperativen Abnahme von über 100 %. (r: Pearson-Korrelationskoeffizient; die gestrichelte Linie gibt das präoperative Level an)

### 6.3.2 Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit

Abbildung 60 stellt die prozentuale Änderung der Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit innerhalb der Gruppen für die postoperativen Testzeitpunkte dar. Da zunächst die Varianzhomogenität zwischen den Gruppen nicht gegeben war (Levene-Test signifikant), wurden die Daten transformiert (Quadratwurzel-Transformation) um eine Varianzhomogenität zu erreichen. Für keinen der Faktoren gab es einen signifikanten Haupteffekt. In der Tendenz unterschieden sich jedoch sowohl die Testzeitpunkte ( $F(2, 30) = 3,2, p = 0,055$ ) als auch die Gruppen ( $F(2, 15) = 3,16, p = 0,072$ ) ohne dass ein Interaktionseffekt zwischen den Faktoren vorlag ( $F(4, 30) = 0,235, p = 0,916$ ).

Während die Posthoc-Analyse den tendenziellen Effekt zwischen den Testzeitpunkten nicht aufschlüsseln konnte (keine weiteren tendenziellen Effekte), kam der tendenzielle Haupteffekt zwischen den Gruppen durch einen Unterschied zwischen der ACA-Gruppe mit großer Läsion und der scheinoperierten Gruppe zustande ( $p = 0,074$ ). Im Mittel reagierten die ACA-Tiere mit großer Läsion postoperativ langsamer (Verlängerung der Reaktionszeit um  $20 (\pm 44) \%$  bis  $49 (\pm 40) \%$ ), während die scheinoperierte Gruppe 1 Woche postoperativ noch auf dem präoperativen Level blieb ( $102 \pm 16 \%$ ) und 5 Wochen später eher schneller antwortete ( $88 \pm 24 \%$  der präoperativen Reaktionszeit). Die Korrelationsanalyse zeigte keinen Zusammenhang mit der Läsionsgröße.

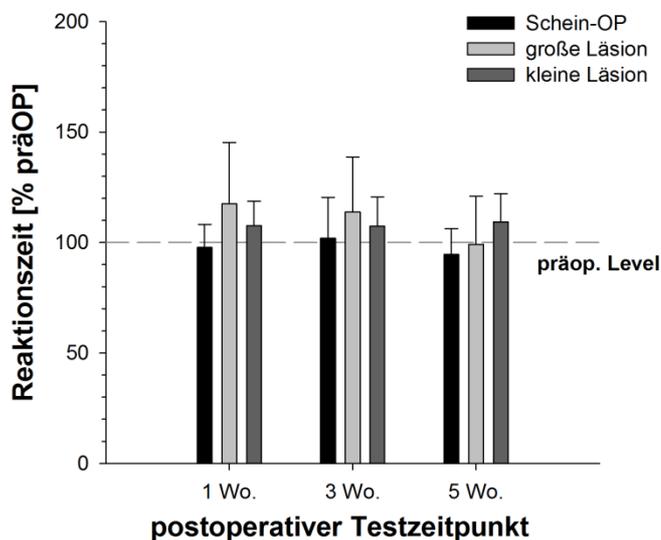


**Abbildung 60: Prozentuale Änderung der Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit in Abhängigkeit von der Gruppe und den Testzeitpunkten.**

In der Tendenz unterschied sich die ACA-Gruppe mit großer Läsion von der scheinoperierten Gruppe ( $p = 0,074$ ). Die Reaktionszeiten der ACA-Gruppe mit großer Läsion, aber nicht der scheinoperierten Gruppe nahm im Mittel zu (bis zu  $49 \%$ ). (Die gestrichelte Linie gibt das präoperative Level an).

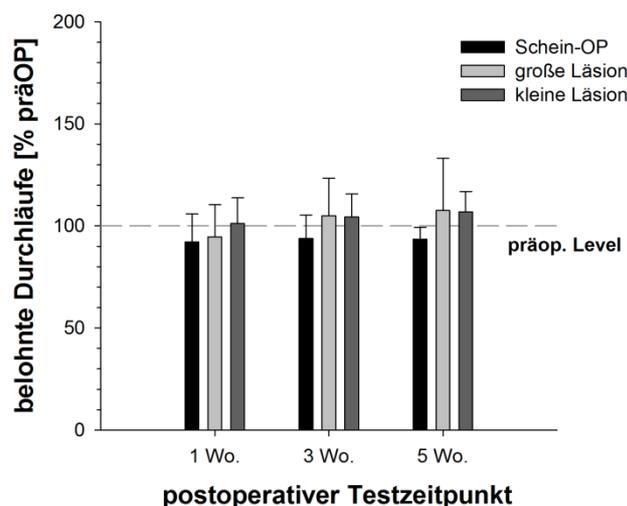
### 6.3.3 Diskriminierungsaufgabe

Die prozentualen Änderungen der Reaktionszeiten am Futtertrog in der Diskriminierungsaufgabe (Abbildung 61) waren innerhalb der Gruppen ( $F(2, 15) = 1,3$ ,  $p = 0,303$ ) und zwischen den Testzeitpunkten vergleichbar ( $F(1,47, 22,1) = 1,74$ ,  $p = 0,202$ ; Mauchly-Test ( $p = 0,045$ ), Greenhouse-Geisser Korrektur ( $\epsilon = 0,737$ )). Die mittleren Reaktionszeiten verringerten sich um höchstens  $6 (\pm 11) \%$  (scheinoperierte Gruppe, 5 Wochen postoperativ) und erhöhten sich um bis zu  $17 (\pm 27) \%$  (ACA Gruppe mit großer Läsion, 1 Woche postoperativ). Die Korrelationsanalyse zeigte keinen Zusammenhang mit der Läsionsgröße.



**Abbildung 61: Prozentuale Änderung der Reaktionszeit am Futtertrog in der Diskriminierungsaufgabe in Abhängigkeit von der Gruppe und dem Testzeitpunkt.** Es gab keine statistischen Unterschiede zwischen den Gruppen oder Testzeitpunkten. Tendenziell waren die mittleren Reaktionszeiten beider ACA-Gruppen 1 und 3 Wochen postoperativ im Vergleich zur präoperativen Messung etwas erhöht (bis zu 17 %). (Die gestrichelte Linie gibt das präoperative Level an).

Die prozentuale Änderung des Anteils belohnter Durchläufe lag postoperativ höchstens 8 % über dem präoperativen Wert (Abbildung 62). Es ließen sich keine Gruppenunterschiede nachweisen ( $F(2, 15) = 1,17$ ,  $p = 0,336$ ), aber es lag ein signifikanter Haupteffekt zwischen den Testzeitpunkten vor ( $F(2, 30) = 3,87$ ,  $p = 0,032$ ). In der Posthoc-Analyse gab es jedoch weder signifikante noch tendenzielle Unterschiede, die diesen Effekt aufschlüsseln könnten. Vermutlich ist der Haupteffekt dadurch zu erklären, dass die prozentuale Änderung 3 und 5 Wochen nach der Operation unabhängig von der Gruppe größer war als 1 Woche nach der Operation. Die Korrelationsanalyse zeigte für keinen der postoperativen Testzeitpunkte einen Zusammenhang zwischen der prozentualen Änderung der Anzahl belohnter Durchläufe und der Läsionsgröße.



**Abbildung 62: Prozentuale Änderung belohnter Durchläufe in Abhängigkeit vom postoperativen Testzeitpunkt.** Die Testzeitpunkte unterschieden sich signifikant ( $p = 0,031$ ). Die Posthoc-Analyse ergab jedoch keine signifikanten oder tendenziellen Effekte, so dass der Unterschied nicht weiter aufgeschlüsselt werden konnte. Die postoperativen Änderungen waren in allen Gruppen vergleichbar. (Die gestrichelte Linie gibt das präoperative Level an).

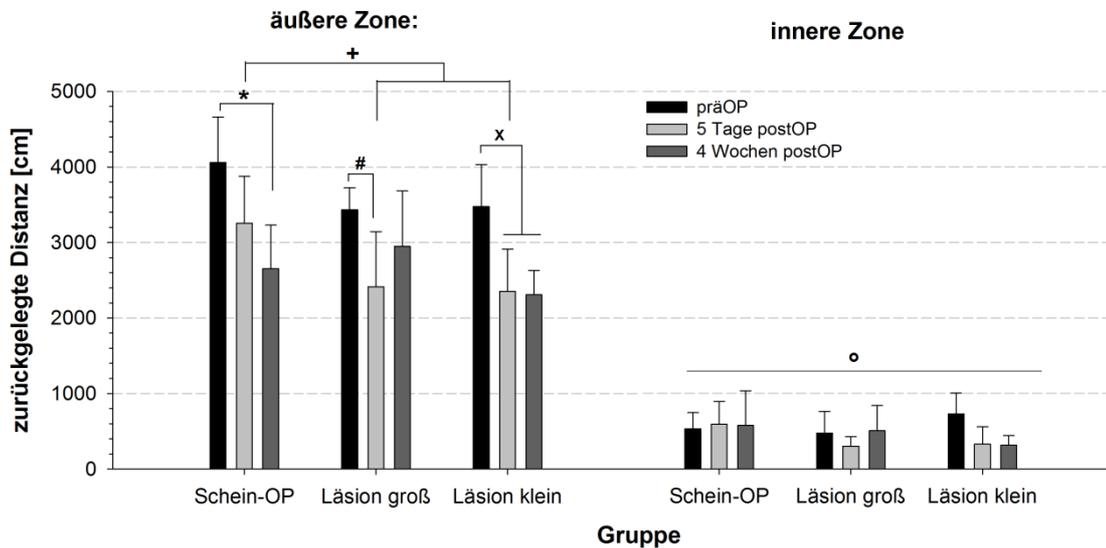
#### 6.4 Weitere Verhaltensversuche

Im Folgenden werden die Ergebnisse des Open Field Tests, der erhöhten Plus-Arena und des Cat Walk Versuchs vorgestellt. Statistisch wurden die Testzeitpunkte (1 Woche, 3 Wochen und 5 Wochen nach OP) und die Gruppen (Schein-OP, ACA-Gruppe mit großer Läsion, ACA-Gruppe mit kleiner Läsion) verglichen (gemischte zweifaktorielle ANOVA mit Messwiederholung, Faktoren: Testzeitpunkt und Versuchsgruppe). Je nach Verhaltensparameter kam noch ein weiterer Faktor hinzu (zum Beispiel Faktor Zone).

##### 6.4.1 Open Field

Das generelle Lokomotions- sowie das Angstverhalten lässt sich anhand der zurückgelegten Distanz innerhalb der äußeren und inneren Zone abschätzen (Abbildung 63). Es gab mehrere signifikante Haupteffekte und Interaktionen. Wie aus der Graphik hervorgeht, war die zurückgelegte Distanz in der inneren Zone deutlich niedriger. Dieser Unterschied war signifikant ( $F(1, 15) = 640,97$ ,  $p < 0,001$ ). Während die Versuchstiere innerhalb von 5 min in der äußeren Zone zwischen 3000 und 5000 cm liefen, lag die zurückgelegte Strecke in der inneren Zone im Durchschnitt unter 1000 cm. Außerdem gab es einen signifikanten Haupteffekt für den Faktor Testzeitpunkt ( $F(2, 30) = 19,76$ ,  $p < 0,001$ ) und den Faktor Gruppen ( $F(2, 15) = 6,31$ ,  $p = 0,010$ ). Die Auflösung des Haupteffekts der Testzeit-

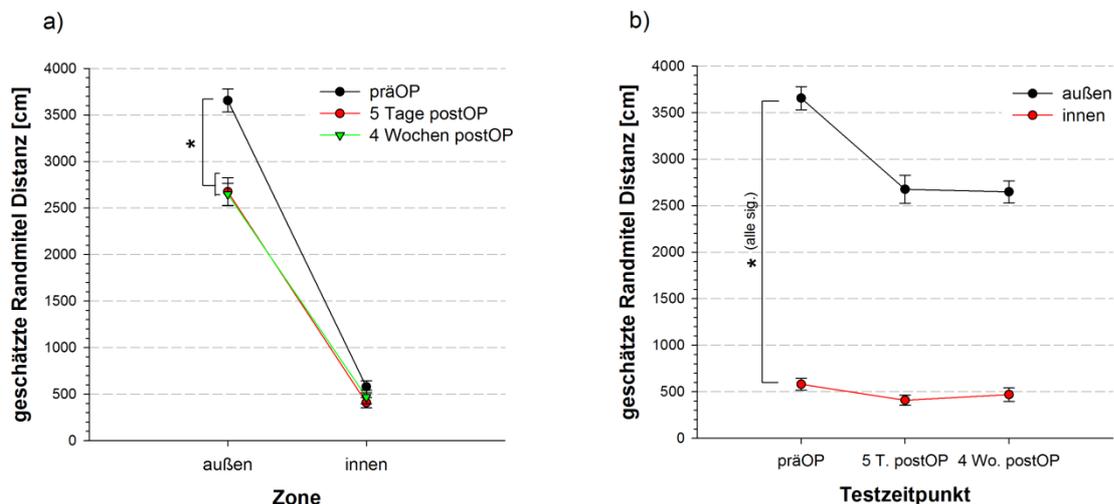
punkte zeigte, dass die Tiere bei beiden postoperativen Testzeitpunkten signifikant weniger Distanz zurücklegten als vor der Operation ( $p < 0,001$ ).



**Abbildung 63: Die zurückgelegte Distanz im Open Field in Abhängigkeit von der Gruppe, dem Testzeitpunkt und der Zone.** Unabhängig von der Gruppe legten die Tiere in der inneren Zone deutlich weniger Strecke zurück als in der äußeren Zone ( $^{\circ}$ :  $p < 0,001$ ). Die zurückgelegte Distanz beider ACA-Gruppen war 5 Tage nach ACAo niedriger als präoperativ ( $\#$ :  $p = 0,009$ ,  $x$ :  $p < 0,001$ ). Da sich das Lokomotionsverhalten der scheinoperierten Gruppe nicht veränderte, ergab sich 5 Tage postoperativ ein signifikanter Effekt im Vergleich zu beiden ACA-Gruppen ( $+$ : Vgl. ACA-Gruppe große Läsion:  $p = 0,034$  und Vergleich mit ACA-Gruppe kleiner Läsion:  $p = 0,015$ ). Die scheinoperierte Gruppe legte außerdem präoperativ mehr Strecke zurück als 4 Wochen postoperativ ( $*$ :  $0,019$ ). Während die ACA-Gruppe mit großer Läsion 4 Wochen nach der Operation wieder mehr Strecke in der äußeren Zone der Open Field Arena zurücklegte war dies für die Gruppe mit kleiner Läsion nicht der Fall ( $x$ :  $p < 0,001$ ).

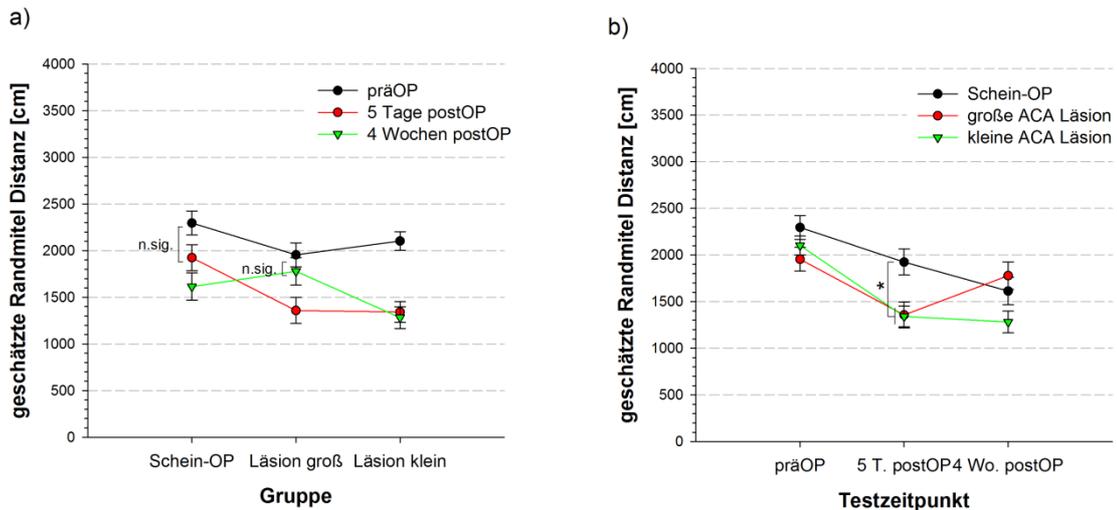
Der Gruppenunterschied löste sich in der Posthoc-Analyse durch einen Unterschied zwischen der scheinoperierten Gruppe und der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion auf ( $p = 0,009$ ). Die ACA-Gruppe mit kleiner Läsion legte also in der gesamten Arena weniger Strecke zurück als die scheinoperierte Gruppe. Die gesamte zurückgelegte Distanz unterschied sich zwischen der scheinoperierten Gruppe und den ACA-Gruppe mit großer Läsion nicht. Die im Folgenden beschriebenen Interaktionen zeigen jedoch, dass sich die zurückgelegte Distanz in der äußeren Zone zwischen der scheinoperierten Gruppe und beiden ACA-Gruppen unterschied: Für den Faktor Testzeitpunkt gab es sowohl einen Interaktionseffekt mit der Gruppe ( $F(3, 30) = 2,85$ ;  $p = 0,041$ ), als auch mit der Zone ( $F(2, 30) = 14,97$ ;  $p < 0,001$ ). Die Interaktionseffekte lösen die Haupteffekte weiter auf: Wie aus Abbildung 64 a

und b hervorgeht unterschieden sich die zurückgelegten Distanzen in den beiden Zonen zu allen Testzeitpunkten signifikant ( $p < 0,001$ ). Des Weiteren war die zurückgelegte Distanz in der äußeren Zone, nicht aber in der inneren Zone, in den postoperativen Messungen geringer als präoperativ (für beide postoperativen Messungen  $p < 0,001$ ). Dies deutet auf ein unverändertes Angstverhalten hin.



**Abbildung 64: Interaktionsgraphen zur Darstellung des Interaktionseffekts zwischen den Zonen und den Testzeitpunkten.** a) Während sich die zurückgelegte Distanz in der inneren Zone postoperativ nicht signifikant änderte, war die zurückgelegte Distanz bei beiden postoperativen Messzeitpunkten niedriger als präoperativ. b) Zu allen Messzeitpunkten war die zurückgelegte Distanz in der inneren Zone signifikant niedriger als in der äußeren Zone. (\* für  $p < 0,05$ ).

Die Posthoc-Analyse für den Interaktionseffekt (Abbildung 65) zwischen dem Testzeitpunkt und der Gruppe schlüsselte den Gruppeneffekt noch weiter auf. Während die zurückgelegte Distanz der scheinoperierten Gruppe vom präoperativen bis zur zweiten postoperativen Messung kontinuierlich abnahm (Vergleich präOP/4 Wochen postOP:  $p = 0,019$ ), war die zurückgelegte Distanz der ACA-Gruppe mit großer Läsion zwar 5 Tage nach der Operation signifikant geringer als präoperativ ( $p = 0,009$ ), nahm dann aber 4 Wochen postoperativ wieder zu. In der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion war die zurückgelegte Distanz zu beiden postoperativen Testzeitpunkten signifikant niedriger als präoperativ (beide Vergleiche  $p \leq 0,001$ ).



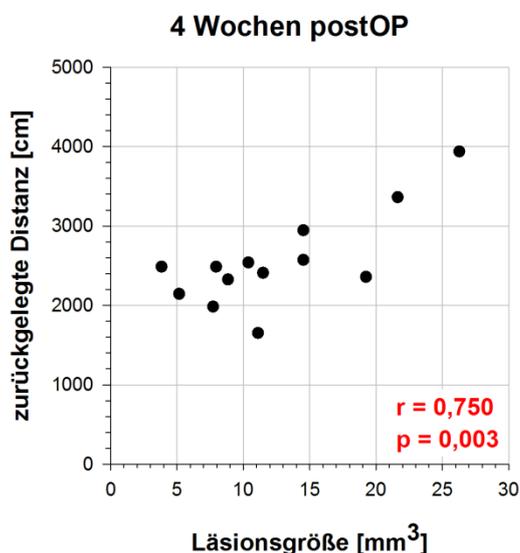
**Abbildung 65: Interaktionsgraphen für die Darstellung des Interaktionseffekts zwischen der Gruppe und dem Testzeitpunkt.** a) Während die zurückgelegte Distanz der scheineroperierten Gruppe von der präoperativen bis zur 2. postoperativen Messung kontinuierlich abnahm (Vergleich präOP/4 Wochen postOP:  $p = 0,019$ ), war die zurückgelegte Distanz der ACA-Gruppe mit großer Läsion 5 Tage nach der Operation signifikant geringer als präoperativ, nahm dann aber 4 Wochen postoperativ wieder zu. Bei der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion war die zurückgelegte Distanz zu beiden postoperativen Testzeitpunkten signifikant niedriger als präoperativ. b) Da die zurückgelegte Distanz beider ACA-Gruppen 5 Tage postoperativ geringer war, die der scheineroperierten Gruppe sich nicht signifikant unterschied, gab es für diesen Testzeitpunkt einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (\*: Schein-OP vs. große Läsion:  $p = 0,034$ ; Schein-OP vs. kleine Läsion:  $p = 0,015$ ).

Außerdem zeigte die Posthoc-Analyse, dass die zurückgelegte Distanz in den ACA Gruppen 5 Tage postoperativ signifikant niedriger war als die der scheineroperierten Gruppe (Abbildung 65 b, Schein-OP vs. ACA-Gruppe mit großer Läsion:  $p = 0,034$ ; Schein-OP vs. ACA-Gruppe mit kleiner Läsion:  $p = 0,015$ ). Der oben erwähnte signifikante Unterschied zwischen der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion und der scheineroperierten Gruppe kam dadurch zustande, dass die ACA-Gruppe mit kleiner Läsion im Mittel zu allen Testzeitpunkten eine geringere Distanz zurücklegte als die scheineroperierte Gruppe. 5 Tage postoperativ war der Unterschied zwischen den Gruppen aber besonders groß (Abbildung 65 a und b).

Die Haupt- und Interaktionseffekte für die zurückgelegte Distanz im Open Field lassen sich also wie folgt zusammenfassen: Zu allen Testzeitpunkten war die zurückgelegte Distanz in der inneren Zone deutlich niedriger als in der äußeren Zone. Die Aufschlüsselung des Interaktionseffekts zwischen den Zonen und den Testzeitpunkten zeigt, dass sich die zurückgelegte Distanz zu den postoperativen Testzeitpunkten in der äußeren Zone, nicht aber in der inneren Zone änderte. 5 Tage

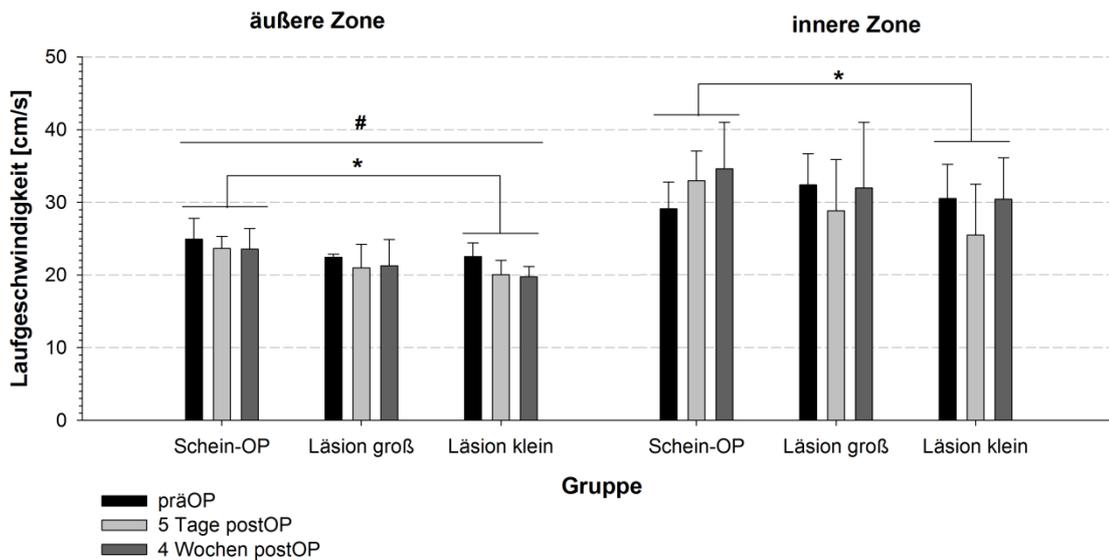
nach ACAo war die zurückgelegte Distanz in der äußeren Zone beider ACA-Gruppen, aber nicht der scheinoperierten Gruppe, signifikant reduziert. Während die ACA-Gruppe mit großer Läsion 4 Wochen postoperativ wieder eine ähnliche Distanz zurücklegte wie präoperativ, war die Lokomotion der Tiere der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion zu beiden postoperativen Zeitpunkten vergleichbar.

Die Korrelationsanalyse unterstützte die bisher beschriebenen Effekte: Wie in Abbildung 66 dargestellt gab es 4 Wochen, nicht aber 5 Tage postoperativ, eine signifikante positive Korrelation zwischen der zurückgelegten Distanz und der Läsionsgröße: Je größer die Läsion der Tiere war, desto mehr Strecke wurde 4 Wochen postoperativ zurückgelegt ( $r = 0,75$ ,  $p = 0,003$ ).



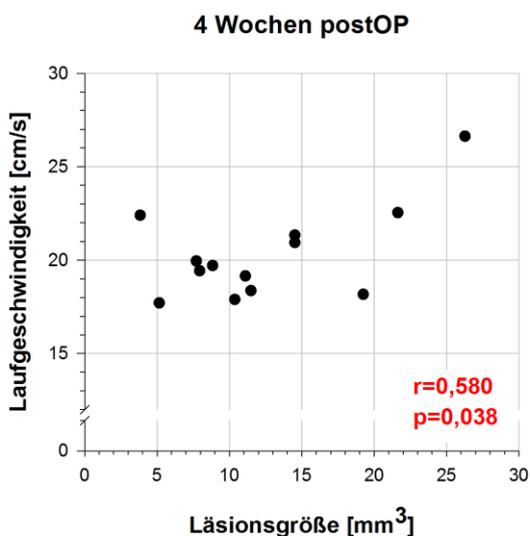
**Abbildung 66: Signifikante positive Korrelation zwischen der Läsionsgröße und der zurückgelegten Strecke 4 Wochen nach ACAo.** Je größer die Läsion, desto länger war die zurückgelegte Distanz 4 Wochen postoperativ ( $r = 0,75$ ,  $p = 0,003$ ). ( $r =$  Pearson-Korrelationskoeffizient).

Abbildung 67 zeigt die Laufgeschwindigkeit im Open Field in Abhängigkeit von der Zone, dem Testzeitpunkt und der Gruppe. Unabhängig von der Gruppe und dem Testzeitpunkt bewegten sich alle Tiere in der inneren Zone schneller als in der äußeren Zone ( $F(1, 15) = 128,16$ ,  $p < 0,001$ ). Es gab außerdem einen signifikanten Haupteffekt zwischen den Gruppen ( $F(1, 15) = 4,05$ ,  $p = 0,039$ ). Dieser Effekt muss jedoch auf Grund eines signifikanten Levene-Tests (Varianzhomogenität konnte mit keiner Transformation hergestellt werden) mit Vorsicht betrachtet werden. Die Auflösung des Effekts zeigte, dass die Laufgeschwindigkeit der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion signifikant niedriger war als die der scheinoperierten Gruppe ( $p = 0,039$ ). Dieser Unterschied bestand aber zu allen Testzeitpunkten, so dass die ACAo im Mittel keinen Effekt auf die Laufgeschwindigkeit im Open Field hatte.



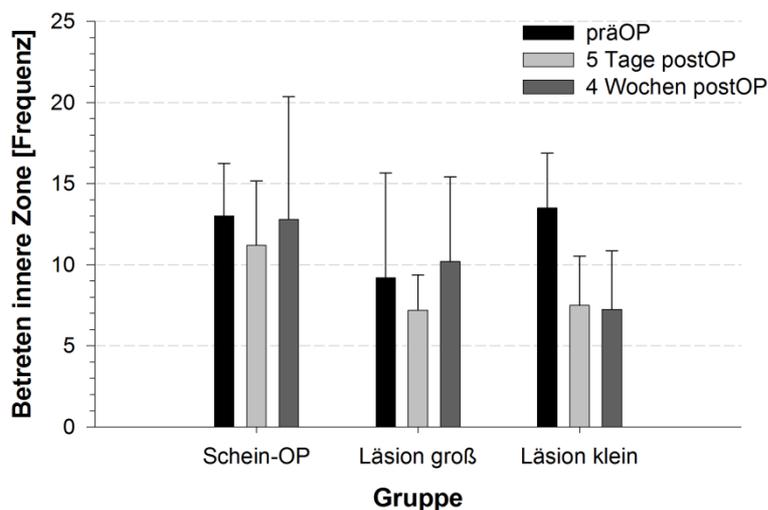
**Abbildung 67: Die Laufgeschwindigkeit im Open Field in Abhängigkeit von der Gruppe, dem Testzeitpunkt und der Zone.** In der inneren Zone bewegten sich die Tiere unabhängig von der Gruppe und dem Testzeitpunkt signifikant schneller (#:  $p < 0,001$ ). Es gab außerdem einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Der Posthoc-Test Sidak zeigte, dass dieser Effekt dadurch zustande kam, dass sich die ACA-Gruppe mit kleiner Läsion zu allen Testzeitpunkten langsamer bewegte als die scheinoperierte Gruppe (\*:  $p = 0,039$ ). Die ACAo hatte im Mittel keinen Effekt auf die Laufgeschwindigkeit.

Die Korrelation mit der Läsionsgröße zeigte jedoch einen Zusammenhang (Abbildung 68): 4 Wochen nach der Operation gab es eine positive Korrelation zwischen der Läsionsgröße und der Laufgeschwindigkeit in der äußeren Zone ( $r = 0,58$ ,  $p = 0,038$ ). Fünf Tage nach der Operation war dieser Effekt zwar nicht signifikant, in der Tendenz gab es aber auch hier eine positive Korrelation zwischen der Läsionsgröße und der Laufgeschwindigkeit in der äußeren Zone ( $r = 0,485$ ,  $p = 0,093$ ).



**Abbildung 68: Positive Korrelation zwischen der Laufgeschwindigkeit 4 Wochen nach ACAo in der äußeren Zone und der Läsionsgröße.** Beim zweiten postoperativen Testzeitpunkt bewegten sich die ACA-Tiere mit größerer Läsion im Open Field schneller ( $r = 0,58$ ,  $p = 0,038$ ). ( $r =$  Pearson-Korrelationskoeffizient).

Des Weiteren wurde untersucht, ob die ACAo einen Effekt auf die Wechselfrequenz in der inneren Zone hatte (Abbildung 69). Es gab keine signifikanten Haupt- oder Interaktionseffekte. Nur tendenziell unterschieden sich die Testzeitpunkte voneinander ( $F(2, 30) = 3,1, p = 0,060$ ). Wie aus Abbildung 20 hervorgeht, kam diese Tendenz dadurch zustande, dass alle Gruppen die innere Zone 5 Tage postoperativ im Mittel etwas seltener betraten als präoperativ. Daher ist davon auszugehen, dass die ACAo in der Open Field Arena kein verändertes Angstverhalten hervorruft.

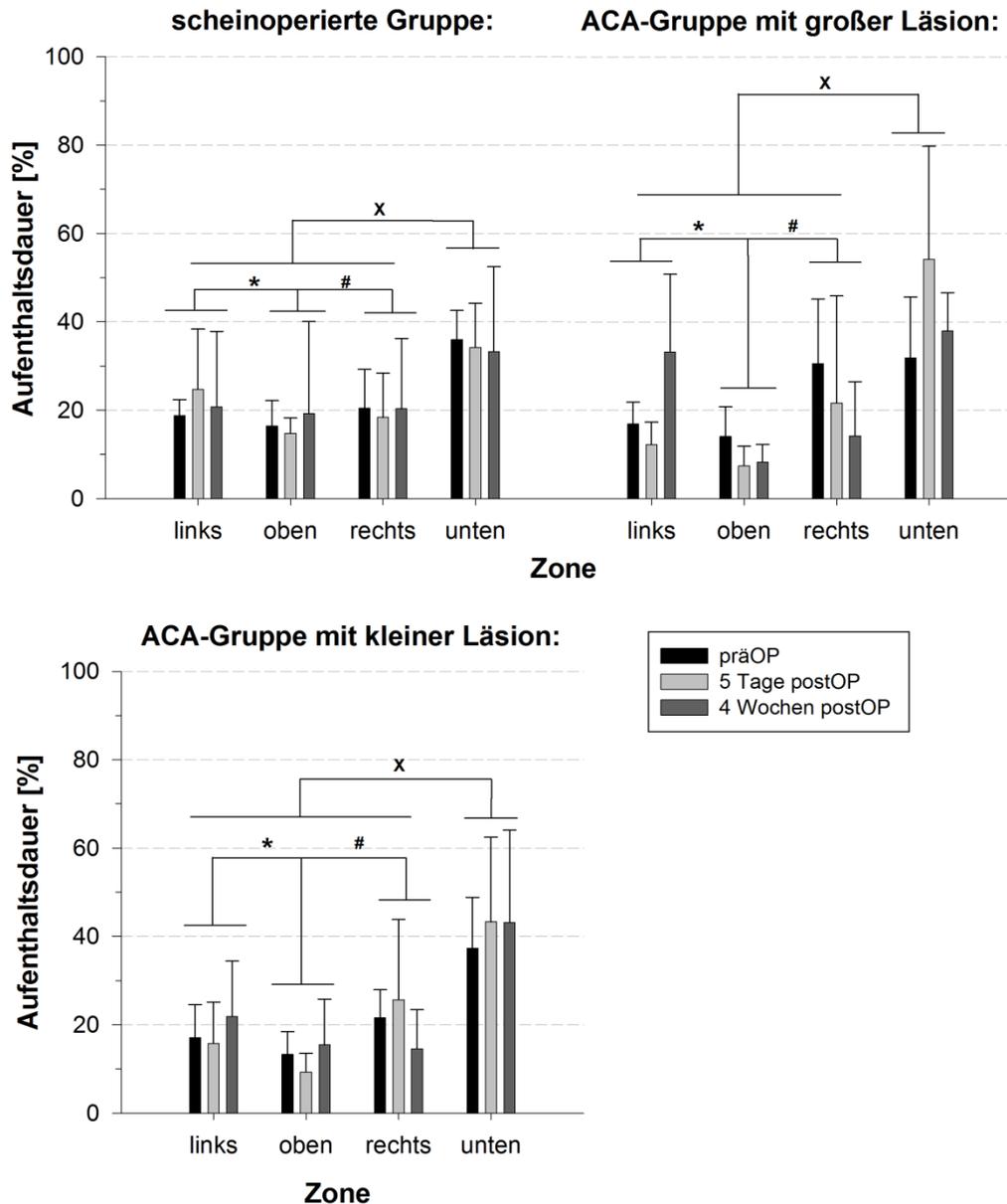


**Abbildung 69: Das Betreten der inneren Zone in Abhängigkeit vom Testzeitpunkt und der Gruppe.** Es gab keine signifikanten Haupteffekte oder Interaktionen. 5 Tage postoperativ betraten jedoch alle Gruppen die innere Zone in der Tendenz seltener.

Wie auch schon am Vergleich der zurückgelegten Distanz zwischen äußerer und innerer Zone deutlich wurde, hielten sich die Tiere insgesamt mehr in der äußeren Zone auf als in der inneren. Im Mittel verbrachten die Versuchstiere etwa 90 % der Zeit in der äußeren Zone (nicht dargestellt).

Wie im Methodenteil erläutert (vgl. 2.7.1) wurde das Open Field in vier verschiedene Zonen eingeteilt (links, oben, rechts, unten). So konnte unter anderem untersucht werden, ob eine bestimmte Zone präferiert wurde. Die Tiere wurden zu Beginn des Versuchs immer in die untere Zone gesetzt (vgl. 2.7.1). Abbildung 70 zeigt den prozentualen Aufenthaltsanteil für die vier Zonen. Die ACAo hatte keinen Effekt auf die Zonenpräferenz. Es gab jedoch einen signifikanten Haupteffekt für den Faktor Zone ( $F(3, 45) = 31,42, p < 0,001$ ). Wie die Posthoc-Analyse zeigte, hielten sich alle Gruppe zu allen Testzeitpunkten am meisten in der unteren Zone auf (für alle Vergleiche:  $p \leq 0,001$ ). Somit ist davon auszugehen, dass alle Tiere wie in der

Literatur beschrieben eine „Homebase“ ausbilden. Am wenigsten Zeit wurde in der oberen Zone verbracht, also der Zone, die am weitesten von der „Homebase“ entfernt lag. Dies zeigte der signifikante Unterschied zwischen der oberen Zone und der rechten bzw. der linken Zone (oben vs. links:  $p = 0,008$ ; oben vs. rechts:  $p = 0,02$ ).

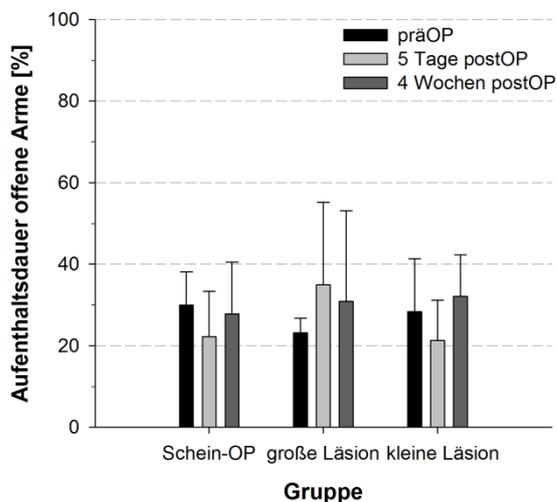


**Abbildung 70: Abhängigkeit zwischen der prozentualen Aufenthaltsdauer in den verschiedenen Zonen (links, oben, rechts, unten), der Gruppe und dem Testzeitpunkt.** Alle Gruppen hielten sich im Mittel zu allen Testzeitpunkten am meisten in der unteren Zone auf (x:  $p \leq 0,001$  (für alle Vergleiche)). Am wenigsten Zeit wurde in der oberen Zone verbracht. Die prozentuale Aufenthaltsdauer war in dieser Zone signifikant niedriger als in der linken und rechten Zone (\*: oben vs. links:  $p = 0,008$ ; #: oben vs. rechts:  $p = 0,02$ ).

### 6.4.2 Erhöhte Plus-Arena

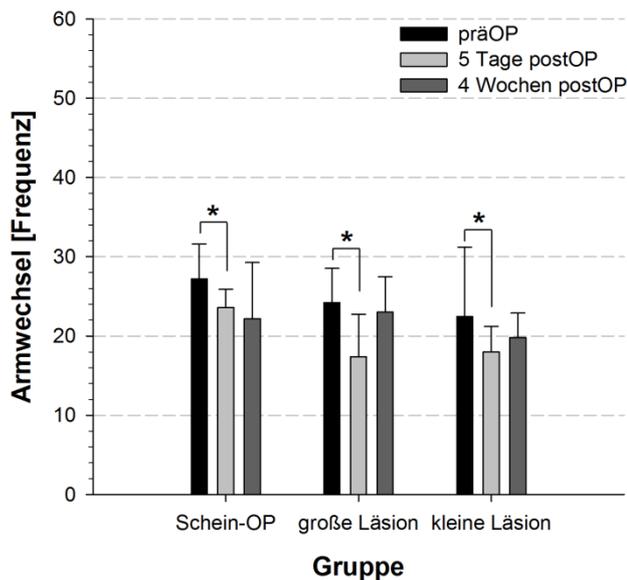
Des Weiteren wurde ein möglicher Effekt der ACAo auf der erhöhten Plus-Arena untersucht. Wie im Material und Methodenteil (vgl. 2.7.2) beschrieben wird die Aufenthaltsdauer auf den offenen Armen als inverses Maß für die Ängstlichkeit benutzt. Außerdem wurde die zurückgelegte Distanz auf der Arena analysiert, sowie die Armwechselfrequenz.

Abbildung 71 zeigt den Vergleich der prozentualen Aufenthaltsdauer auf den offenen und geschlossenen Armen in Abhängigkeit vom Testzeitpunkt und der Gruppe. Die ACAo hatte keinen Effekt auf die Zeit, die die Tiere auf den offenen Armen verbrachten ( $F(2, 15) = 0,08$ ,  $p = 0,926$ ). Auch zwischen den Testzeitpunkten gab es keinen Unterschied ( $F(2, 30) = 0,61$ ,  $p = 0,552$ ). Zu allen Testzeitpunkten hielten sich die Tiere unabhängig von der Gruppe etwa 30 % der Zeit auf den offenen Armen auf. Somit scheint die Okklusion der ACA nicht zu einer Veränderung der Ängstlichkeit zu führen.



**Abbildung 71: Prozentuale Aufenthaltsdauer auf den offenen Armen in Abhängigkeit von dem Testzeitpunkt und der Gruppe.** Es gab keine signifikanten Haupt- oder Interaktionseffekte. Für alle Gruppen lag die prozentuale Aufenthaltsdauer sowohl prä- als auch postoperativ bei etwa 40 %.

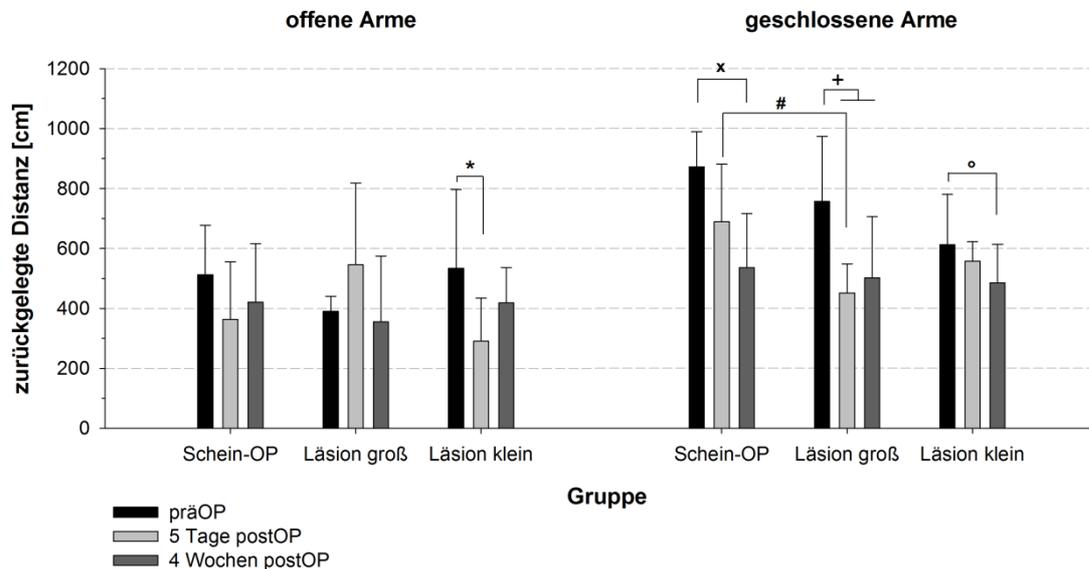
Allerdings unterschied sich die Aktivität der Versuchstiere auf der erhöhten Plus-Arena zwischen den Testzeitpunkten (Abbildung 72; signifikanter Haupteffekt:  $F(3, 45) = 5,62$ ;  $p = 0,008$ ). Alle Gruppen wechselten im Mittel 5 Tage postoperativ seltener zwischen den Armen der erhöhten Plus-Arena als präoperativ ( $p = 0,016$ ). 4 Wochen postoperativ war dieser Effekt nicht mehr zu beobachten. Die ACAo hatte keinen Einfluß auf die Wechselfrequenz: Es gab weder einen Gruppeneffekt ( $F(2, 15) = 2,21$ ;  $p = 0,144$ ), noch eine signifikante Interaktion zwischen den Gruppen und den Testzeitpunkten ( $F(2, 15) = 0,69$ ;  $p = 0,607$ ).



**Abbildung 72: Armwechselfrequenz in Abhängigkeit von dem Testzeitpunkt und der Gruppe.** Unabhängig von der Gruppe wechselten die Tiere im Mittel 5 Tage postoperativ signifikant seltener zwischen den Armen als präoperativ (\*:  $p = 0,016$ ). 4 Wochen nach der Operation war dieser Effekt nicht mehr zu beobachten.

Als weiteres Maß für die lokomotorische Aktivität wurde die zurückgelegte Distanz auf den offenen und geschlossenen Armen verglichen (Abbildung 73). Hier gab es einige signifikante Haupteffekte und Interaktionen: Für den Faktor Testzeitpunkt gab es einen Haupteffekt ( $F(1,43, 21,47) = 13,89$ ;  $p < 0,001$ ). Da die Sphäritätsannahme verletzt war ( $p = 0,029$ ), wurden die Freiheitsgrade Greenhouse-Geisser korrigiert ( $\epsilon = 0,716$ ). Der Posthoc-Test Sidak zeigte, dass dieser Unterschied dadurch bedingt war, dass die zurückgelegte Distanz auf den offenen und geschlossenen Armen präoperativ höher war als 5 Tage ( $p = 0,016$ ) und 4 Wochen nach der ACAo ( $p < 0,001$ ). Außerdem legten die Gruppen auf den offenen Armen insgesamt weniger Strecke zurück als auf den geschlossenen Armen ( $F(1, 15) = 13,37$ ;  $p = 0,002$ ).

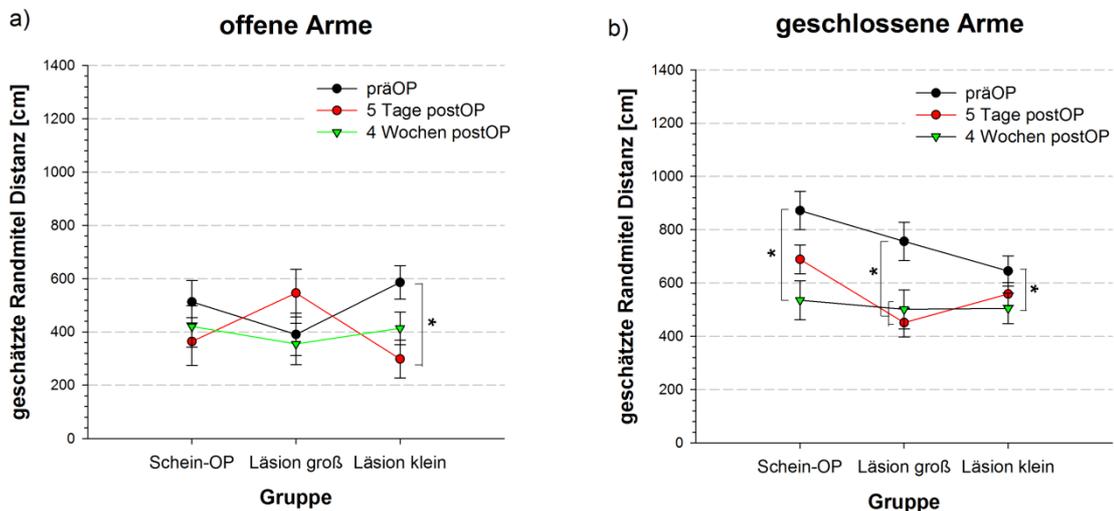
Es gab jedoch eine signifikante Interaktion zwischen der Gruppe, der Zone und dem Testzeitpunkt ( $F(4, 30) = 4,46$ ;  $p = 0,006$ ), so dass die Haupteffekte (Zone, Testzeitpunkt) weiter aufgeschlüsselt werden mussten.



**Abbildung 73: Zurückgelegte Distanz auf den offenen und geschlossenen Armen in Abhängigkeit von der Gruppe und dem Testzeitpunkt.** Es gab mehrere signifikante Effekte: Während sich die zurückgelegte Strecke auf den offenen Armen postoperativ nur in der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion verringerte (\*:  $p = 0,024$ ), war die zurückgelegte Distanz auf den geschlossenen Armen 4 Wochen postoperativ in allen Gruppen niedriger als präoperativ (x:  $p < 0,001$ ; °:  $p = 0,044$ ; +:  $p = 0,025$  (5 Tage postOP);  $p = 0,004$  (4 Wochen postOP)). In der ACA-Gruppe mit großer Läsion war die zurückgelegte Distanz auch schon 5 Tage nach ACAo niedriger als präoperativ. 5 Tage nach der Operation ergab sich dadurch auch ein signifikanter Unterschied zwischen der scheinoperierten Gruppe und der ACA-Gruppe mit großer Läsion. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die Effekte innerhalb der Gruppen zwischen den geschlossenen und offenen Armen zu verschiedenen Testzeitpunkten nicht gezeigt (vgl. dazu Text).

Wie auch der Interaktionsgraph (Abbildung 74) zeigt, veränderte sich die Lokomotion der verschiedenen Gruppen auf der erhöhten Plus-Arena je nach Testzeitpunkt. Zudem bestand eine Zonenabhängigkeit (offen oder geschlossen). Nur die ACA-Gruppe mit kleiner Läsion legte 4 Wochen nach der Operation auf den offenen Armen signifikant weniger Strecke zurück als präoperativ ( $p = 0,024$ ). Die anderen beiden Gruppen verhielten sich auf den offenen Armen zu allen Testzeitpunkten ähnlich. Auf den geschlossenen Armen gab es für alle Gruppen Effekte: Die scheinoperierte Gruppe bewegte sich 4 Wochen postoperativ weniger auf den geschlossenen Armen als präoperativ ( $p < 0,001$ ). Dies war auch für ACA-Gruppe mit kleiner Läsion der Fall ( $p = 0,044$ ). In der ACA-Gruppe mit großer Läsion war dieser Effekt schon 5 Tage ( $p = 0,025$ ) postoperativ zu beobachten und hielt bis 4 Wochen nach

der Operation an ( $p = 0,004$ ). Dass die ACA-Gruppe mit großer Läsion 5 Tage postoperativ weniger Strecke zurücklegte, resultierte auch in einem signifikanten Effekt zwischen der scheinoperierten Gruppe und der ACA-Gruppe mit großer Läsion ( $p = 0,021$ ).

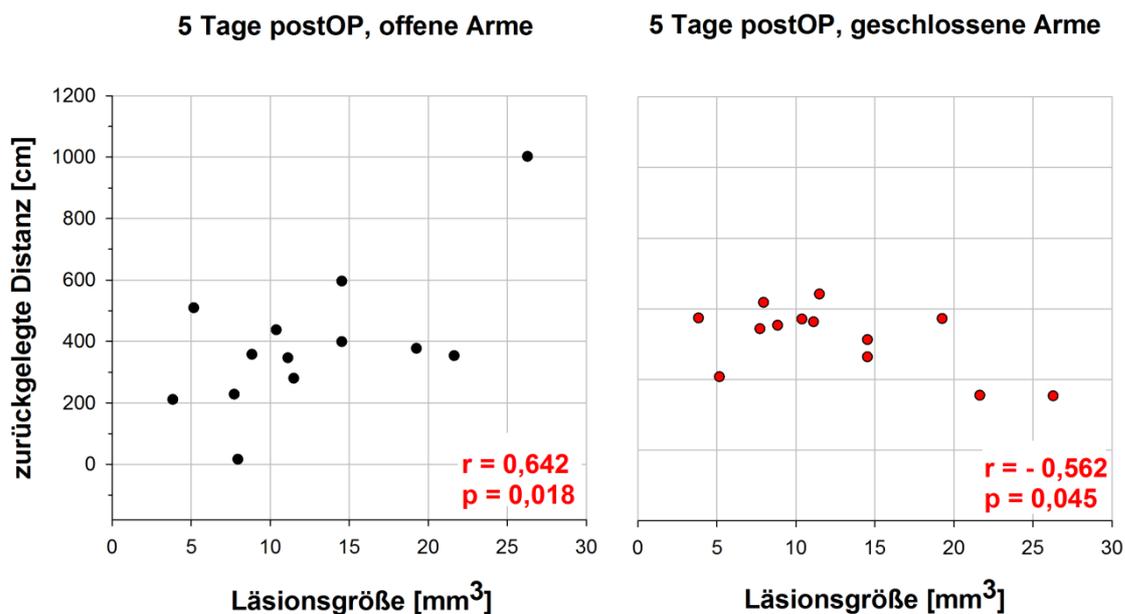


**Abbildung 74: Darstellung des signifikanten Interaktionseffekts zwischen den drei Faktoren Zone, Gruppe und Testzeitpunkt. a)** Auf den offenen Armen gab es nur einen signifikanten Unterschied innerhalb der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion: 5 Tage postoperativ war die zurückgelegte Distanz signifikant geringer als präoperativ. **b)** Auf den geschlossenen Armen gab es innerhalb aller Gruppen signifikante Effekte: In der scheinoperierten Gruppe und in der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion war die zurückgelegte Strecke 4 Wochen nach ACAo niedriger als präoperativ. In der ACA-Gruppe mit großer Läsion unterschied sich die präoperative Messung von beiden postoperativen Testzeitpunkten.

Durch die unterschiedlichen Effekte der Gruppen auf den geschlossenen Armen ergaben sich in der Posthoc-Analyse für die verschiedenen Gruppen außerdem einige signifikante Effekte zwischen den offenen und geschlossenen Armen, die aus Gründen der Übersichtlichkeit in Abbildung 73 nicht eingezeichnet sind: Innerhalb der scheinoperierten Gruppe war die zurückgelegte Distanz auf den offenen Armen präoperativ ( $p < 0,001$ ) und 5 Tage postoperativ ( $p = 0,025$ ) niedriger als auf den geschlossenen Armen. In der ACA-Gruppe mit großer Läsion gab es nur präoperativ einen Unterschied zwischen den Armen ( $p < 0,001$ ) und in der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion war die zurückgelegte Strecke auf den offenen Armen 5 Tage nach der Operation signifikant geringer als auf den geschlossenen Armen ( $p = 0,024$ ).

Zusammenfassend war die zurückgelegte Distanz 4 Wochen postoperativ auf den geschlossenen Armen in allen Gruppen niedriger als präoperativ. In der ACA-Gruppe mit großer Läsion war dieser Effekt jedoch schon 5 Tage nach der Operati-

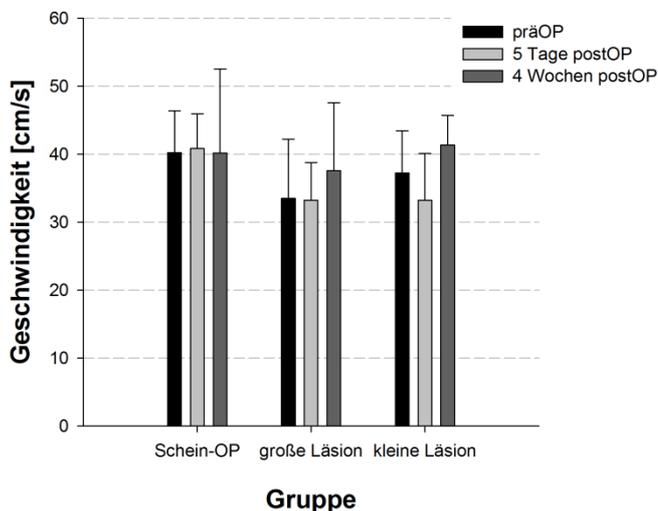
on zu beobachten. Die Korrelationsanalyse bestärkte diesen ACAo Effekt: Wie in Abbildung 75 dargestellt, gab es 5 Tage postoperativ einen signifikant negativen Korrelationseffekt zwischen der Läsionsgröße und der zurückgelegten Distanz auf den geschlossenen Armen. Gleichzeitig war die zurückgelegte Distanz auf den offenen Armen positiv mit der Läsionsgröße korreliert. Die Korrelationsanalyse bestätigt also, was aus Abbildung 73 schon in der Tendenz zu erkennen ist: Je größer die Läsion der ACA-Tiere war, umso mehr Strecke legten die Tiere 5 Tage postoperativ auf den offenen Armen zurück ( $r = 0,642$ ,  $p = 0,018$ ). Gleichzeitig reduzierte sich die zurückgelegte Strecke auf den geschlossenen Armen ( $r = -0,562$ ,  $p = 0,045$ ). Während alle Tiere unabhängig von der Gruppe postoperativ weniger Strecke zurücklegten, bewirkte die ACAo eher, dass sich die Tiere auf den offenen Armen mehr bewegten als präoperativ und auf den geschlossenen Armen weniger.



**Abbildung 75: Darstellung der signifikanten Korrelationseffekte auf den offenen und geschlossenen Armen.** 5 Tage postoperativ war die Läsionsgröße auf den offenen Armen positiv mit der zurückgelegten Distanz korreliert ( $r = 0,642$ ,  $p = 0,018$ ), auf den geschlossenen Armen gab es dagegen eine negative Korrelation ( $r = -0,562$ ,  $p = 0,045$ ). Je größer die Läsion war, umso mehr Strecke wurde bei der ersten postoperativen Messung auf den offenen Armen zurückgelegt, die zurückgelegte Strecke auf den geschlossenen Armen verringerte sich mit zunehmender Läsionsgröße.

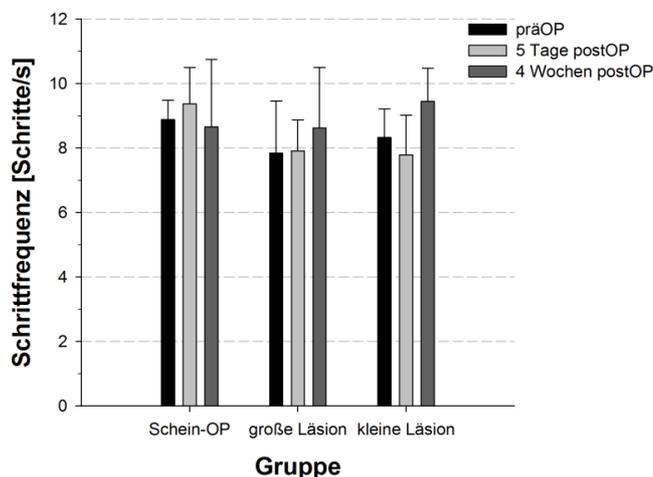
### 6.4.3 Cat Walk

Das Laufverhalten vor und nach ACAo wurde mit der Cat Walk Methode untersucht. Abbildung 76 zeigt die mittlere Laufgeschwindigkeit der Versuchstiere in Abhängigkeit von der Versuchsgruppe und dem Testzeitpunkt. Es gab keine signifikanten Haupteffekte oder Interaktionen. Nur in der Tendenz unterschieden sich die Testzeitpunkte ( $F(2, 30) = 2,72$ ;  $p = 0,082$ ). Wie aus dem Graphen zu erkennen ist, kam dieser Effekt dadurch zustande, dass die Laufgeschwindigkeit aller Gruppen 4 Wochen postoperativ tendenziell höher war als 5 Tage nach der Operation. Die ACAo hatte keinen Effekt auf die Laufgeschwindigkeit (Faktor Versuchsgruppe:  $F(2, 15) = 1,08$ ;  $p = 0,363$ ).



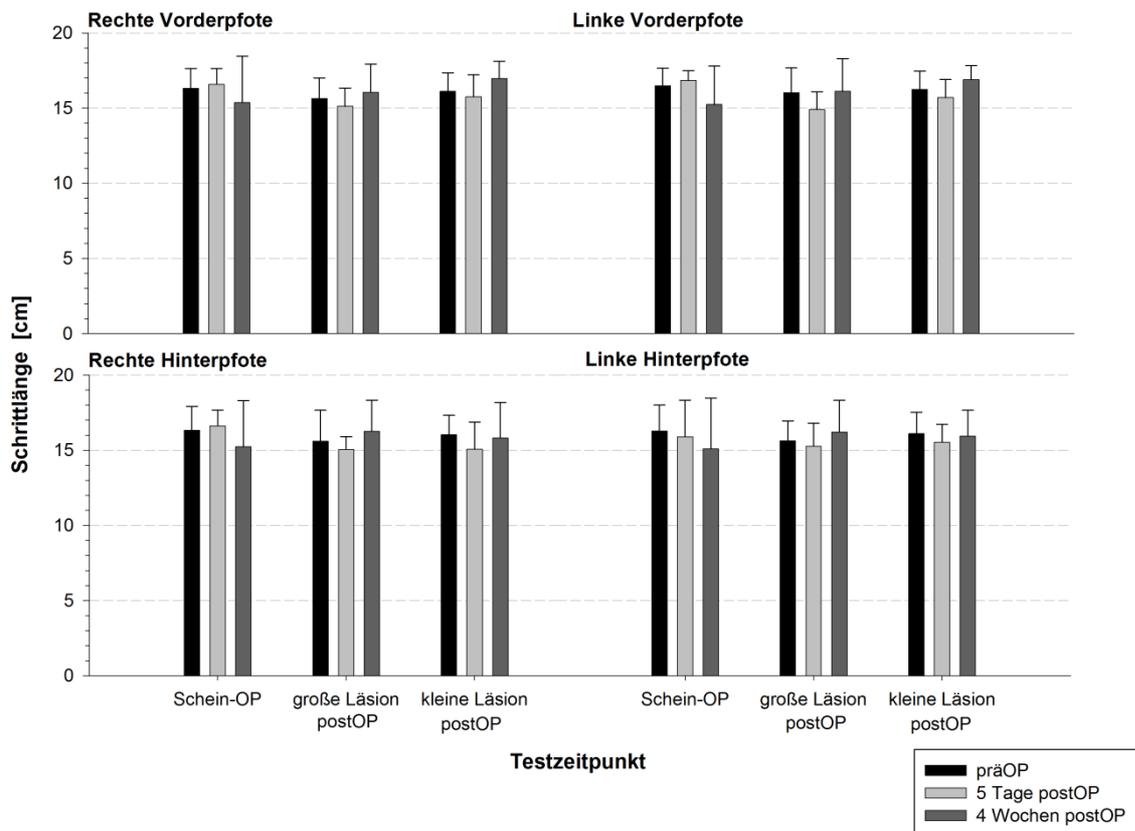
**Abbildung 76: Laufgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Versuchsgruppe und dem Testzeitpunkt.** Es gab keine signifikanten Haupteffekte oder Interaktionen. Nur in der Tendenz gab es einen Unterschied zwischen den Testzeitpunkten ( $p = 0,082$ ). Tendenzuell bewegten sich alle Gruppen 4 Wochen postoperativ schneller.

Abbildung 77 zeigt die Schrittfrequenz in Abhängigkeit von der Versuchsgruppe und dem Testzeitpunkt. Es gab keine signifikanten Haupteffekte (Versuchsgruppe:  $F(2, 15) = 0,81$ ;  $p = 0,463$ ; Testzeitpunkt:  $F(2, 30) = 2,023$ ;  $p = 0,150$ ).



**Abbildung 77: Schrittfrequenz in Abhängigkeit von der Versuchsgruppe und dem Testzeitpunkt.** Es gab keine signifikanten Haupteffekte oder Interaktionen. Im Mittel war das Verhalten aller Gruppen zu allen Testzeitpunkten vergleichbar. Die ACAo hatte offensichtlich keinen Effekt auf die Schrittfrequenz.

Des Weiteren wurde die Schrittlänge für die einzelnen Pfoten in Abhängigkeit vom Testzeitpunkt und der Versuchsgruppe analysiert (Abbildung 78). Es gab keine signifikanten Haupteffekte (Testzeitpunkt:  $F(2, 30) = 0,427$ ;  $p = 0,657$ ; Pfote:  $F(3, 45) = 1,34$ ;  $p = 0,257$ ; Gruppe:  $F(2, 15) = 0,158$ ;  $p = 0,855$ ) oder Interaktionen. Auch die Schrittlänge der einzelnen Pfoten unterschied sich im Mittel nicht. Für die verschiedenen Cat Walk-Parameter (Geschwindigkeit, Schrittfrequenz, Schrittlänge) gab es keine signifikanten Korrelation mit der Läsionsgröße.



**Abbildung 78: Schrittlänge für die verschiedenen Pfoten in Abhängigkeit vom Testzeitpunkt und der Versuchsgruppe.** Weder die Versuchsgruppen noch die Testzeitpunkte unterschieden sich. Auch die Schrittlänge der einzelnen Pfoten war im Mittel identisch. Die ACAo hatte also keinen Effekt auf die Schrittlänge.

## 6.5 Postoperative Verhaltens-PET-Ergebnisse

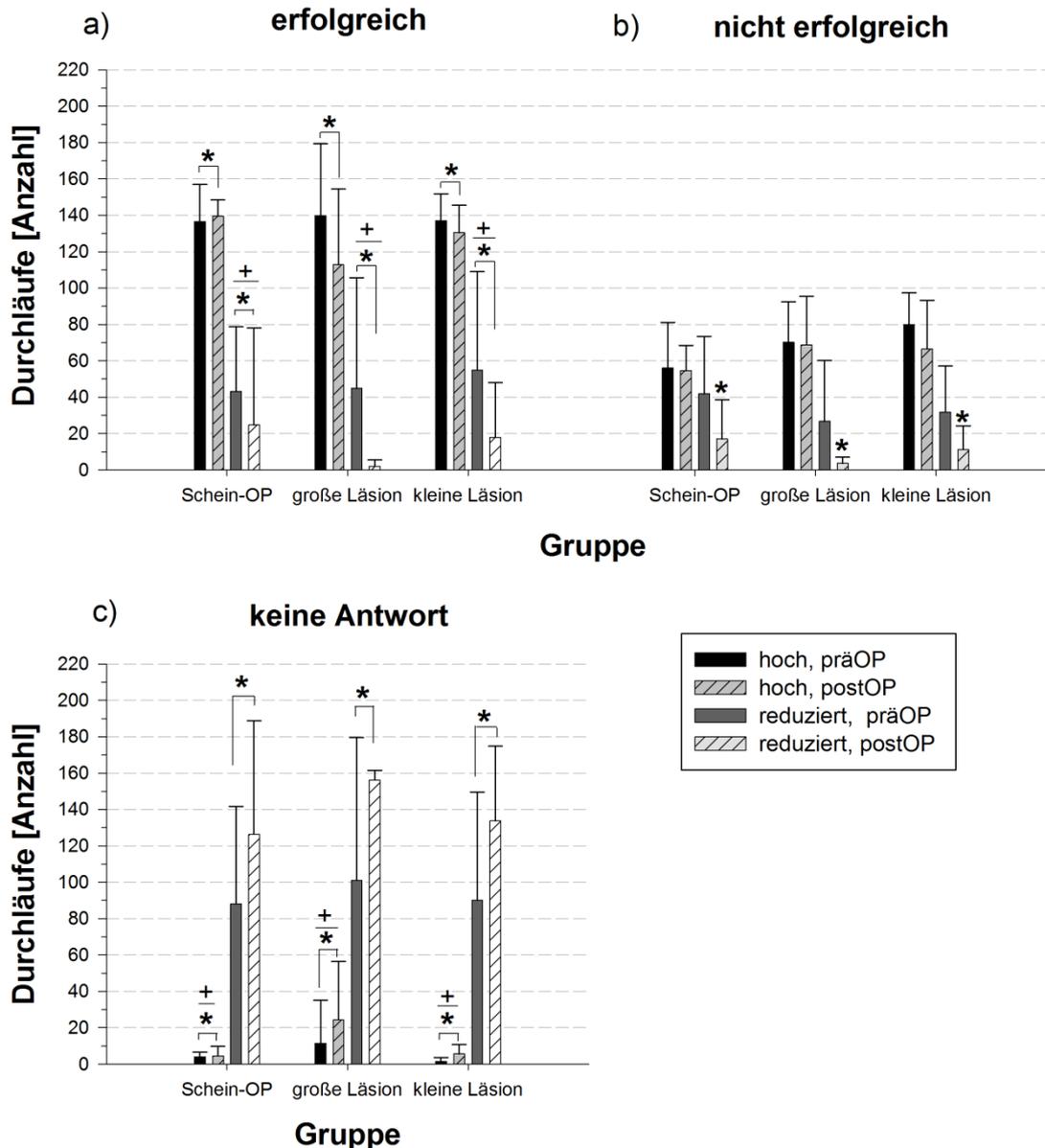
Im Folgenden werden die postoperativen PET-Ergebnisse erläutert. Auch postoperativ durchlief jedes Tier im FDG-PET die Testbedingung (hohes Motivationslevel) sowie die beiden Kontrollbedingungen (reduziertes Motivationslevel, Durchlaufkontrolle). Acht weitere Tiere wurden zusätzlich in den gleichen Bedingungen im FDOPA-PET (nur ACA-Tiere) getestet (vgl. 2.9.3).

Statistisch wurden für das FDG-Verhaltens-PET die FDG-Aufnahmen jeder Gruppe (vgl. 2.10.2; Schein-OP, ACA-Gruppe mit großer Läsion, ACA-Gruppe mit kleiner Läsion) mit einer zweifaktoriellen ANOVA mit Messwiederholung verglichen (Faktoren: PET-Bedingung, Testzeitpunkt). Die FDOPA-PET-Bedingungen wurden, auf Grund der kleinen Stichprobe, nur innerhalb der Gesamtgruppe verglichen. Die Aktivitätsunterschiede werden als prozentuale Änderung (Mittelpunktberechnung, vgl. 2.6.4) angegeben. Wie auch im präoperativen PET-Ergebnisteil werden signifikante Voxel nur berücksichtigt, wenn mindestens drei nebeneinanderliegende Voxel signifikant waren und der Aktivitätsunterschied mindestens 5 % betrug. Der Fokus lag auf dem Vergleich der prä- und postoperativen PET-Messung im hohen Motivationslevel. Zur vereinfachten Interpretation der PET-Ergebnisse werden im Folgenden zunächst die Verhaltensdaten zum Verhaltens-PET kurz erläutert.

### 6.5.1 FDG-Verhaltens-PET

#### 6.5.1.1 Verhaltensergebnisse

Abbildung 79 a-c zeigt die Anzahl erfolgreicher, nicht erfolgreicher und nicht beantworteter Durchläufe in Abhängigkeit vom Testzeitpunkt (präoperativ, postoperativ) und dem Motivationslevel. Auf Grund der geringen Anzahl an Durchläufen nach Vorfütterung wurden die verschiedenen Antworttypen als Absolutwerte aufgetragen. Es ist zu beachten, dass sowohl bezüglich der erfolgreichen Durchläufe als auch bezüglich der Gruppen die Varianzhomogenität auch nach Transformation nicht gegeben war (Levene-Test signifikant). Der Erfolg war sowohl vom Motivationslevel ( $F(1, 15) = 89,58, p < 0,001$ ), als auch vom Testzeitpunkt ( $F(1, 15) = 6,54, p = 0,022$ ) abhängig. Die Gruppen unterschieden sich statistisch nicht ( $F(2, 15) = 0,708, p = 0,508$ ).



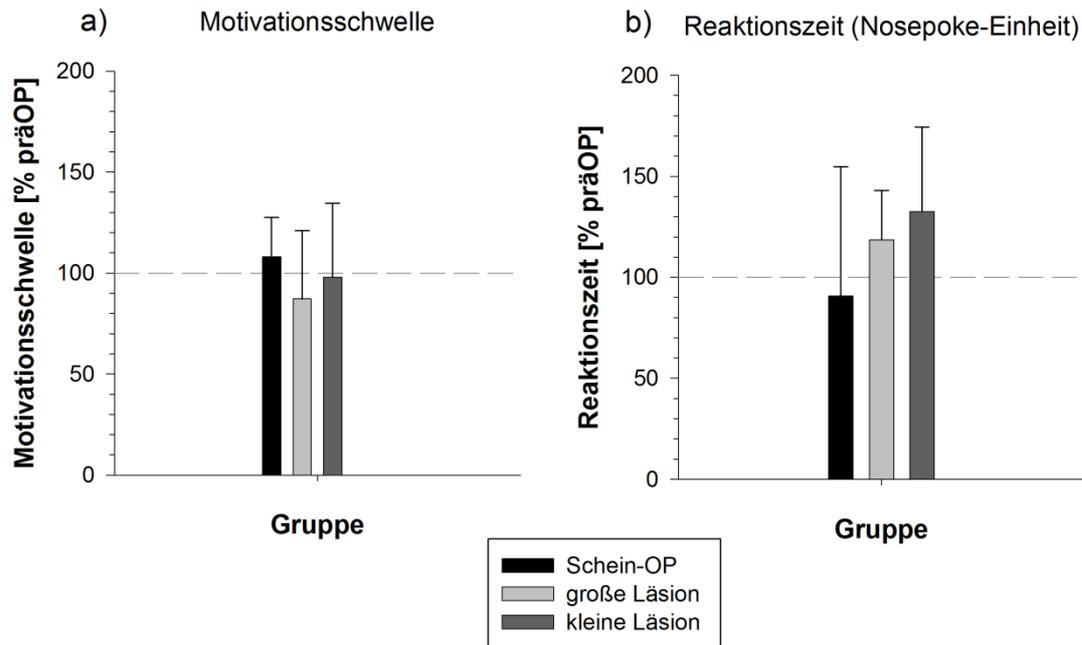
**Abbildung 79: Erfolgreiche, nicht erfolgreiche und nicht beantwortete Durchläufe im FDG-Verhaltens-PET in Abhängigkeit vom Motivationslevel und dem Testzeitpunkt. a)** Anzahl erfolgreicher Durchläufe: Der Erfolg an der Nosepoke-Einheit war vom Motivationslevel (+:  $p < 0,001$ ) und vom Testzeitpunkt abhängig (\*:  $p = 0,022$ ). Unabhängig von der Gruppe war die Anzahl erfolgreicher Durchläufe in der präoperativen FDG-Messung bei hoher Motivation am höchsten, am niedrigsten dagegen postoperativ nach Vorfütterung. **b)** Der statistische Vergleich der Anzahl nicht erfolgreicher Durchläufe ergab einen Interaktionseffekt zwischen dem Motivationslevel und dem Testzeitpunkt. Die Auflösung des Effekts zeigte, dass es einen signifikanten Unterschied zwischen der prä- und postoperativen Messungen im reduzierten Motivationslevel gab (\*:  $p = 0,045$ ). **c)** Auch die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe war abhängig vom Motivationslevel (+:  $p < 0,001$ ) und dem Testzeitpunkt (\*:  $p = 0,013$ ): Nach Vorfütterung stieg die Durchlaufanzahl ohne Antwort deutlich an. Postoperativ war die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe insgesamt höher als präoperativ.

Die Anzahl erfolgreicher Durchläufe war nach Vorfütterung geringer als bei hoher Motivation. Unabhängig vom Motivationslevel war der Erfolg an der Nosepoke-Einheit außerdem postoperativ geringer als präoperativ. Für die Anzahl nicht erfolgreicher Durchläufe (b) gab es ebenfalls für beide Faktoren Haupteffekte (Motivationslevel:  $F(1, 15) = 96,08, p < 0,001$ , Testzeitpunkt:  $F(1, 15) = 9,67, p = 0,007$ ). Auch die Interaktion zwischen den beiden Faktoren war signifikant ( $F(1, 15) = 4,78, p = 0,045$ ). Die Auflösung des Effekts zeigte, dass es einen signifikanten Unterschied zwischen den prä- und postoperativen Messungen bei reduziertem Motivationslevel gab ( $p = 0,005$ ). Auch der statistische Vergleich zwischen den nicht beantworteten Durchläufen (c) ergab signifikante Haupteffekte für beide Faktoren (Motivationslevel:  $F(1, 15) = 122,85, p < 0,001$ , Testzeitpunkt:  $F(1, 15) = 9,36, p = 0,008$ ), jedoch keinen Interaktionseffekt ( $F(1, 15) = 1,97, p = 0,181$ ). Die Gruppen verhielten sich identisch ( $F(2, 15) = 1,09, p = 0,362$ ). Die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe war nach Vorfütterung deutlich höher als bei hoher Motivation. Postoperativ stieg die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe unabhängig vom Motivationslevel an. Auch hier war jedoch die Varianzhomogenität zwischen den Gruppen nicht gegeben (Levenetest signifikant) und die Transformationen hatten keinen Effekt, so dass das Ergebnis mit Vorsicht betrachtet werden muss. Die Ergebnisse aller Antworttypen im FDG-Verhaltens-PET können wie folgt zusammengefasst werden: Nach Vorfütterung sank vor allem die Anzahl erfolgreicher Durchläufe, die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe stieg dagegen an. Postoperativ war insgesamt die Durchlaufanzahl, unabhängig vom Erfolg und der Versuchsgruppe, geringer. Bei nicht erfolgreichen Durchläufen zeigte sich dieser Effekt nach Vorfütterung besonders deutlich.

Abbildung 80 zeigt die prozentuale Änderung der Motivationsschwelle (a) und der Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit für die FDG-Messung bei hohem Motivationslevel in Abhängigkeit von der Gruppe. Die Motivationsschwelle (a) blieb postoperativ unabhängig von der Gruppe ungefähr auf dem präoperativen Level und war damit vergleichbar mit der Verhaltensmessung 5 Wochen nach der Operation (vgl. 6.3.1). Alle Gruppen verhielten sich identisch ( $F(2, 15) = 0,471, p = 0,633$ ).

Die Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit (b) verlängerten sich dagegen nach ACAo durchschnittlich um 20-30 %, während die scheinoperierte Gruppe im Mittel tendenziell schneller wurde. Die Standardabweichungen aller Gruppen waren je-

doch sehr hoch, so dass kein statistischer Unterschied zwischen den Gruppen beobachtet werden konnte ( $F(2, 15) = 2,09, p = 0,158$ ). Die Korrelationsanalyse ergab weder für die postoperative Änderung der Motivationsschwelle, noch für die Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit einen Zusammenhang mit der Läsionsgröße.



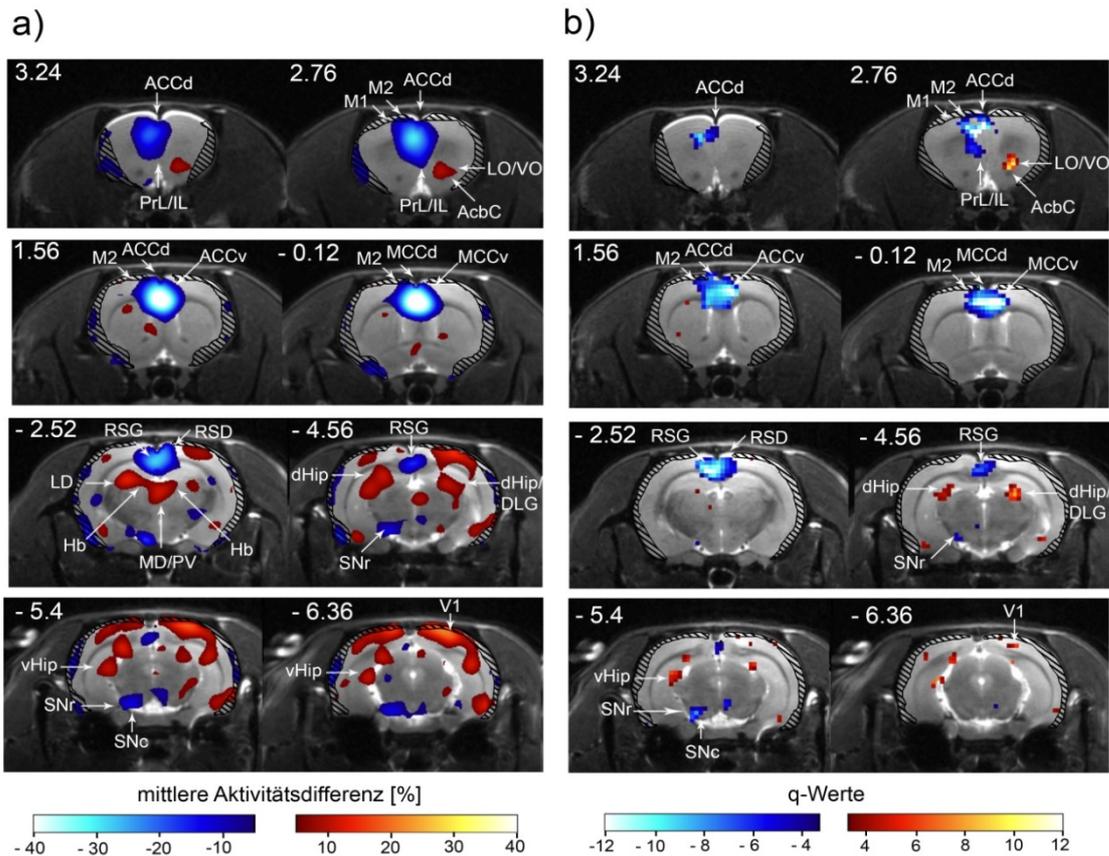
**Abbildung 80: Prozentuale Änderung der Motivationsschwelle und der Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit in Abhängigkeit von der Gruppe (FDG-Messung, hohes Motivationslevel).** a) Die Motivationsschwelle der scheinoperierten Gruppe stieg postoperativ etwas an, während alle ACA-Tiere im Mittel in etwa auf dem präoperativen Level blieben. b) Die Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit verlängerte sich im Mittel nach ACAo, aber nicht nach Schein-OP um 20-30 %. Die Standardabweichungen waren jedoch hoch, so dass keine statistisch signifikanten Effekte beobachtet wurden.

### 6.5.1.2 Metabolische Aktivitätsunterschiede

In Abbildung 3 ist der Vergleich der präoperativen und postoperativen Messung bei hoher Motivation für die ACA-Gruppe mit großer Läsion dargestellt. Für  $p < 0,05$  betrug der kritische q-Wert  $\pm 3,26$  (mit  $df = 8, k = 2$ ). Die mittlere Aktivität sank postoperativ im zingulären Kortex um bis zu 48 %. Dieser Unterschied war auf Voxel Ebene sowohl im anterioren als auch im mittleren zingulären Kortex (ACC und MCC) signifikant. Auch im retrosplenialen Kortex war der Effekt der ACAo deutlich zu sehen: Hier sank die metabolische Aktivität um bis zu 25 %. Auch prälimbische Regionen waren von der ACAo betroffen: Im prälimbischen und infralimbischen Kortex sank die Glukoseutilisation im Mittel um bis zu 9 %.

In Arealen außerhalb des ACA-Versorgungsgebiets stieg die FDG-Aktivität dagegen an: Im Kerngebiet des Nucleus (Ncl.) Accumbens, sowie im lateralen und ventralen orbitofrontalen Kortex (OFC) war die metabolische Aktivität postoperativ bis zu 8 % höher als präoperativ. Dieser Unterschied war auf Voxel Ebene signifikant. Außerdem traten signifikante Aktivitätserhöhungen (ca. 5 - 10 %) im dorsalen und ventralen Hippokampus sowie im dorsalen Ncl. geniculatus lateralis auf. Auch diese Aktivitätserhöhungen waren für einige Voxel signifikant. Im visuellen Kortex war die FDG-Aktivität nach ACAo ebenfalls höher als vor der Operation (für einige Voxel signifikant). In der Substantia nigra pars compacta und pars reticulata war die FDG-Einlagerung hingegen postoperativ signifikant reduziert (Aktivitätsdifferenz ca. 5 -10 %).

Wie im mittleren Aktivitätsdifferenzbild deutlich zu sehen ist (Abbildung 81 b), war die metabolische Aktivität in der rechten und linken Habenula sowie im mediadorsalen Thalamus und im thalamischen Ncl. paraventricularis postoperativ ebenfalls höher als präoperativ (ca. 8-12 %). Bis auf wenige Voxel in der Habenula (Schnitt - 3,84, in der Abbildung nicht dargestellt) war dieser Unterschied auf Voxel Ebene jedoch nicht signifikant.

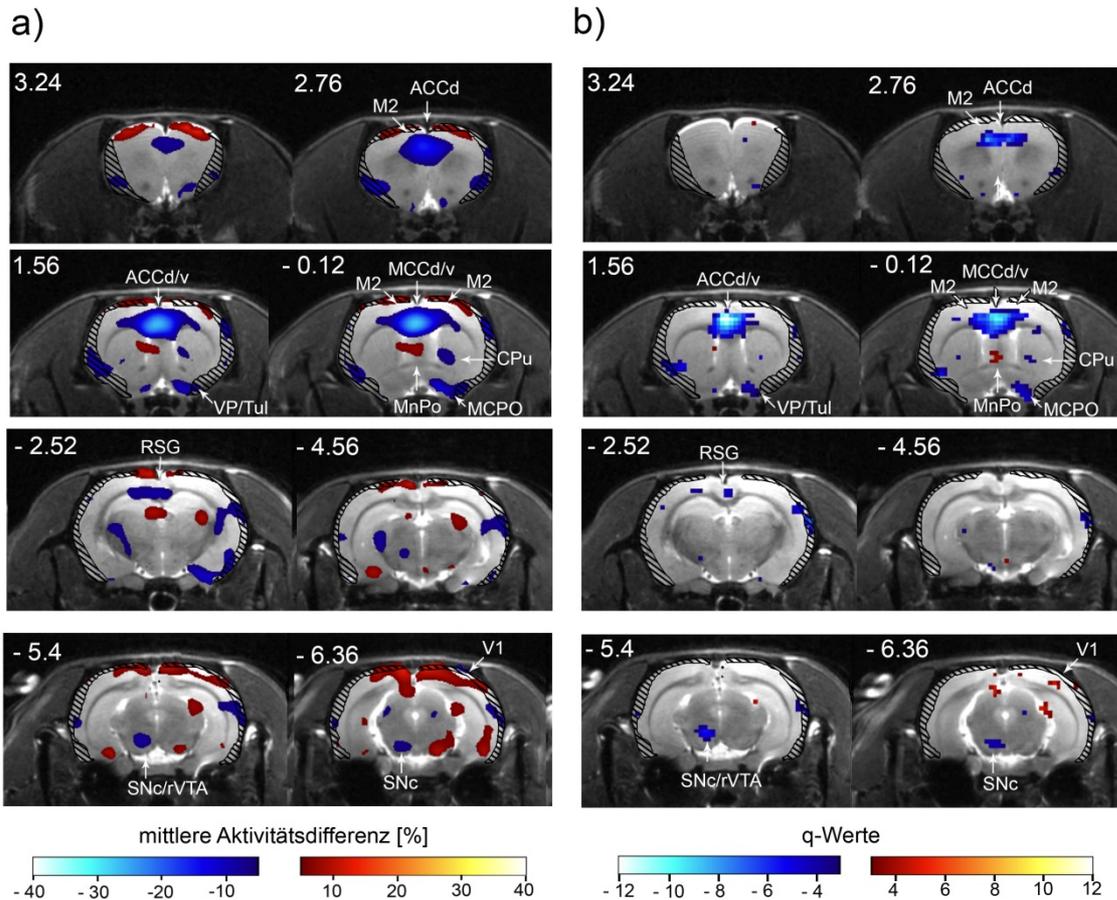


**Abbildung 81: Metabolische Aktivitätsunterschiede zwischen der prä- und postoperativen Verhaltens-PET-Messung bei hohem Motivationslevel für die ACA-Gruppe mit großer Läsion. a)** Dargestellt sind mittlere Aktivitätsdifferenzen zwischen 5 und 40 %. Positive Werte (in Rot) zeigen, dass die metabolische Aktivität postoperativ höher war als präoperativ. Negative Werte (in Blau) geben dagegen an, dass die metabolische Aktivität postoperativ geringer war als präoperativ. **b)** Signifikante Aktivitätsdifferenzen auf Voxel Ebene ermittelt durch eine zweifaktorielle ANOVA. Für  $p < 0,05$  betrug der kritische q-Wert  $\pm 3,26$  (mit  $df = 8, k = 2$ ). Farbkodierung wie unter a angegeben. Aus den Abbildungen **(a und b)** geht hervor, dass die mittlere Aktivität im gesamten ACC und MCC, sowie im retrosplenialen Kortex nach ACAo deutlich sank (bis zu 48 %). In motivations- und belohnungsassoziierten Arealen außerhalb des ACA-Versorgungsgebiets stieg die FDG-Aktivität dagegen an: Im Kerngebiet des Ncl. accumbens sowie im lateralen orbitofrontalen Kortex war die metabolische Aktivität postoperativ bis zu 8 % höher als präoperativ. Dieser Unterschied war auf Voxel Ebene signifikant. Außerdem gab es signifikante Aktivitätserhöhungen (ca. 5 - 10 %) im dorsalen und ventralen Hippokampus, im dorsalen Ncl. geniculatus lateralis sowie im visuellen Kortex. In der Substantia nigra pars compacta und pars reticulata war die FDG-Aktivität dagegen postoperativ signifikant niedriger (Aktivitätsdifferenz ca. 5 - 10 %) als präoperativ.

(Alle Strukturen unterhalb der Schraffur wurden auf Grund einstrahlender Aktivität aus der Auswertung ausgeschlossen. Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an. **Abk.:** AcbC: Kernregion des Ncl. accumbens, ACCd: dorsaler anteriorer zingulärer Kortex, ACCv: ventraler zingulärer Kortex, dHip: dorsaler Hippokampus, DLG: dorsaler Ncl. geniculatus lateralis, IL: infralimbischer Kortex, M1: primärer motorischer Kortex, M2: sekundärer motorischer Kortex, MCCd: dorsaler mittlerer zingulärer Kortex, MCCv: ventraler mittlerer zingulärer Kortex, MD: mediodorsaler Thalamus, PrL: prälimbischer Kortex, PV: Ncl. paraventricularis thalami, RSD: retrosplenialer Kortex (dysgranulär), RSG: retrosplenialer Kortex (granulär), SNc: Substantia nigra pars compacta, SNr: Substantia nigra pars reticulata, vHip: ventraler Hippokampus, V1: primärer visueller Kortex, VO: ventraler orbitofrontaler Kortex.)

In Abbildung 82 ist der Vergleich zwischen der prä- und postoperativen Messung bei hohem Motivationslevel für die ACA-Gruppe mit kleiner Läsion dargestellt. Für  $p \leq 0,05$  betrug der kritische q-Wert  $\pm 3,03$  (mit  $df = 14$ ,  $k = 2$ ). Die metabolische Aktivität war auch in dieser Gruppe im ACA-Versorgungsgebiet sowohl im dorsalen als auch im ventralen anterioren und mittleren zingulären Kortex postoperativ reduziert. Der Unterschied war jedoch im zingulären Kortex nur zwischen  $+ 3,24$  mm und  $- 2,52$  mm (ventraler und dorsaler ACC und MCC, retrosplenialer Kortex) signifikant reduziert. Während im gesamten ventralen und dorsalen ACC sowie im ventralen MCC die FDG-Aktivität abnahm, war dies nur für einige Voxel im dorsalen MCC der Fall (vgl. Schnitt 2.76 und 1,56 vor Bregma). Die FDG-Aktivität war außerdem im sekundären motorischen Kortex signifikant reduziert. Die FDG-Reduktion im ACA-Territorium entsprach dem strukturellen Läsionsausmaß der Gruppe (vgl. 6.1). Die metabolische Aktivität nach ACAo sank jedoch nur um höchstens 21 % und damit um ca. 50 % weniger als für die ACA-Gruppe mit großer Läsion gezeigt.

Auch bei der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion unterschieden sich die prä- und postoperativen Messungen bei hohem Motivationslevel in Arealen außerhalb des ACA-Versorgungsgebiets signifikant: Nach der ACAo war die metabolische Aktivität im ventralen Pallidum sowie im olfaktorischen Tuberculum um etwa 5-8 % signifikant reduziert. Dies war auch für einige Voxel in der Substantia nigra pars compacta der Fall, wobei sich hier die postoperative Aktivitätsreduktion bis in die rostrale VTA zog. Im Caudate-Putamen war die FDG-Aktivität, bis auf wenige Voxel, die postoperativ signifikant reduziert waren, identisch. Im rechten Ncl. praeopticus magnocellularis des Hypothalamus war die FDG-Aktivität postoperativ ebenfalls signifikant niedriger als vor der Operation. Postoperativ war die metabolische Aktivität lediglich im Ncl. praeopticus medialis und im rechten visuellen Kortex signifikant erhöht.



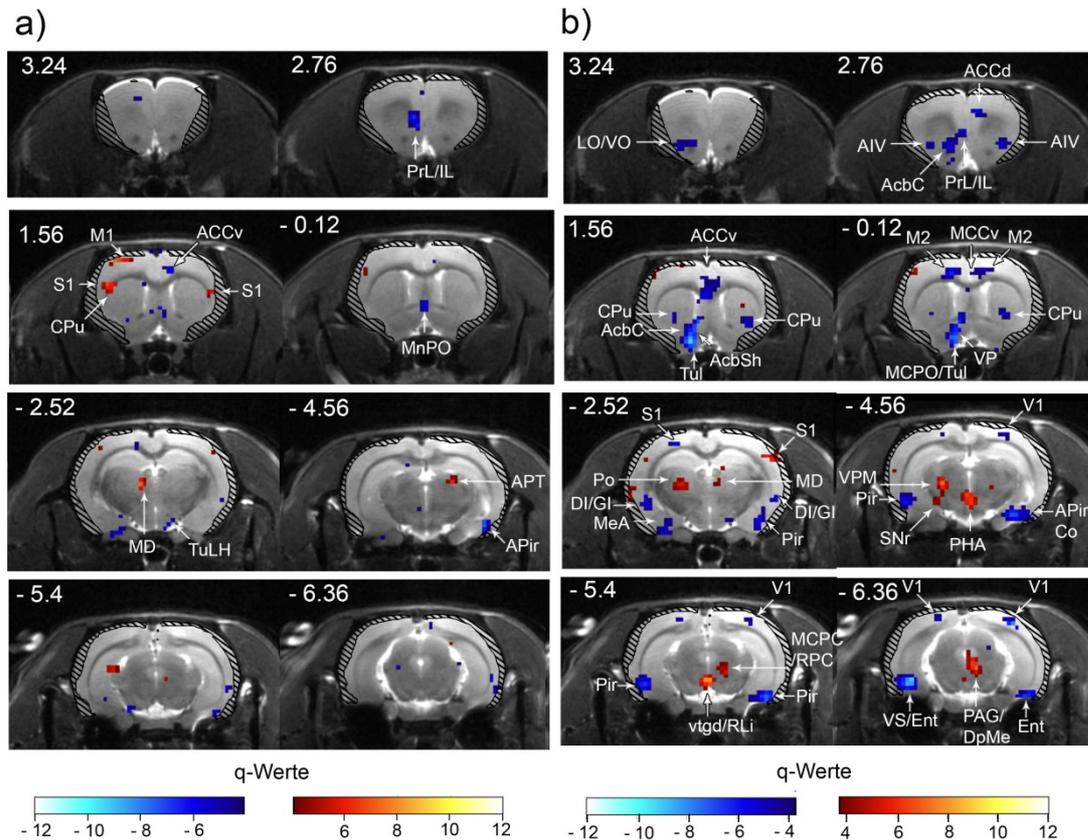
**Abbildung 82: Metabolische Aktivitätsunterschiede zwischen der prä- und postoperativen Verhaltens-PET-Messung bei hohem Motivationslevel für die ACA-Gruppe mit kleiner Läsion. a)** Dargestellt sind mittlere Aktivitätsdifferenzen zwischen 5 und 40 %. Positive Werte (in Rot dargestellt) bedeuten, dass die metabolische Aktivität postoperativ höher war als präoperativ. Negative Werte (in Blau dargestellt) geben dagegen an, dass die metabolische Aktivität postoperativ geringer war als präoperativ. **b)** Signifikante Aktivitätsdifferenzen auf Voxel Ebene ermittelt durch eine 2-faktorielle ANOVA. Für  $p \leq 0,05$  betrug der kritische q-Wert  $\pm 3,03$  (mit  $df = 14, k = 2$ ). Farbkodierung wie unter a angegeben. Aus den Abbildungen **(a und b)** geht hervor, dass im gesamten ACC sowie in großen Teilen des MCC und im anterioren Abschnitt des retrosplenialen Kortex die metabolische Aktivität postoperativ signifikant sank. Die reduzierte FDG-Aktivität im sekundärer motorischer Kortex war ebenfalls auf die ACAo zurückzuführen. Die Messungen unterschieden sich jedoch auch in Arealen außerhalb des ACA-Versorgungsgebiets: im ventralen Pallidum, im olfaktorischen Tuberculum, in der Substantia nigra pars compacta und in der rostralen VTA war die FDG-Aktivität postoperativ ebenfalls niedriger als präoperativ. Signifikante Aktivitätserhöhungen waren nach der Operation nur für einige Voxel im Ncl. praeopticus medialis und im visuellen Kortex zu beobachten. In motivations- und belohnungsassoziierten Arealen außerhalb des ACA-Versorgungsgebiets gab es postoperativ keine Aktivitätserhöhungen.

(Alle Strukturen unterhalb der Schraffur wurden auf Grund einstrahlender Aktivität aus der Auswertung ausgeschlossen. Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an. **Abk.:** ACCd: dorsaler anteriorer zingulärer Kortex, ACCv: ventraler anteriorer zingulärer Kortex, CPU: Caudate-Putamen, M2: sekundärer motorischer Kortex, MCCd: dorsaler mittlerer zingulärer Kortex, MCCv: ventraler mittlerer zingulärer Kortex, MCPO: Ncl. praeopticus pars magnocellularis, MnPO: Ncl. praeopticus medialis, RSG: retrosplenialer Kortex (granulär), rVTA: rostraler Teil der VTA, SNc: Substantia nigra pars compacta, SNr: Substantia nigra pars reticulata, Tul: olfaktorisches Tuberculum, V1: visueller Kortex, VP: ventrales Pallidum).

Abbildung 83 zeigt den Vergleich zwischen der postoperativen Messung bei hohem und reduziertem Motivationslevel für beide ACA-Gruppen. Für die ACA-Gruppe mit großer Läsion (a) betragen die kritischen q-Werte  $\pm 4,04$  (mit  $df = 8$ ,  $k = 3$ ) und für die ACA-Gruppe mit kleiner Läsion (b)  $\pm 3,7$  (mit  $df = 14$ ,  $k = 3$ ).

Der postoperative Vergleich in der ACA-Gruppe mit großer Läsion ergab Aktivitätsdifferenzen von bis zu 19 % (nur q-Wertkarte gezeigt, Abbildung 83 a). Die Aktivitätsunterschiede waren jedoch nur für wenige Voxel signifikant. In Arealen, die von der Läsion betroffen waren, war die FDG-Aktivität teilweise bei hohem Motivationslevel niedriger als nach Vorfütterung (ventraler ACC, prä- und infralimbischer Kortex). In Arealen außerhalb des ACA-Versorgungsgebiets unterschieden sich nur wenige Voxel. In folgenden Arealen war bei hoher Motivation auch die Aktivität postoperativ höher: im rechten und linken somatosensorischen Kortex, im linken primären motorischen Kortex, im Caudate-Putamen (beidseitig) und im linken Ncl. praetectalis anterior. Innerhalb weniger Voxel war die Glukoseutilisation dagegen postoperativ in folgenden Arealen niedriger, wenn die Motivation hoch war: im linken mediodorsalen Thalamus, in der rechten amygdalopiriformen Übergangszone und im Ncl. praeopticus medialis (beidseitig).

Auch in der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion (Abbildung 5 b) gab es einige signifikante Unterschiede zwischen der postoperativen Messung bei hoher und reduzierter Motivation. Die Aktivitätsunterschiede zwischen den beiden Bedingungen betragen bis zu 17 %. In Arealen, die von der Läsion betroffen waren, konnten folgende Aktivitätsunterschiede beobachtet werden: Bei hoher Motivation war die Aktivität einiger Voxel im zingulären Kortex (dorsaler und ventraler ACC, ventraler MCC) signifikant niedriger als nach Vorfütterung. Außerdem unterschied sich die FDG-Aktivität zwischen den Verhaltens-PET Bedingungen in verschiedenen belohnungs- und motivationsassoziierten Arealen: im linken infra- und prälimbischen Kortex, im linken lateralen OFC, im linken Ncl. Accumbens (Schalen- und Kernregion), im linken ventralen Pallidum und im linken ventralen Subiculum war die Aktivität bei hoher Motivation niedriger als nach Vorfütterung.



**Abbildung 83: Signifikante Aktivitätsunterschiede zwischen der postoperativen Messung bei hoher und reduzierter Motivation für die ACA-Gruppe mit großer (a) und kleiner Läsion (b) ermittelt durch eine zweifaktorielle ANOVA.** Positive Werte (in Rot) bedeuten, dass die metabolische Aktivität bei hoher Motivation signifikant höher war als nach Vorfütterung, negative Werte (in Blau) zeigen dagegen an, dass die Aktivität bei hoher Motivation niedriger war. **a)** ACA-Gruppe mit großer Läsion: Für  $p < 0,05$  betrug der kritische q-Wert  $\pm 4,04$  (mit  $df = 8, k = 3$ ). Außerhalb des ACA-Versorgungsgebiets unterschieden sich nur wenige Voxel und zwar im somatosensorischen Kortex, im primären motorischen Kortex, im Caudate-Putamen und im linken Ncl. praetectalis anterior. Innerhalb weniger Voxel war die Glukoseutilisation dagegen postoperativ in folgenden Arealen niedriger, wenn die Motivation hoch war: im mediodorsalen Thalamus, in der amygdalopiriformen Übergangszone und im Ncl. praeopticus medialis. **b)** ACA Gruppe mit kleiner Läsion: Für  $p < 0,05$  betrug der kritische q-Wert  $\pm 3,7$  (mit  $df = 14, k = 3$ ). Im infra- und prälimbischen Kortex, im lateralen OFC, im Ncl. Accumbens, im ventralen Pallidum und im ventralen Subiculum war die Aktivität bei hoher Motivation signifikant niedriger. Für den mediodorsalen Thalamus war für wenige Voxel das Gegenteil der Fall.

(Alle Strukturen unterhalb der Schraffur wurden auf Grund einstrahlender muskulärer Aktivität aus der Auswertung ausgeschlossen. Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an. **Abk.:** ACbC: Kernregion des Ncl. Accumbens, ACbSh: Schalenregion des Ncl. Accumbens, APir: amygdalopiriforme Übergangszone, AIV: ventraler insulärer Kortex, ACCd: dorsaler anteriorer zingulärer Kortex, ACCv: ventraler anteriorer zingulärer Kortex, CPu: Caudate-Putamen, DI: insulärer Kortex (dysgranulär), DpMe: Ncl. mesencephalicus (tiefe Struktur), Ent: entorhinaler Kortex, GI: insulärer Kortex (granulär), LO: lateraler orbitofrontaler Kortex, M2: sekundärer motorischer Kortex, MCCv: ventraler mittlerer zingulärer Kortex, MCPC: Ncl. magnocellularis der posterioren Kommissur, MCPO: Ncl. praeopticus pars magnocellularis, MD: mediodorsaler Thalamus, MeA: Ncl. medialis amygdalae, MnPo: Ncl. preopticus medialis (Hypothalamus), PAG: periaquäduktales Grau, PHA: posteriorer Hypothalamus, PICO: Ncl. corticalis posterolateralis, PrL: prälimbischer Kortex, Po: Nuclei thalami posteriores, RLi: Ncl. linearis rostralis (Raphe), RPC: Ncl. ruber, S1: primärer somatosensorischer Kortex, SNc: Substantia nigra pars compacta, SNr: Substantia nigra pars reticulata, Tul: olfaktorisches Tuberculum, TuLH: Nuclei tuberales des lateralen Hypothalamus, V1: visueller Kortex, VO: ventraler orbitofrontaler Kortex, VPM: Ncl. ventralis posteromedialis thalami, vtgd: Decussatio tegmentalis ventralis).

Dies war zudem für einige Voxel in weiteren Arealen der Fall: im linken und rechten ventralen insulären Kortex, im linken olfaktorischen Tuberculum, in der rechten amygdalopiriformen Übergangszone, im Caudate-Putamen (wenige Voxel, beidseitig), im linken piriformen Kortex, im rechten Ncl. corticalis und im linken Hypothalamus (Ncl. praeopticus pars magnocellularis).

In folgenden Arealen war die Aktivität dagegen bei hoher Motivation signifikant höher: Im rechten somatosensorischen Kortex, in der linken Substantia nigra pars reticulata, in thalamischen Arealen (linke Nuclei thalami posteriores, im linken Ncl. ventralis posteromedialis thalami, rechter mediodorsaler Thalamus), in der Decussatio tegmentalis ventralis (beidseitig), im rechten Ncl. ruber, im linken und rechten visuellen Kortex, im rechten periaquäduktalen Grau und im rechten Ncl. mesencephalicus.

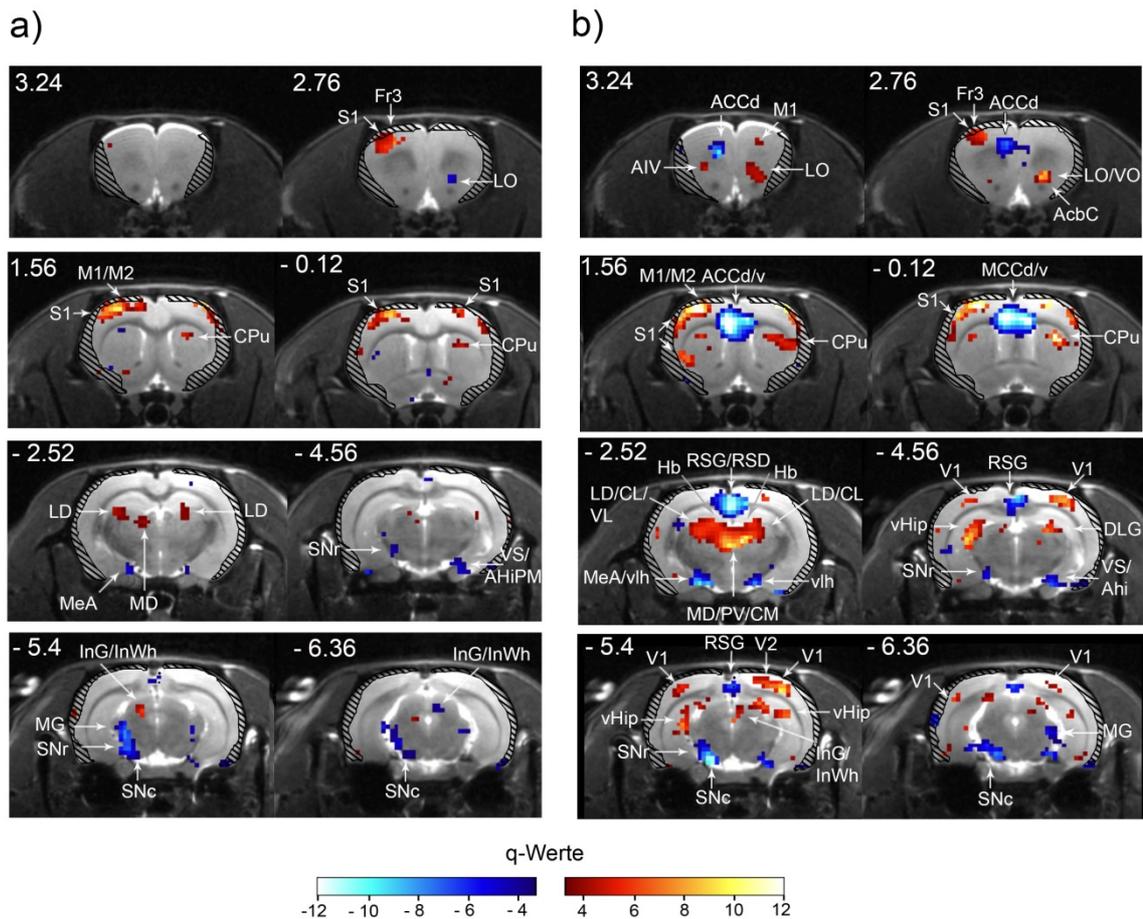
Da der Fokus dieser Arbeit auf den Auswirkungen der ACAo bei hoher Motivation lag, werden die prä- und postoperativen Vergleiche der beiden Kontrollbedingungen (reduziertes Motivationslevel, Durchlaufkontrolle) hier nicht in Abbildungen dargestellt und nur kurz zusammengefasst: Der Vergleich zwischen der prä- und postoperativen Bedingung bei reduzierter Motivation zeigte vor allem Änderungen im ACA-Versorgungsgebiet. In der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion war die Aktivität im linken Ncl. Accumbens postoperativ außerdem signifikant höher als präoperativ. Auch der prä- und postoperative Vergleich der Durchlaufkontrolle ergab vor allem Unterschiede in Arealen, die von der Läsion betroffen waren. Weitere Unterschiede in Arealen wie dem OFC (postoperativ niedriger als präoperativ) waren vor allem auf die unterschiedliche Anzahl an Durchläufen (vgl. Abbildung 79) zurückzuführen. Kompensatorische Effekte nach ACAo konnten weder beim Vergleich der Durchlaufkontrollen noch der Messungen bei reduzierter Motivation festgestellt werden.

Die prä- und postoperativen Messungen der scheinoperierten Gruppe waren sowohl bezüglich der Testbedingung (hohes Motivationslevel) als auch bezüglich der Kontrollmessungen (reduziertes Motivationslevel, Durchlaufkontrolle) nahezu identisch. Es wurden nur wenige signifikant unterschiedliche Voxel in Arealen außerhalb des Belohnungssystems beobachtet. Diese Vergleiche sind aus Gründen der Übersicht nicht dargestellt.

Wie im Methodenteil (vgl. 2.10.2) erläutert, wurde die Messung bei hoher Motivation außerdem zwischen der scheinoperierten Gruppe und der ACA-Gruppe mit großer Läsion verglichen (Abbildung 84). Statistisch wurden die Verhaltens-PET Messungen mit einer zweifaktoriellen mixed-design ANOVA analysiert (Faktoren: Testzeitpunkt, Versuchsgruppe). Der kritische  $q$ -Wert betrug  $\pm 3,26$  (mit  $df = 8$ ,  $k = 2$ ).

Die beiden Gruppen unterschieden sich bereits präoperativ (Abbildung 84 a). Bei den Tieren, die postoperativ eine große Läsion aufwiesen, war die Glukoseutilisation präoperativ im rechten lateralen OFC, in der rechten Substantia nigra pars compacta sowie in der Substantia nigra pars reticulata niedriger als in der scheinoperierten Gruppe. Auf der anderen Seite war die Aktivität im linken frontalen Kortex (Area 3), im linken und rechten Ncl. lateralis dorsalis thalami, im linken mediodorsalen Thalamus, im linken Ncl. geniculatus medialis und im linken Colliculus superior (weiße Substanz und graue Substanz) in der ACA-Gruppe mit großer Läsion höher als in der scheinoperierten Gruppe.

Postoperativ (Abbildung 84 b) war die FDG-Aktivität im ACA-Versorgungsgebiet in der ACA-Gruppe mit großer Läsion signifikant niedriger als in der scheinoperierten Gruppe (im ventralen und dorsalen ACC und MCC, sowie im retrosplenialen Kortex). Die beiden Gruppen unterschieden sich jedoch auch außerhalb des ACA-Versorgungsgebiets deutlich. In folgenden belohnungs- und motivationsassoziierten Arealen war die metabolische Aktivität postoperativ in der ACA-Gruppe mit großer Läsion höher als in der scheinoperierten Gruppe: im rechten lateralen und ventralen OFC, im rechten Kerngebiet des Ncl. Accumbens, im linken sekundären motorischen Kortex, in der Habenula (beidseitig) und im ventralen Hippokampus (beidseitig). Im Caudate-Putamen war die FDG-Akkumulation vor allem rechts-hemisphärisch, jedoch auch in einigen linkshemisphärischen Voxeln, nach ACAo erhöht. Außerdem war die FDG-Aktivität postoperativ in der ACA-Gruppe mit großer Läsion in thalamischen Regionen höher als in der scheinoperierten Gruppe: Im mediodorsalen Thalamus, im Ncl. centrolateralis thalami, im Ncl. centromedianus thalami, im Ncl. lateralis dorsalis thalami, im Ncl. paraventricularis thalami sowie im Ncl. lateralis dorsalis thalami. Im Ncl. ventrolateralis thalami traf dies nur auf Voxel in der linken Hemisphäre zu.



**Abbildung 84: Signifikante Aktivitätsunterschiede der Messungen bei hoher Motivation für den präoperativen (a) und postoperativen (b) Vergleich zwischen der ACA-Gruppe mit großer Läsion und der scheinoperierten Gruppe.** Für  $p < 0,05$  betrug der kritische q-Wert  $\pm 3,26$  (mit  $df = 8$ ,  $k = 2$ ). Positive Werte (in Rot) bedeuten, dass die Aktivität in der ACA-Gruppe mit großer Läsion signifikant höher war als nach der Schein-OP, negative Wert (in Blau) zeigen entsprechend eine niedrigere Aktivität in der ACA-Gruppe an. **a)** Präoperativ gab es bereits signifikante Unterschiede: In der ACA-Gruppe war die Aktivität u. a. im lateralen OFC und in der Substantia nigra pars compacta niedriger. Die Aktivität im frontalen Kortex (Area 3) und im mediodorsalen Thalamus war dagegen in der scheinoperierten Gruppe höher. **b)** Die Läsion nach ACAo war auch im Vergleich mit der scheinoperierten Gruppe deutlich sichtbar: im dorsalen und ventralen ACC und MCC sowie im retrosplenialen Kortex war die metabolische Aktivität signifikant niedriger als in der scheinoperierten Gruppe. Postoperativ unterschieden sich die Gruppen auch außerhalb des ACA-Versorgungsgebiets: u. a. im lateralen und ventralen OFC, im Kerngebiet des Ncl. Accumbens, in der Habenula, im mediodorsalen Thalamus und im ventralen Hippokampus war die FDG-Aktivität nach ACAo höher als in der scheinoperierten Gruppe. In anderen belohnungs- und motivationsassoziierten Arealen wie dem Ncl. medialis amygdalae und der Substantia nigra pars compacta waren signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen dagegen auf eine niedrigere Aktivität in der ACA-Gruppe im Vergleich zur scheinoperierten Gruppe zurückzuführen. Weitere Unterschiede vgl. Text.

(Alle Strukturen unterhalb der Schraffur wurden auf Grund einstrahlender muskulärer Aktivität aus der Auswertung ausgeschlossen. Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an. **Abk.:** ACbC: Kernregion des Ncl. Accumbens, Ahi: Area amygdalo-hippocampalis, AIV: ventraler insulärer Kortex (agranulär), ACCd: dorsaler anteriorer zingulärer Kortex, ACCdv: ventraler anteriorer zingulärer Kortex, CL: Ncl. centrolateralis thalami, CM: Ncl. centromedianus thalami, CPu: Caudate-Putamen, Fr3: frontaler Kortex (Areal 3), DLG: dorsaler Ncl. geniculatus lateralis, Hb: Habenula, LD: Ncl. lateralis dorsalis

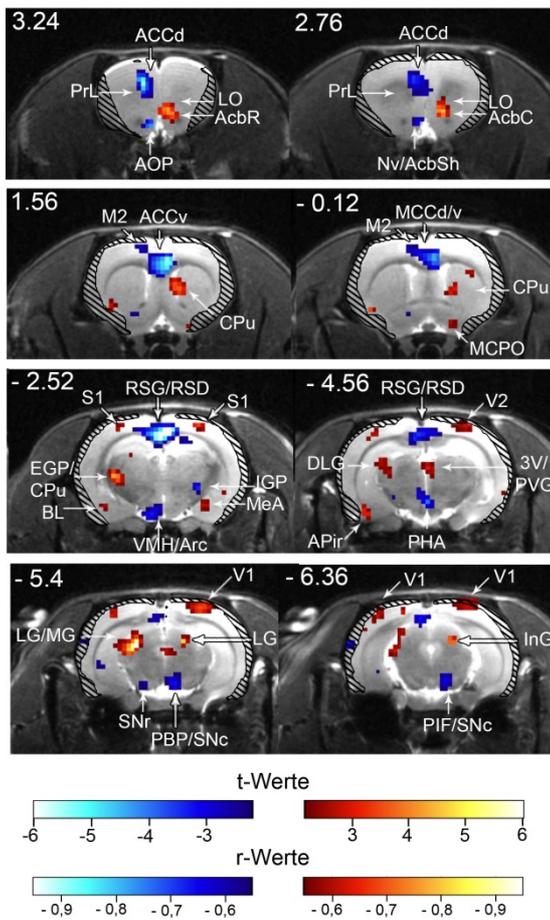
thalami, InG: Colliculus superior (graue Substanz), InWh: Colliculus superior (weiße Substanz), LO: lateraler orbitofrontaler Kortex, M1: primär-motorisches Areal, M2: sekundärer motorischer Kortex, MCCd: dorsaler anteriorer zingulärer Kortex, MCCdv: ventraler anteriorer zingulärer Kortex, MD: mediodorsaler Thalamus, MeA: Ncl. medialis amygdalae, MG: Ncl. geniculatus medialis, PV: Ncl. paraventricularis thalami, RSD: retrosplenialer Kortex (dysgranulär), RSG: retrosplenialer Kortex (granulär), S1: primärer somatosensorischer Kortex, SNc: Substantia nigra pars compacta, SNr: Substantia nigra pars reticulata, V1: visueller Kortex, V2: sekundärer visueller Kortex, vHip: ventraler Hippokampus, VL: Ncl. ventrolateralis thalami, vlh: ventrolateraler hypothalamischer Trakt).

In folgenden Arealen außerhalb des Belohnungssystems waren signifikante Unterschiede auf eine höhere Aktivität nach ACAo im Vergleich zur scheinoperierten Gruppe zurückzuführen: Im rechten und linken primären motorischen Areal, im rechten dorsalen Ncl. geniculatus lateralis, im Colliculus superior (graue und weiße Substanz), im linken und rechten primären visuellen Kortex und im rechten sekundären visuellen Kortex.

Auch in einigen nicht von der Läsion betroffenen Arealen war die metabolische Aktivität in der ACA-Gruppe postoperativ niedriger als in der scheinoperierten Gruppe und zwar in der linken Amygdala (Nucl. medialis amygdalae), in der linken Substantia nigra pars reticulata, in der rechten Area amygdalo-hippocampalis sowie im linken und rechten ventrolateralen hypothalamischen Trakt.

Um mögliche kompensatorische Mechanismen nach ACAo während der Motivationsaufgabe in Abhängigkeit von der Läsionsgröße zu analysieren, wurde die Läsionsgröße der einzelnen ACA-Tiere mit der Aktivitätsdifferenz zwischen der prä- und postoperativen Messung bei hoher Motivation korreliert (vgl. Tabelle 1 in 6.1). Hierbei wurde eine Abnahme der metabolischen Aktivität (z.B. am Ort der Läsion) numerisch mit negativem Vorzeichen, und eine Zunahme der Aktivität (z.B. in kompensatorisch aktiven Arealen) mit positivem Vorzeichen bedacht. Abbildung 85 zeigt die t-Wertkarte für signifikante Korrelationseffekte auf Voxel Ebene (kritisches  $t = \pm 2,18$ ;  $r = \pm 0,55$ ). Im Versorgungsgebiet der ACA war die Aktivitätsdifferenz im ventralen und dorsalen ACC negativ mit der Läsionsgröße korreliert, d. h. je größer die strukturelle Läsion war, desto negativer war die postoperative metabolische Aktivität. Im MCC waren vor allem Voxel im ventralen Teil signifikant und nur wenige im dorsalen. Außerdem war die Aktivitätsdifferenz im gesamten retrosplenialen Kortex negativ mit der Läsionsgröße korreliert. Des Weiteren hing die Aktivitätsdifferenz einiger Voxel im prälimbischen Kortex sowie im sekundären motorischen Kortex von der Läsionsgröße ab (negative

Korrelation). Die postoperative Aktivität war hier im Vergleich zur präoperativen Messung also bei großer Läsion besonders niedrig.



**Abbildung 85: Korrelation zwischen der Läsionsgröße und der Aktivitätsdifferenz zwischen der prä- und postoperativen Messung bei hohem Motivationslevel.**

Für  $p < 0,05$  lag der kritische t-Wert bei  $\pm 2,18$  ( $r = \pm 0,55$  mit  $df = 12$ ). In Rot dargestellt sind positive Korrelationseffekte, negative dagegen in Blau. Auch hier war die Aktivitätsabnahme im ACA-Versorgungsgebiet deutlich zu sehen: Im ACC, MCC und im retrosplenialen Kortex war die postoperative Aktivität umso negativer, je größer die strukturelle Läsion war (negative Korrelation). Dies war auch für einige Voxel im prälimbischen Kortex sowie im sekundären motorischen Kortex der Fall. Die FDG-Aktivität nahm dagegen in anderen Arealen wie dem rostralen Teil und dem Kerngebiet des Ncl. Accumbens, sowie dem lateralen orbitofrontalen Kortex mit zunehmender Läsionsgröße zu. (weitere Korrelationseffekte vgl. Text)

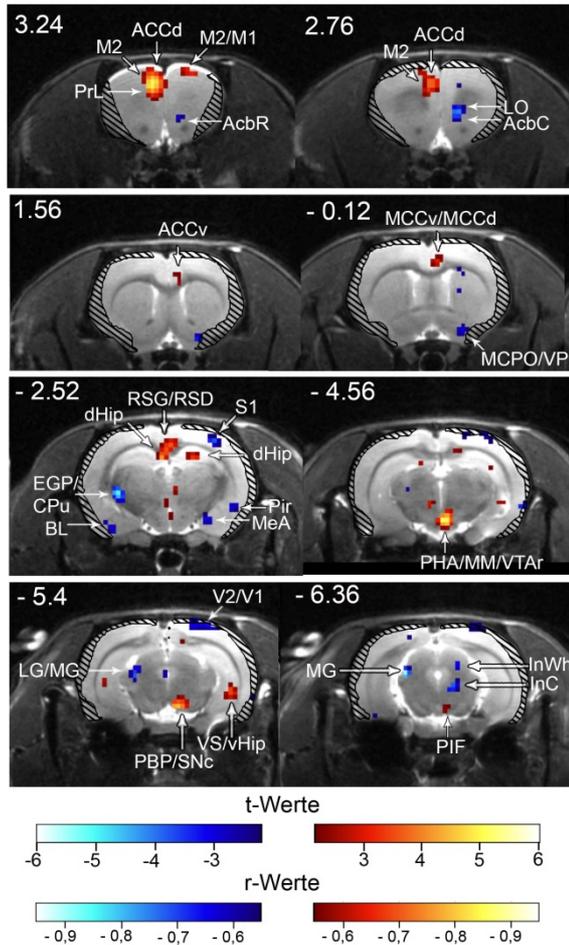
(Alle Strukturen unterhalb der Schraffur wurden auf Grund einstrahlender muskulärer Aktivität aus der Auswertung ausgeschlossen. Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an. **Abk.:** 3V: 3. Ventrikel, AcbC: Kernregion des Ncl. Accumbens, AcbSh: Schalenregion des Ncl. Accumbens, AOP: anteriorer olfaktorischer Nucleus,

APir: amygdalopiriforme Übergangszone, Arc: Ncl. arcuatus, BL: Ncl. basolateralis amygdalae, ACCd: dorsaler anteriorer zingulärer Kortex, ACCv: ventraler anteriorer zingulärer Kortex, CPU: Caudate-Putamen, DLG: dorsaler Ncl. geniculatus lateralis, EGP: Globus pallidus externus, InG: Colliculus superior (graue Substanz), LG: Ncl. geniculatus lateralis, M2: sekundärer motorischer Kortex, MCCd: dorsaler mittlerer zingulärer Kortex, MCCv: ventraler mittlerer zingulärer Kortex, MCPO: Ncl. praeopticus pars magnocellularis (Hypothalamus), MeA: Ncl. medialis amygdalae, MG: Ncl. geniculatus medialis, Nv: Ncl. navicularis des basalen Vorderhirns, PAG: periaquäduktales Grau, PBP: Ncl. parabrachialis pigmentosus (VTA), PHA: posteriorer Hypothalamus, PIF: Ncl. parainterfascicularis (VTA), PrL: prälimbischer Kortex, PVG: periaquäduktales Grau, RSD: retrosplenialer Kortex (dysgranulär), RSG: retrosplenialer Kortex (granulär), S1: primärer somatosensorischer Kortex, SNC: Substantia nigra pars compacta, SNr: Substantia nigra pars reticulata, V1: primärer visueller Kortex, VMH: Ncl. hypothalamicus ventromedialis.

In anderen motivations- und belohnungsassoziierten Strukturen außerhalb des ACA-Versorgungsgebiets war die metabolische Aktivität dagegen positiv mit der Läsionsgröße korreliert, d.h. je größer die Läsion, desto größer die Zunahme der metabolischen Aktivität: Im rechten lateralen orbitofrontalen Kortex, im rechten rostralen Ncl. Accumbens sowie im rechten Kerngebiet des Ncl. Accumbens, im rechten Caudate-Putamen und in Kerngebieten der Amygdala (rechter medialer Teil und linker Ncl. basolateralis amygdalae).

Zudem ging in folgenden weiteren Arealen eine postoperative Aktivitätserhöhung mit einer großen Läsion einher: im linken Globus pallidus externus, im linken dorsalen Ncl. geniculatus lateralis, im primären somatosensorischen Kortex (beidseitig), im rechten Ncl. praeopticus pars magnocellularis, im linken und rechten visuellen Kortex, im rechten Colliculus superior (graue Substanz), in der linken amygdalopiriformen Übergangszone, im linken Ncl. posterior thalami, im linken und rechten Ncl. geniculatus medialis, im linken Ncl. geniculatus pars dorsolateralis und im rechten periaquäduktalen Grau.

Die Änderung der metabolischen Aktivität bei hoher Motivation nach ACAo wurde außerdem mit der entsprechenden Änderung der Motivationsschwelle eine Woche postoperativ korreliert. Abbildung 86 zeigt die t-Wertkarte für signifikante Korrelationseffekte auf Voxel Ebene ( $t \geq \pm 2,18$ ;  $r \geq \pm 0,55$ ). Im ACA-Versorgungsgebiets gab es einige positive Korrelationseffekte: Je geringer die Motivationsschwelle postoperativ war, umso geringer war auch die postoperative Aktivität im linken dorsalen ACC, im linken sekundären motorischen Kortex und im retrosplenialen Kortex. Dies traf auch auf wenige Voxel im linken prälimbischen Kortex und im rechten MCC zu. Außerhalb des ACA-Versorgungsgebiets waren ebenfalls einige Voxel positiv mit der postoperativen Änderung der Motivationsschwelle korreliert, wobei teilweise nur wenige Voxel signifikant waren. Dies traf auf Voxelgruppen in folgenden Arealen zu: Im rechten dorsalen und ventralen Hippokampus, im rechten ventralen Subiculum, im rechten posterioren Hypothalamus, beidseitig im medialen Ncl. mammillaris, in der rechten rostralen VTA, in weiteren Kernen der rechten VTA (Ncl. parabrachialis pigmentosus, Ncl. parainterfascicularis) und in der rechten Substantia nigra pars compacta.



**Abbildung 86: Korrelation zwischen der postoperativen Änderung der Motivationsschwelle eine Woche postoperativ und der metabolischen Aktivitätsdifferenz zwischen den prä- und postoperativen Messungen bei hoher Motivation.** Für  $p < 0,05$  lag der kritische t-Wert bei  $\pm 2,18$  ( $r \geq \pm 0,55$  mit  $df = 12$ ). In Rot dargestellt sind positive Korrelationseffekte, negative dagegen in Blau. Eine Reduktion der Motivationsschwelle ging mit einer geringeren FDG-Aktivität im linken dorsalen anterioren zingulären Kortex, im linken sekundären motorischen Kortex und im retrosplenialen Kortex einher. Dies traf auch auf wenige Voxel im linken prälimbischen Kortex und im rechten mittleren zingulären Kortex zu. Eine reduzierte Motivationsschwelle ging dagegen in anderen Arealen mit einer höheren postoperativen FDG-Aktivität einher. Dies war u. a. rechtshemisphärisch im rostralen Ncl. Accumbens, im Kerngebiet des Ncl. Accumbens und im lateralen orbitofrontalen Kortex zu beobachten.

(Alle Strukturen unterhalb der Schraffur wurden auf Grund einstrahlender muskulärer Aktivität aus

der Auswertung ausgeschlossen. Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an. Abk.: AcbC: Kernregion des Ncl. Accumbens, ACCd: anteriorer dorsaler zingulärer Kortex, ACCv: anteriorer ventraler zingulärer Kortex, AcbR: rostraler Ncl. Accumbens, BL: Ncl. basolateralis amygdalae, MCCd: mittlerer dorsaler zingulärer Kortex, MCCv: mittlerer ventraler zingulärer Kortex, CPu: Caudate-Putamen, dHip: dorsaler Hippokampus, EGP: Globus pallidus externus, InG: Colliculus superior (graue Substanz), InWh: Colliculus superior (weiße Substanz), LG: Ncl. geniculatus lateralis, M1: primärer motorischer Kortex, M2: sekundärer motorischer Kortex, MCPO: Ncl. praeopticus pars magnocellularis (Hypothalamus), MeA: Ncl. medialis amygdalae, MG: Ncl. geniculatus medialis, MM: medialer Nucleus mammillaris, PBP: Ncl. parabrachialis pigmentosus (VTA), PHA: posteriorer Hypothalamus, PIF: Ncl. parainterfascicularis (VTA), PrL: prälimbischer Kortex, RSD: retrosplenialer Kortex (dysgranulär), RSG: retrosplenialer Kortex (granulär), S1: primärer somatosensorischer Kortex, SNC: Substantia nigra pars compacta, V1: primärer visueller Kortex, V2: sekundärer visueller Kortex, vHIp: ventraler Hippokampus, VP: ventrales Pallidum, VS: ventrales Subiculum, VTAr: rostrale Teil der VTA).

In einigen Arealen wurden hingegen negative Korrelationseffekte beobachtet. Das heißt, je stärker die Motivationsschwelle postoperativ reduziert war, umso höher war die postoperative Aktivität. Dies war rechtshemisphärisch für Voxelgruppen in den folgenden Arealen der Fall: im rostralen Ncl. Accumbens, im Kerngebiet des Ncl. Accumbens, im lateralen orbitofrontalen Kortex, im Ncl. praeopticus pars magnocellularis, im ventralen Pallidum, im somatosensorischen Kortex, im piriformen Kortex, im Ncl. medialis amygdalae, im primären und sekundären visuellen Kortex und im Colliculus superior (graue und weiße Substanz). Außerdem war die

Aktivitätsdifferenz in folgenden linkshemisphärischen Arealen negativ mit der Motivationsschwelle korreliert: im Globus pallidus externus, im Caudate-Putamen, in der basolateralen Amygdala, im rechten Colliculus superior (graue Substanz), sowie im Ncl. geniculatus medialis und lateralis.

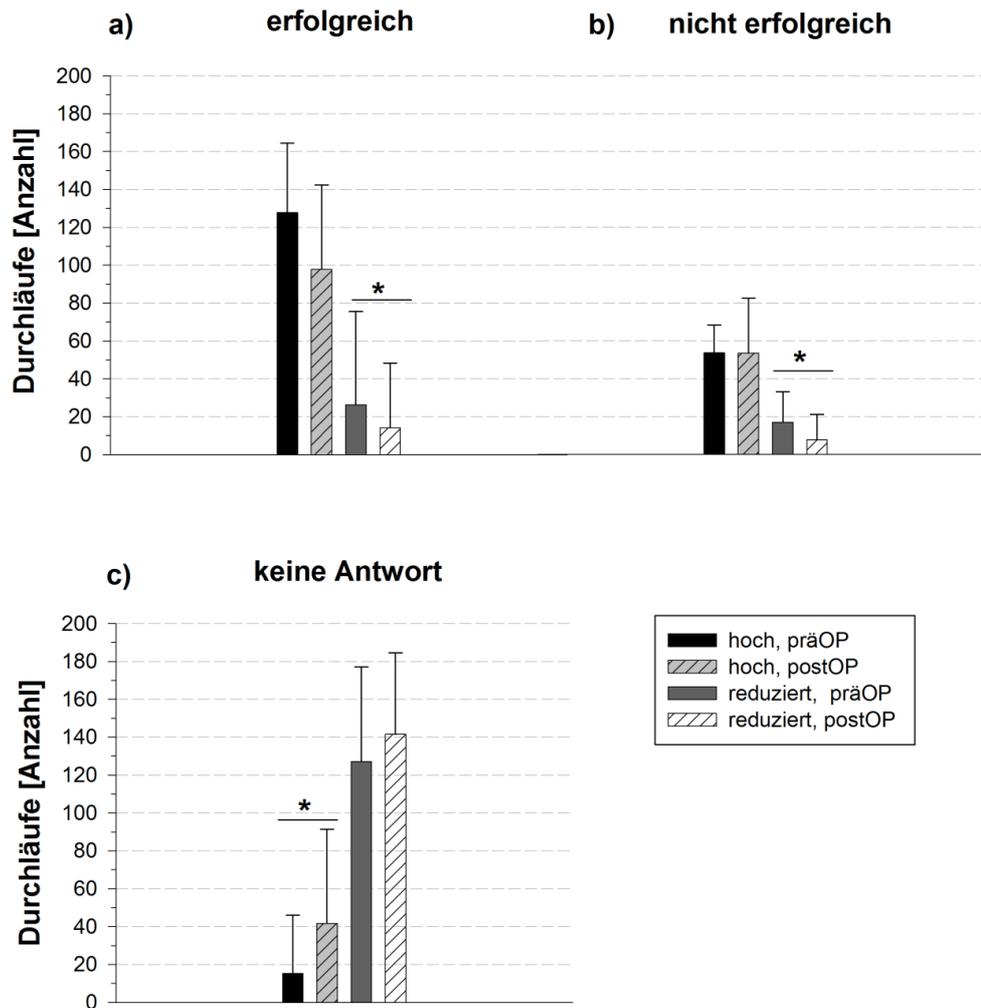
### **6.5.2 FDOPA-Verhaltens-PET**

In den postoperativen Vergleich der FDOPA-Verhaltens-PET Daten wurden insgesamt nur 6 Versuchstiere eingeschlossen. Zwei Tiere verstarben und zwei weitere mussten aus der Analyse ausgeschlossen werden, da die Normalisierung über die mittlere FDOPA-Aktivität im Cerebellum nicht funktionierte (28289, 28290; vgl. Material und Methodenteil 2.6.4.2). Wie im Methodenteil erläutert wurde das FDOPA-Verhaltens-PET nur mit ACA-Tieren durchgeführt. Auf Grund der kleinen Stichprobe wurden die Versuchstiere für die Verhaltens-PET Vergleiche nicht nach der Läsionsgröße in Gruppen aufgeteilt. Insgesamt hatten drei der in die Auswertung eingeschlossenen Tiere eine große Läsion (27286, 27287, 27347) und die übrigen drei eine kleine Läsion (27285, 27345, 28282). Im Folgenden werden zunächst die Verhaltensergebnisse des FDOPA Verhaltens-PETs erläutert.

#### **6.5.2.1 Verhaltensergebnisse**

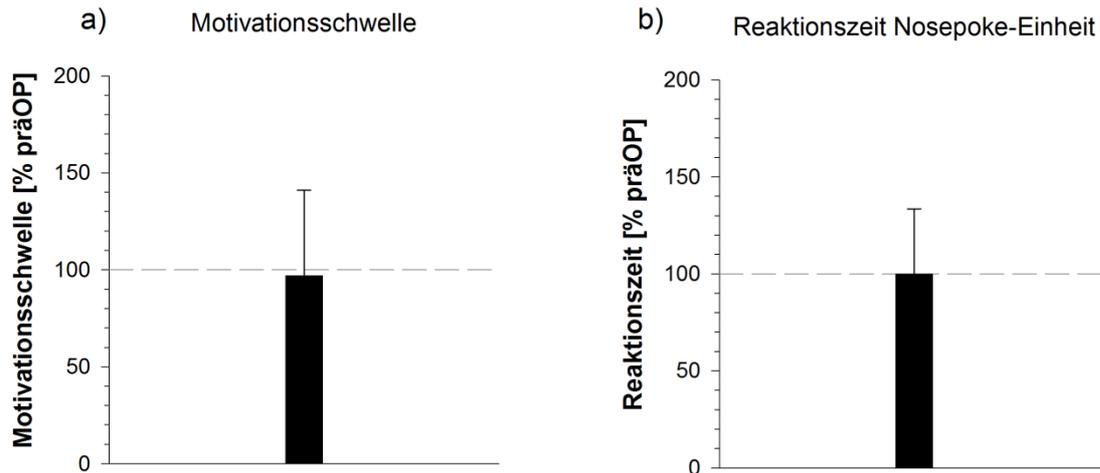
Abbildung 87 zeigt die Anzahl erfolgreicher, nicht erfolgreicher und nicht beantworteter Durchläufe für die Messung bei hoher und reduzierter Motivation.

Die Ergebnisse der drei genannten Antworttypen waren abhängig vom Motivationslevel, aber unterschieden sich nicht zwischen dem prä- und postoperativen Testzeitpunkt. Während die erfolgreichen und nicht erfolgreichen Durchläufe nach der Vorfütterung signifikant abnahmen (erfolgreich:  $F(1, 5) = 17,07, p = 0,009$ ), nicht erfolgreich:  $F(1, 5) = 11,54, p = 0,019$ ), stieg die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe postoperativ signifikant an ( $F(1, 5) = 18,28, p = 0,008$ ). Die Anzahl erfolgreicher Durchläufe (a) war im Mittel nach der Operation etwas niedriger als präoperativ wobei die Standardabweichung hoch war und somit der Unterschied nicht signifikant.



**Abbildung 87: Verschiedene Antworttypen im FDOPA-Verhaltens-PET in Abhängigkeit vom Motivationslevel und dem Testzeitpunkt.** Auf Grund der kleinen Stichprobe wurden die Tiere mit großer und kleiner Läsion zusammengefasst **a-c)** Unabhängig vom Testzeitpunkt sank die Anzahl erfolgreicher Durchläufe (\*:  $p = 0,009$ ) und nicht erfolgreicher Durchläufe nach Vorfütterung signifikant (\*:  $p = 0,019$ ). Die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe nahm hingegen zu (\*:  $p = 0,008$ ). Die ACAo hatte statistisch keinen Effekt. Tendenziell nahm die Anzahl erfolgreicher Durchläufe postoperativ jedoch etwa ab, wobei die Standardabweichung sehr hoch war.

In Abbildung 88 ist die prozentuale Änderung der Motivationschwelle (a) und der Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit aufgetragen. Im Mittel lag sowohl die Motivationschwelle ( $96,95 \pm 44,07\%$ ), als auch die Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit ( $99,94 \pm 33,59\%$ ) nur sehr knapp unter dem präoperativen Wert. Die Standardabweichungen innerhalb der Gruppen waren jedoch für beide Verhaltensparameter sehr hoch.

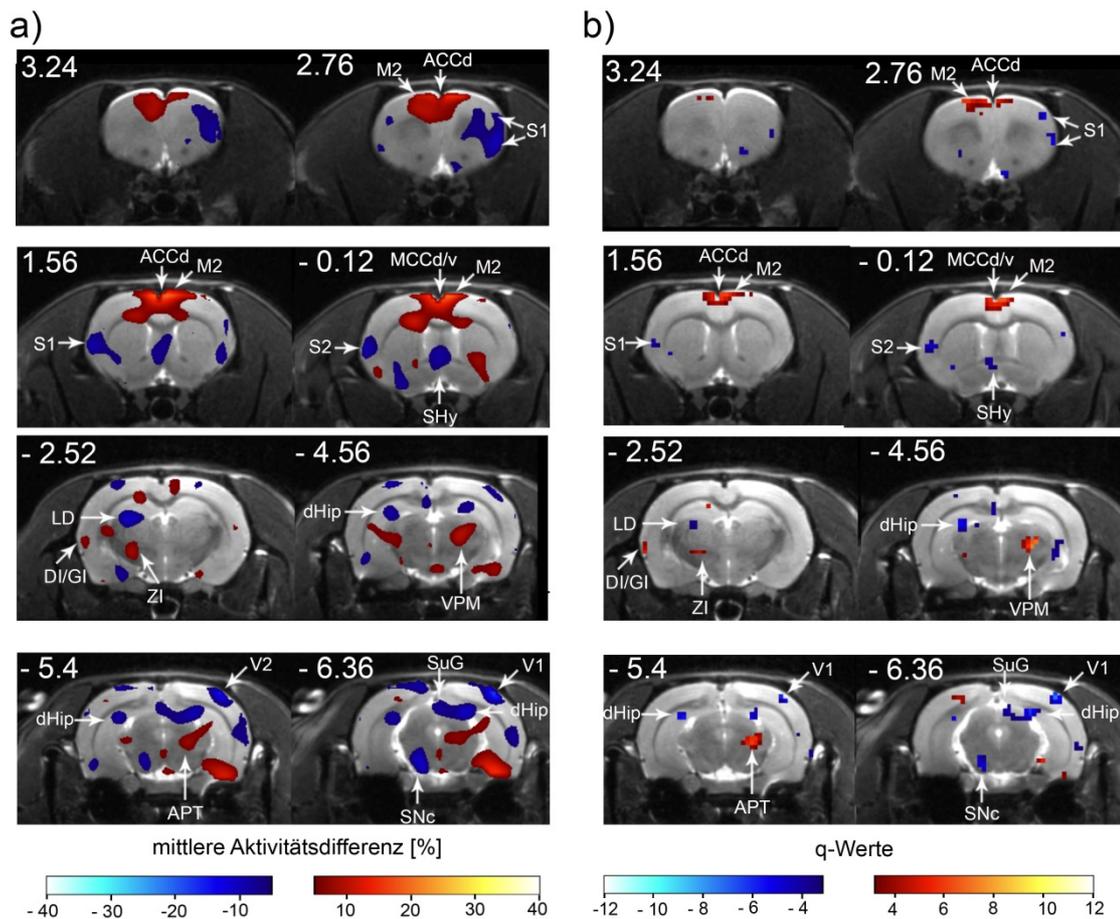


**Abbildung 88: Prozentuale Änderung der Motivationschwelle (a) und der Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit (b) zwischen der prä- und postoperativen FDOPA-Verhaltens-PET Bedingung.** Im Mittel lag sowohl Motivationschwelle ( $96,95 \pm 44,07 \%$ ), als auch die Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit ( $99,94 \pm 33,59 \%$ ) nur knapp unter dem präoperativen Wert. Die Standardabweichungen innerhalb der Gruppen waren jedoch für beide Verhaltensparameter sehr hoch.

Die prozentuale Änderung der Motivationschwelle war bei fünf Tieren um mindestens 17 % reduziert. Da die Motivationschwelle bei einem Tier (27285, ACA-Gruppe mit kleiner Läsion) jedoch weit über dem präoperativen Wert lag (181 %) war die Standardabweichung innerhalb der Gruppe groß und der Mittelwert nur knapp unter dem präoperativen Level.

### 6.5.2.2 Dopaminerge Aktivitätsunterschiede

Der Vergleich zwischen der prä- und postoperativen FDOPA-Verhaltens-PET-Messung bei hoher Motivation ist in Abbildung 89 dargestellt. Der kritische q-Wert lag bei  $\pm 3,15$  (mit  $df = 10$ ,  $k = 3$ ). Die Aktivitätsdifferenzen betragen bis zu 9 %. Vor allem im mittleren Aktivitätsdifferenzbild (Abbildung 89 a) zeigte sich in Arealen, die von der Läsion betroffen waren, eine Aktivitätserhöhung (ventraler und dorsaler ACC und MCC, sekundärer motorischer Kortex). Dieser Effekt war bei einigen Tieren bereits in den Rohdaten sichtbar und schien besonders dann aufzutreten, wenn die  $^{18}\text{F}$ -Einlagerung oder FDA (und Metabolite) in der Haut und im Knochen oberhalb dieser Areale hoch war. Am stärksten war dieser Effekt nahe des Bohrlochs (1,5 mm vor Bregma). Diese Aktivitätsänderungen könnten auf unspezifische Bindungen und eine Verletzung der Bluthirnschranke nach ACAo zurückzuführen sein.



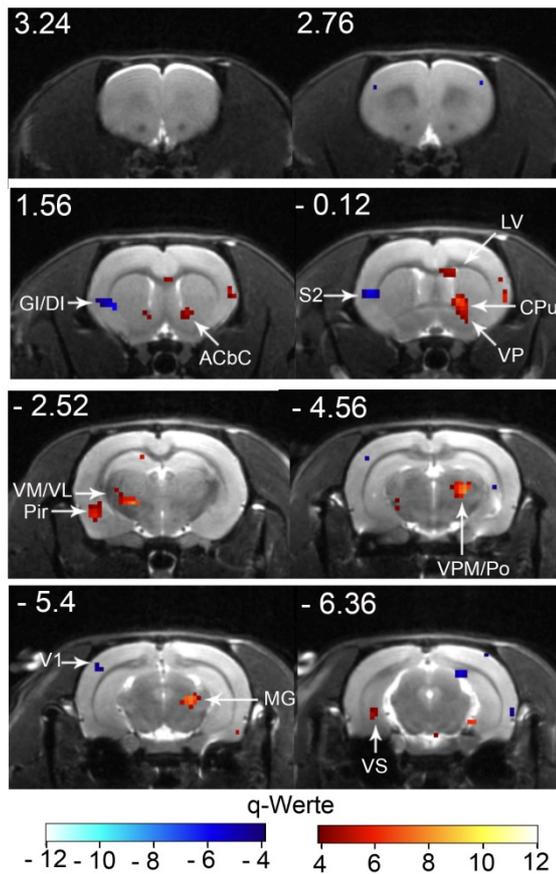
**Abbildung 89: Dopaminerge Aktivitätsunterschiede zwischen der prä- und postoperativen Verhaltens-PET Messung bei hoher Motivation (N = 6, nur ACA-Tiere).** **a)** Dargestellt sind mittlere Aktivitätsdifferenzen zwischen 5 und 40 %. Positive Werte (in Rot) zeigen eine postoperativ erhöhte FDOPA-Aktivität, negative Werte (in Blau) geben dagegen an, dass die dopaminerge Aktivität postoperativ geringer war als präoperativ. **b)** q-Wertkarte: Der statistische Vergleich erfolgte durch eine zweifaktorielle ANOVA. Für  $p \leq 0,05$  betrug der kritische q-Wert  $\pm 3,15$  (mit  $df = 10, k = 3$ ). Farbkodierung wie oben angegeben. **a und b)** In Arealen die von der Läsion betroffen waren (dorsaler und ventraler ACC und MCC, sekundärer motorischer Kortex), zeigte sich ein postoperativ signifikant erhöhtes FDOPA-Signal. Dieser Effekt schien besonders dann aufzutreten, wenn die  $^{18}\text{F}$ -Einlagerung im Knochen oberhalb dieser Areale hoch war und war nahe des Bohrlochs am stärksten (1,5 mm vor Bregma). In belohnungs- und motivationsassoziierten Arealen wie dem Ncl. Accumbens änderte sich die FDOPA-Aktivität postoperativ nicht. In folgenden Arealen war die FDOPA-Aktivität ebenfalls postoperativ erhöht: Im Ncl. ventralis posteromedialis (Thalamus), in der Zona incerta und im Ncl. praetectalis anterior. In weiteren Arealen war die FDOPA-Aktivität postoperativ niedriger als präoperativ: im primären somatosensorischen Kortex, im insulären Kortex (Grenzbereich zwischen granulärem und dysgranulärem Bereich), im somatosensorischen Kortex, im Ncl. septo-hypothalamicus, im Ncl. lateralis dorsalis (Thalamus), im dorsalen Hippokampus, im primären visuellen Kortex, in der Substantia nigra pars compacta und im Colliculus superior (obere Schicht).

(Die Zahlen links oberhalb der Schnitte geben die Position relativ zu Bregma an. **Abk.:** APT: Ncl. lateralis dorsalis thalami, ACCd: dorsaler anteriorer zingulärer Kortex, DI: insulärer Kortex (dysgranulär), dHip: dorsaler Hippokampus, GI: insulärer Kortex (granulär), LD: Ncl. lateralis dorsalis thalami, MCCv: ventraler mittlerer zingulärer Kortex, SNc: Substantia nigra pars compacta, SuG: Colliculus superior (obere Schicht, graue Substanz), SHy: Ncl. septo-hypothalamicus, ZI: Zona incerta.)

In belohnungs- und motivationsassoziierten Arealen wie dem Ncl. Accumbens änderte sich die FDOPA-Aktivität postoperativ nicht. Im rechten Ncl. ventralis posteromedialis thalami, in der linken Zona incerta und im rechten Ncl. praetectalis anterior war die dopaminerge Aktivität hingegen postoperativ höher als präoperativ. In weiteren nicht von der Läsion betroffenen Arealen war die FDOPA-Aktivität postoperativ niedriger als präoperativ: Im primären somatosensorischen Kortex (beidseitig), im linken insulären Kortex (Grenzbereich zwischen granulärem und dysgranulärem Bereich) im linken somatosensorischen Kortex, im linken Ncl. septo-hypothalamicus, im linken Ncl. lateralis dorsalis thalami, im linken dorsalen Hippokampus, im rechten primären visuellen Kortex, in der linken Substantia nigra pars compacta und im rechten Colliculus superior (obere Schicht).

Die Vergleiche zwischen der prä- und postoperativen Kontrollmessungen (Durchlaufkontrolle, Messung bei reduzierter Motivation) ergaben keine signifikanten Unterschiede in belohnungs- und motivationsassoziierten Arealen (in der vorliegenden Arbeit nicht dargestellt).

Abbildung 90 zeigt die q-Wertkarte für den Vergleich zwischen der Messung bei hoher und reduzierter Motivation. Der kritische q-Wert betrug  $\pm 3,88$  (mit  $df = 8$ ,  $k = 3$ ). Die FDOPA-Aktivität war postoperativ in der rechten Kernregion des Ncl. Accumbens, sowie im rechten ventralen Pallidum, im rechten Caudate-Putamen, im linken piriformen Kortex und im linken ventralen Subiculum signifikant höher, wenn die Motivation hoch war. Dies war auch für einige Voxel in thalamischen Kernregionen (linker Ncl. ventromedialis, linker Ncl. ventrolateralis, rechter Ncl. ventralis posteromedialis, rechte Nuclei posteriores, rechter Ncl. geniculatus medialis) sowie im linken piriformen Kortex der Fall. Die FDOPA-Aktivität war dagegen im linken insulären Kortex (granulär und dysgranulär) sowie im linken sekundären somatosensorischen Kortex bei hoher Motivation niedriger als nach Vorfütterung.



**Abbildung 90: Dopaminerge Aktivitätsunterschiede zwischen der postoperativen Verhaltens-PET Messung bei hoher und reduzierter Motivation.**

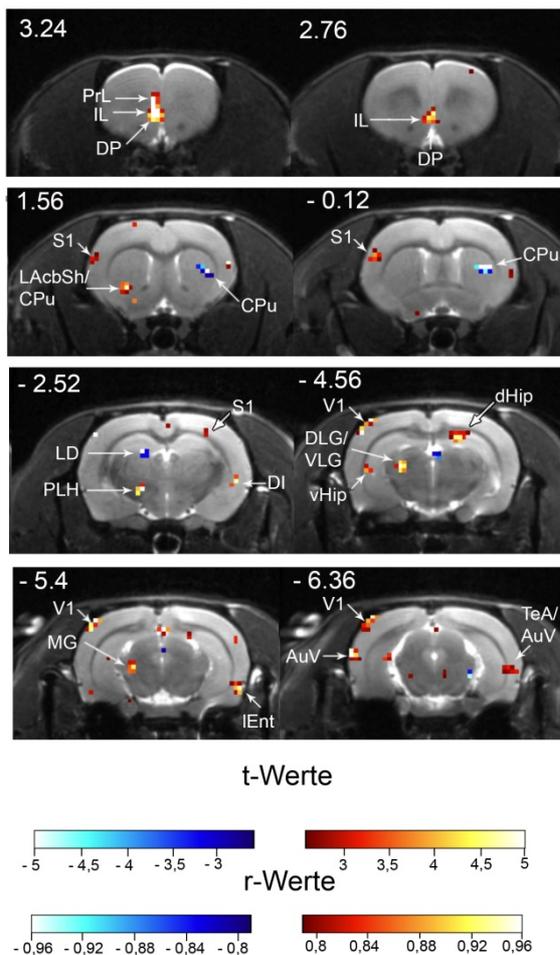
Der kritische q-Wert betrug  $\pm 3,88$  ( $df = 8$ ,  $k = 3$ ). In Rot dargestellt sind positive Korrelationseffekte, negative dagegen in Blau. In der Kernregion des Ncl. Accumbens, im ventralen Pallidum, im Caudate-Putamen und im ventralen Subiculum war die FDOPA-Aktivität signifikant höher, wenn die Motivation hoch war. Dies war auch für einige Voxel im Thalamus (Ncl. ventromedialis thalami, Ncl. ventrolateralis thalami, Ncl. ventralis posteromedialis thalami, rechte Nuclei posteriores thalami, Ncl. geniculatus medialis) und im piriformen Kortex der Fall. Die FDOPA-Aktivität war dagegen im linken insulären Kortex sowie im sekundären somatosensorischen Kortex bei hoher Motivation niedriger als nach Vorfütterung.

(Abk.: AcbC: Kernregion des Ncl. Accumbens, CPU: Caudate-Putamen, DI: insulärer Kortex (dysgranulär), GI: insulärer Kortex (granulär), LV: lateraler Ventrikel, MG: Ncl. geniculatus medialis, Pir: piriformer Kortex, Po: Nuclei posteriores thalami, S2: sekundärer somatosensorischer Kortex, V1: primärer visueller Kortex, VL: Ncl. ventrolateralis, VM: Ncl. ventromedialis, VP: ventrales Pallidum, VPM: Ncl. ventralis posteromedialis thalami, VS: ventrales Subiculum).

lateralen Ventrikel, MG: Ncl. geniculatus medialis, Pir: piriformer Kortex, Po: Nuclei posteriores thalami, S2: sekundärer somatosensorischer Kortex, V1: primärer visueller Kortex, VL: Ncl. ventrolateralis, VM: Ncl. ventromedialis, VP: ventrales Pallidum, VPM: Ncl. ventralis posteromedialis thalami, VS: ventrales Subiculum).

Abbildung 91 zeigt die t-Wertkarte und die entsprechende r-Wertskala für die Korrelation zwischen der Aktivitätsdifferenz der prä- und postoperativen FDOPA-Messung bei hoher Motivation und der Läsionsgröße. Für signifikante Korrelationseffekte betrug der kritische t-Wert  $\pm 2,57$  ( $r = \pm 0,79$ ).

Es gab einige Korrelationen in belohnungs- und motivationsassoziierten Arealen: Die Aktivitätsdifferenzen im linken prälimbischen Kortex, im linken und rechten infralimbischen Kortex sowie in der lateralen Schalenregion des Ncl. Accumbens waren positiv mit der Läsionsgröße korreliert. Somit ging eine große Läsion mit einer höheren postoperativen Aktivität einher. Dies war auch für Voxel im dorsalen pedunkulären Kortex (beidseitig), im linken somatosensorischen Kortex (beidseitig) sowie im rechten dorsalen und im linken ventralen Hippokampus der Fall.



**Abbildung 91: Korrelation zwischen der Läsionsgröße und der dopaminergen Aktivitätsdifferenz zwischen der prä- und postoperativen Messung im hohen Motivationslevel.** Für  $p < 0,05$  betragen die kritischen t-Werte  $\pm 2,57$  ( $r = \pm 0,79$ ; mit  $df = 5$ ). In Rot dargestellt sind positive Korrelationseffekte, negative dagegen in Blau. Es gab einige Korrelationen in belohnungs- und motivationsassoziierten Arealen: Eine höhere postoperative Aktivität im prälimbischen Kortex, im infralimbischen Kortex, in der lateralen Schalenregion, im ventralen und dorsalen Hippokampus ging mit einer großen Läsion einher.

(**Abk:** 3V: dritter Ventrikel, AuV: ventraler auditorischer Kortex, CPu: Caudate-Putamen, dHip: dorsaler Hippokampus, DI: insulärer Kortex (dysgranulär), DLG: dorsaler Ncl. geniculatus lateralis, DP: dorsaler pedunkulärer Kortex, IL: infralimbischer Kortex, LAcbSh: Schalenregion des Ncl. Accumbens, LD: Ncl. laterodorsalis thalami, IEnt: lateraler entorhinaler Kortex, MG: Ncl. geniculatus medialis, PLH: pedunkulärer Teil des lateralen Hypothalamus, PrL: prälimbischer Kortex, S1: primärer somatosensorischer Kortex, V1: primärer visueller Kortex, vHip: ventraler Hippokampus)

Während im linken Caudate-Putamen einige Voxel ebenfalls positiv mit der Läsionsgröße korreliert waren, war das Gegenteil für das rechte Caudate-Putamen der Fall. Weitere positive Korrelationen gab es im linken lateralen Hypothalamus (pedunkulärer Teil), im linken Hippokampus (dorsaler und ventraler Teil), im insulären Kortex (dysgranulärer Teil), im Ncl. geniculatus medialis, im rechten lateralen entorhinalen Kortex, im linken ventralen auditorischen Kortex (beidseitig) sowie im linken primären visuellen Kortex. Im Ncl. laterodorsalis thalami ging eine größere Läsion dagegen mit einer geringeren postoperativen Aktivität einher.

## 7 Diskussion der longitudinalen Schlaganfallstudie

### 7.1 Diskussion der Läsionen nach ACA-Okklusion

Die Injektion des Vasokonstriktors Endothelin (ET-1) führte bei allen Tieren zu Läsionen im ACA-Versorgungsgebiet. Allerdings fielen die Läsionen insgesamt recht heterogen aus und lagen zwischen 3,84 mm<sup>3</sup> und 26,28 mm<sup>3</sup>. Bei allen Tieren waren zumindest kleine Teile des anterioren und mittleren zingulären Kortex (ACC und MCC) läsiert. Insbesondere in der ACA-Gruppe mit großer Läsion fielen die Läsionen meist bilateral aus. Zudem dehnten sie sich posterior weiter aus als in der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion, so dass der retrospleniale Kortex mitbetroffen war. Bei einigen Tieren zog sich die Läsion sogar bis in den sekundären motorischen Kortex. Auch der prä- und infralimbische Kortex war bei wenigen Tieren mitbetroffen. Zusammenfassend lässt sich also zunächst festhalten, dass trotz der heterogenen Läsionen der ACC, der sowohl beim Menschen als auch bei der Ratte als kritisches Areal in Bezug auf Motivationsverhalten beschrieben wird (vgl. Einleitung 1.5.1), insgesamt das Zentrum des Läsionsgebiets darstellte.

Wie im Material und Methodenteil (vgl. 2.1) ausführlich erläutert, wurden in dieser Arbeit Long Evans Ratten verwendet, obwohl in bisherigen Studien unserer Arbeitsgruppe das ACA-Modell mit Lister- oder Black hooded Ratten untersucht wurde. Zu Beginn dieser Arbeit wurde allerdings die Züchtung von Black hooded Ratten, die über eine gute Hörfähigkeit verfügen, eingestellt. Da die verwandten Lister hooded Ratten aufgrund ihres schlechten Hörvermögens für Versuche mit akustischen Stimuli nicht so gut geeignet sind, wurden Long Evans Ratten eingesetzt, die wie Black hooded Ratten eine niedrige Hörschwelle aufweisen. Das bisherige ACA-Protokoll unserer Arbeitsgruppe wurde daher von mir an die Long Evans Ratten angepasst (vgl. Material und Methoden 2.9.2). Eine Studie aus der Literatur sowie Arbeiten unserer Gruppe zeigen, dass die ACA-Okklusion (ACAo) bei Lister und Black hooded zu wesentlich größeren und weniger heterogenen Läsionen führen. So lag die mittlere Läsionsgröße in der Studie von Ward *et al.* (1998) bei 66,7 (±10,8) mm<sup>3</sup> und in einer Studie unserer Arbeitsgruppe bei 73,5 (±43,4) mm<sup>3</sup> (Endepols *et al.*, 2014), während in der vorliegenden Arbeit die mittlere Infarktgröße 12,5 (±6,6) mm<sup>3</sup> betrug. In beiden Studien dehnten sich die ACA-Läsionen vor allem anterior weiter aus und betrafen einen sehr großen Teil

des frontalen Kortex, sowie dorsal gelegene Areale des Septums. Vergleichbare Läsionen ergaben sich auch in einer weiteren vorherigen, eigenen Studie mit Black hooded Ratten (Höfener, 2010) und in einer von mir betreuten Studie eines Bachelorstudenten, in der Lister hooded Ratten verwendet wurden. Eine weitere Studie aus der Literatur weist jedoch darauf hin, dass die ACAo bei Sprague Dawley Ratten zu vergleichbaren Läsionen führt wie bei Long Evans Ratten (Cordova *et al.*, 2014). Im Mittel betrug die Läsionsgröße hier  $13,7 (\pm 3,7) \text{ mm}^3$ , wobei ein weiteres Tier mit einer Läsion kleiner  $4 \text{ mm}^3$  ausgeschlossen wurde. So wie es auch für Long Evans Ratten in der vorliegenden Studie der Fall war, lag das Kerngebiet der Läsion im ACC und MCC. Bei einigen Tieren war zudem der prä- und infralimbische Kortex betroffen (vgl. Einleitung 6.1). Posterior dehnte sich die Läsion jedoch nicht so weit aus (bis  $+0,36 \text{ mm}$  vor Bregma) wie bei Long Evans Ratten, so dass der retrospleniale Kortex im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit verschont blieb.

Da in allen zitierten Arbeiten der Vasokonstriktor ET-1 verwendet wurde, ist es wahrscheinlich, dass die Unterschiede entweder auf verschiedene Injektionsparameter oder aber auf Unterschiede zwischen den Rattenstämmen zurückzuführen sind. Basierend auf den Erfahrungen mit Lister bzw. Black hooded Ratten wurden, wie im Material und Methodenteil ausführlich erläutert (vgl. 2.9.2), zur Etablierung der ACAo mehrere Injektionsparameter bei Long Evans Ratten getestet und die Läsionsgröße und -ausbreitung mittels Magnetresonanztomographie-Aufnahme (MRT-Aufnahme) ermittelt. Je nach verwendeten Injektionsparametern führte die ET-1-Injektion entweder zu gar keinen oder wie bereits beschrieben zu mittelgroßen Läsionen. Hinzu kam, dass die Mortalitätsrate wesentlich höher war als bisher bei Lister und Black hooded Ratten beobachtet. Die Vorexperimente deuten daher darauf hin, dass zumindest die Unterschiede zwischen Long Evans und Lister bzw. Black hooded Ratten auf den Rattenstamm zurückzuführen sind. In der Literatur ist zudem beschrieben, dass sich das Infarktvolumen nach Verschluss der mittleren Zerebralarterie unter Verwendung des gleichen Protokolls zwischen verschiedenen Rattenstämmen unterscheidet (Herz *et al.*, 1996).

Die beschriebenen Stammunterschiede könnten auf verschiedene Ursachen zurückzuführen sein. Wie schon in der Einleitung erwähnt, werden bei Ratten bereits innerhalb des gleichen Stamms individuelle anatomische Abweichungen im Versorgungsgebiet der ACA beobachtet (vgl. Einleitung 1.2.3; Brown, 1966; Lee,

1995). Eine stärkere Vernetzung des Blutversorgungssystems durch Kollateralen wird nicht nur bei der Ratte, sondern auch beim Menschen mit einem besseren Verlauf nach Schlaganfall in Verbindung gebracht (Miteff *et al.*, 2009; Bonnin *et al.*, 2011). Weiterhin werden beim Menschen starke Verknüpfungen zwischen den ACA-Gefäßen der beiden Hemisphären als Ursache dafür in Betracht gezogen, dass ACA-Infarkte beim Menschen relativ selten sind (Kubis *et al.*, 1999). Anatomische Abweichungen des ACA-Verlaufs scheinen dagegen das Schlaganfallrisiko zu erhöhen (Kubis *et al.*, 1999; Chuang *et al.*, 2007). Möglich ist also, dass die Unterschiede zwischen den Rattenstämmen durch anatomische Unterschiede im genauen Verlauf der ACA bedingt werden und/oder auf einer unterschiedlichen starken Vernetzung durch Kollaterale und Anastomose beruht.

## **7.2 Diskussion der postoperativen Verhaltens-Ergebnisse**

### **7.2.1 Motivationsaufgabe**

Wie in der Einleitung beschrieben, wird Apathie beim Menschen als häufige Störung nach Schlaganfall im Versorgungsgebiet der ACA beobachtet (Kumral *et al.*, 2002; Kobayashi *et al.*, 2011). Ziel dieser Studie war es daher, mögliche Beeinträchtigungen der Motivation nach ACAo bei der Ratte zu untersuchen.

Die postoperative Analyse verschiedener Verhaltensparameter der Motivationsaufgabe ergab zwar keine signifikanten Effekte, die Korrelationsanalysen sowie tendenzielle Unterschiede zwischen den Gruppen weisen aber dennoch darauf hin, dass die ACAo eine Woche postoperativ vor allem bei größeren Läsionen im zingulären Kortex zu einer Beeinträchtigung des Motivationsverhalten führte. Bei den späteren Testungen (drei und fünf Wochen postoperativ) näherte sich die Motivation der ACA-Tiere wieder dem Ausgangswert der präoperativen Messung an. Wie in Abschnitt 7.3 weitergehend diskutiert, könnte die Verbesserung der motivationalen Beeinträchtigung durch Kompensation über andere Areale außerhalb des betroffenen Läsionsgebiets bedingt sein.

Wie im Folgenden näher erläutert, scheint insbesondere die Anzahl der erfolgreichen Antworten an der Nosepoke-Einheit, die Motivationsschwelle und die Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit mit der Läsion in Zusammenhang zu stehen. So war eine Woche postoperativ der Erfolg an der Nosepoke-Einheit bei einer gefor-

dernten Wartezeit von 1000 ms von der Läsionsgröße abhängig: Je größer die Läsion war, umso erfolgloser waren die Versuchstiere. Drei Wochen postoperativ war der gleiche Effekt für die längste geforderte Wartezeit von 1600 ms zu beobachten. Außerdem deutete die postoperative Änderung der Motivationsschwelle auf einen Effekt der ACAo hin: Auch hier gab es eine Woche postoperativ einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Motivationsschwelle und der Läsionsgröße, der zu den späteren Testzeitpunkten nicht mehr zu beobachten war. Der reduzierte Erfolg nach ACAo wird weiter durch den Gruppenvergleich bestärkt: Unabhängig vom Testzeitpunkt und der Länge der geforderten Wartezeit war die ACA-Gruppe mit großer Läsion zumindest in der Tendenz postoperativ erfolgloser als die scheinoperierte Gruppe. Dies äußerte sich in einer geringeren Anzahl erfolgreicher Durchläufe an der Nosepoke-Einheit und wurde weiter durch eine tendenziell reduzierte Motivationsschwelle bestätigt. Im Vergleich zur scheinoperierten Gruppe verlängerten sich außerdem in der ACA-Gruppe mit großer Läsion die Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit. Diese Tendenz war unabhängig vom Testzeitpunkt und es gab keinen Korrelationseffekt mit der Läsionsgröße. Auch die Reaktionszeiten der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion waren in der Tendenz etwas höher als präoperativ. Für die anderen Verhaltensparameter gab es jedoch zwischen der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion und der scheinoperierten Gruppe keine Unterschiede. Da die Korrelationsanalyse einen deutlichen Zusammenhang mit der Läsionsgröße annehmen lässt, scheinen die Ergebnisse der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion darauf zurückzuführen sein, dass die Läsion nicht ausgeprägt genug ausfiel. Des Weiteren waren die Läsionen in dieser Gruppe deutlich heterogener lokalisiert als in der ACA-Gruppe mit großer Läsion (vgl. 7.1).

Wie zuvor beschrieben war die Motivation der Tiere vor allem eine Woche postoperativ mit zunehmender Läsionsgröße besonders beeinträchtigt. Zu den späteren Testzeitpunkten erhöhte sich der Erfolg an der Nosepoke-Einheit zwar wieder, die Reaktionszeiten waren aber weiterhin tendenziell länger als präoperativ. Vermutlich aufgrund der hohen Standardabweichungen vor allem innerhalb der beiden ACA-Gruppen, der kleinen Gruppengrößen und der unterschiedlichen Läsionsgrößen ergab der Vergleich zwischen den Gruppen und Testzeitpunkten jedoch keine signifikanten Unterschiede. Wie im späteren Abschnitt noch genauer erläutert wird, hatte die Läsionsgröße nach ACAo auch in anderen Studien einen starken

Einfluss auf die beobachteten Defizite (Cordova *et al.*, 2014; Endepols *et al.*, 2014).

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie stehen im Einklang mit zwei anderen Studien, die beschreiben, dass bei Nagern apathieähnliche Symptome beobachtet werden können (Martinowich *et al.*, 2012; Olausson *et al.*, 2013). In einem Apathie-Mausmodell wurde ein motivationales Defizit durch chronischen Stress evoziert (Martinowich *et al.*, 2012). Das Ausmaß des Motivationsdefizits wurde in dieser Studie mit verschiedenen Verhaltenstests wie einem Saccharinpräferenztest, der erhöhten O-Arena (vergleichbar mit der erhöhten Plusarena, vgl. Diskussion 7.2.2) sowie Verhaltensbeobachtungen im Käfig (z. B. Nestbauverhalten) untersucht.

In den zitierten Studien werden die beobachteten Defizite jedoch nicht funktionell mit bestimmten Arealen in Verbindung gebracht. Wie in der Einleitung erwähnt, können apathische Störungsbilder unterschiedliche Ursachen haben (vgl. 1.6). Im Folgenden werden die Verhaltensergebnisse daher im Hinblick auf das betroffene Läsionsgebiet nach ACAo diskutiert. Wie bereits im Abschnitt 7.1 erwähnt, war bei den ACA-Tieren mit großer Läsion der gesamte ACC und MCC meist bilateral betroffen. Außerdem dehnte sich die ACA Läsion posterior weiter aus als bei den Tieren mit kleiner Läsion. Zudem war der sekundäre motorische Kortex häufig ebenfalls betroffen.

Wie in der Einleitung ausführlich erläutert (vgl. 1.6) wird vor allem der ACC mit Motivationsverhalten in Verbindung gebracht. Dies bestätigen auch die Ergebnisse des FDG-Verhaltens PET dieser Arbeit (vgl. 6.5). In diesem Zusammenhang ist aber auch die Funktion des ACCs bei der Kontrolle von zielgerichtetem Verhalten relevant (vgl. Einleitung 1.5.1). Dies wird im Folgenden weiter erläutert. Beim Menschen tritt besonders nach bilateraler Läsion im ACC akinetischer Mutismus als besonders schwere apathische Störung auf (vgl. Einleitung 1.3; Kumral *et al.*, 2002; Nagaratnam *et al.*, 2004). In verschiedenen Tiermodellstudien wurde ebenfalls ein verminderter Antrieb mit Läsionen im ACC in Verbindung gebracht (vgl. Einleitung 1.3.1; Hosking *et al.*, 2014). Die Funktion des ACCs bei Ratten wurde intensiv im Hinblick auf Entscheidungsverhalten bei Kosten-Nutzen-Abwägungen untersucht (Walton *et al.*, 2003; Schweimer & Hauber, 2005; Salamone *et al.*, 2007; Hosking *et al.*, 2014). Inaktivierungen oder Läsionen im ACC führen zu einer Verschiebung von Kosten-Nutzen Entscheidungen und zwar zu einer Bevorzugung einer kleine-

ren Belohnung, die einen geringeren Aufwand erfordert (vgl. Einleitung 1.5.1; Walton *et al.*, 2003; Hosking *et al.*, 2014). In diesem Zusammenhang wird angenommen, dass die Verhaltensdefizite mitunter auf einen verminderten Willen oder Antrieb zurückzuführen sind (Hosking *et al.*, 2014). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie stehen also im Einklang mit vorherigen Arbeiten, die dem ACC eine Funktion im Hinblick auf Motivation im Hinblick auf Kosten-Nutzen-Entscheidungen zusprechen. Wie bereits in Abschnitt 5.1 diskutiert, wurde mit dem in dieser Arbeit etablierten Verhaltensparadigma im Vergleich zu zitierten Studien das Motivationsverhalten explizit untersucht. Zum einen mussten die Ratten sich nicht zwischen Belohnungsmengen entscheiden und zum anderen konnte über die Bestimmung einer Motivationsschwelle Motivation in Abhängigkeit vom geleisteten Arbeitsaufwand untersucht werden (vgl. auch 5.1).

Wie in der Einleitung ausführlich erläutert, führen apathische Störungen bei ACA-Patienten zu einer quantitativen Reduktion zielgerichteter Verhaltensweisen (Levy & Dubois, 2006). Nach dem Modell von Holroyd & Yeung (2012) ist dies durch eine verminderte Kontrolle des ACCs bei der Wahl zwischen Handlungsoptionen und der anschließenden Handlungsüberwachung zu erklären (vgl. Einleitung 1.6). Dies steht auch im Einklang mit verschiedenen Human- und Tiermodellstudien aus der Literatur (Dosenbach *et al.*, 2006; Ng *et al.*, 2007a; Hillman & Bilkey, 2012; Cordova *et al.*, 2014; Shen *et al.*, 2014). Wie im Folgenden erläutert, könnte der verminderte Erfolg an der Nosepoke-Einheit auch mit einer Beeinträchtigung des zielgerichteten Verhaltens zu erklären sein. Ähnliches wurde von unserer Arbeitsgruppe auch hinsichtlich des Futter-Eintragen-Verhaltens nach ACAo beobachtet (Endepols *et al.*, 2014). Vor ACAo und Schein-OP hing die Entscheidung, ob das Futter vor dem Verzehr zum Käfig getragen wird von der Distanz zwischen dem Futter und dem Heimkäfig ab: Je kürzer die Distanz war, umso häufiger wurde das Futter vor dem Verzehr in den Heimkäfig getragen. Bei längerer Distanz wurde dagegen eher die Entscheidung getroffen, das Futter an Ort und Stelle zu fressen. Nach ACAo verringerte sich mit zunehmender Läsionsgröße die Wahrscheinlichkeit, dass das Futter nach ACAo überhaupt eingetragen wurde. Eine reduzierte Motivation, das Futter einzutragen, einhergehend mit einer beeinträchtigten Verfolgung der Handlungsstrategie wurden hier als mögliche Erklärung für die Effekte nach ACAo beschrieben. Die Verfolgung einer Handlungsstrategie ist außerdem

eng mit Aufmerksamkeitskontrolle verknüpft. Läsionen im ACC und MCC, aber auch im retrosplenialen Kortex erschweren es Ratten, irrelevante Stimuli in einer Aufmerksamkeitsaufgabe zu ignorieren (Ng *et al.*, 2007a). Sowohl reduziertes zielgerichtetes Verhalten als auch eine verminderte Aufmerksamkeitskontrolle könnten auch in der vorliegenden Studie zu einem verminderten Erfolg an der Nosepoke-Einheit geführt haben. Die Handlungsstrategie könnte weniger stringent verfolgt worden sein und dazu geführt haben, dass die geforderte Wartezeit seltener eingehalten wurde.

Die Inaktivierung des ACCs kann außerdem in einer erhöhten motorischen Impulsivität resultieren (Muir *et al.*, 1996; Hosking *et al.*, 2014). Läsionen oder Inaktivierungen des ACCs führten dazu, dass die Versuchstiere bereits antworteten, bevor der eigentliche Durchlauf begonnen hatte. Eine erhöhte motorische Impulsivität trägt auch dazu bei, dass Handlungsstrategien weniger aufmerksam verfolgt werden (Bari & Robbins, 2013) und könnte somit ebenfalls zum geminderten Erfolg an der Nosepoke-Einheit beigetragen haben.

Wie zu Beginn dieses Diskussionsabschnitts bereits erwähnt, antwortete die ACA-Gruppe mit großer Läsion zu Beginn eines Durchlaufs postoperativ in der Tendenz langsamer an der Nosepoke-Einheit. Vor allem eine Woche postoperativ war dies auch für die ACA-Gruppe mit kleiner Läsion der Fall, während die scheinoperierte Gruppe postoperativ eher schneller wurde. In einer Studie von Ward *et al.* (1998) wurde ebenfalls eine Verlangsamung der Reaktionszeiten beobachtet. Die Ergebnisse dieser Studie wurden mit einer beeinträchtigten Handlungsinitiierung erklärt. Wie schon in Abschnitt 7.1 erwähnt, führte die ACAo in der zitierten Studie zu großen Läsionen im frontalen Kortex, so dass aus der Studie nicht hervorgeht, ob diese Beeinträchtigungen auf ein bestimmtes Areal zurückzuführen sind.

Eine beeinträchtigte Handlungsinitiierung könnte jedoch auch in der Motivationsaufgabe zu verlängerten Reaktionszeiten geführt haben. Andererseits könnte der Effekt aber auch motivationsbedingt sein. Wie in Abschnitt 7.2.2 ausführlicher diskutiert, ist die Verlängerung der Reaktionszeiten jedoch nicht auf motorische Defizite zurückzuführen, da die Laufgeschwindigkeit auf dem Cat Walk postoperativ unverändert blieb und die Tiere vier Wochen nach ACAo im Open Field sogar ten-

denziell schneller waren. Hinzu kommt, dass die ACAo keinen Effekt auf die Reaktionszeiten in der Diskriminierungsaufgabe hatte. Wurde also die Motivation aufgebracht, die geforderte Wartezeit einzuhalten, reagierten die Versuchstiere in der visuellen Diskriminierungsaufgabe ähnlich schnell wie vor der Operation. Ähnliches wurde auch in der Studie von Ward *et al.* (1998) beobachtet.

Dass sich die Reaktionszeiten in der vorliegenden Studie postoperativ nicht in Abhängigkeit von der Läsionsgröße verlängerten, könnte bedeuten, dass die Lokalisation der Läsion entscheidender war als die tatsächliche Läsionsgröße. Bei Primaten wird vor allem das supplementär-motorische Areal mit Handlungsinitiierung in Verbindung gebracht (Thaler *et al.*, 1988; Bari & Robbins, 2013). Der sekundäre motorische Kortex von Ratten weist Ähnlichkeiten zu diesem Areal auf (Uylings *et al.*, 2003). Läsionen in diesem Areal führen bei Ratten auch zu verlängerten Reaktionszeiten (Bailey & Mair, 2004). Möglich ist also, dass Läsionen in diesem Areal die Verlängerung der Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit bedingten. Es gab jedoch auch Tiere, die eine Woche postoperativ langsamer an der Nosepoke-Einheit antworteten, bei denen auf der MRT-Aufnahme aber keine Läsion im sekundären motorischen Kortex sichtbar war. Dies lässt annehmen, dass auch Läsionen im zingulären Kortex (ACC, MCC) zu verlängerten Reaktionszeiten beitragen könnten. Möglich ist auch, dass bei diesen Tieren kritische Verbindungen zwischen dem sekundären motorischen Kortex und dem ACC durch die Läsion unterbrochen waren. Dies steht im Einklang mit einer Humanstudie, in der die Reaktionszeiten von Patienten mit Läsionen in frontalen Arealen mit drei verschiedenen Paradigmen untersucht wurden und verlängerte Reaktionszeiten sowohl mit dem supplementär-motorischen Areal als auch mit dem ACC in Verbindung gebracht wurden (Stuss *et al.*, 2005). Neben einer Beeinträchtigung der Handlungsinitiierung könnten die verlängerten Reaktionszeiten also auch motivationsbedingt sein und auf Läsionen in beiden Arealen zurückzuführen sein.

Die ACAo hatte in der vorliegenden Studie keinen Effekt auf die Diskriminierungsaufgabe. Dies steht im Einklang mit einer anderen ACAo-Studie aus der Literatur und auch eigenen Beobachtungen (Höfener, 2010; Cordova *et al.*, 2014).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass mit der Motivationsaufgabe vor allem eine Woche nach ACAo apathieähnliche Symptome bei der Ratte beobachtet wurden.

Möglicherweise auf Grund kompensatorischer Mechanismen näherten sich die ACA-Tiere drei und fünf Wochen postoperativ wieder dem präoperativen Level. Dies wird im Abschnitt 7.3 näher erläutert.

### 7.2.2 Weitere Verhaltensversuche

Um die Beeinträchtigungen nach ACAo in der Motivationsaufgabe besser interpretieren zu können, wurden die Versuchstiere in weiteren Verhaltensversuchen getestet. Im Open Field-Versuch und auf der erhöhten Plus-Arena kann neben lokomotorischen Parametern das explorative Verhalten der Versuchstiere sowie das Angstverhalten untersucht werden (Archer, 1973; Walsh & Cummins, 1976; Pellow *et al.*, 1985). Mit der Cat Walk-Methode wird dagegen das Laufverhalten der Versuchstiere expliziter untersucht (vgl. Material und Methoden 2.7). Die ACAo hatte in keinem der Versuche einen gravierenden Effekt.

Im Open Field-Versuch war die Laufgeschwindigkeit vier Wochen postoperativ positiv mit der Läsionsgröße korreliert. Je größer die Läsion war, umso schneller liefen die Versuchstiere in der äußeren Zone. Dieser Effekt muss jedoch nicht unbedingt auf die ACAo zurückzuführen sein. Unabhängig vom Testzeitpunkt war die Laufgeschwindigkeit in der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion geringer als in der scheinoperierten Gruppe. Im Mittel lag die ACA-Gruppe mit großer Läsion zwischen den beiden Gruppen. Somit könnte auch ein genereller Gruppeneffekt vorliegen, der bereits vor der Okklusion vorhanden war.

In einer vorherigen Studie unserer Arbeitsgruppe nahm die Laufgeschwindigkeit nach ACAo jedoch ebenfalls zu (Endepols *et al.*, 2014). Eine Zunahme der Laufgeschwindigkeit steht zunächst im Widerspruch zur tendenziellen Verlängerung der Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit (vgl. 7.2). Auch dies wurde in der vorherigen Studie unserer Arbeitsgruppe beobachtet. Hier führte die ACAo in einem Entscheidungsversuch zu einer Verlangsamung der Tiere, gleichzeitig erhöhte sich aber die Laufgeschwindigkeit auf der erhöhten Plus-Arena. Dies entspricht auch dem klinischen Bild von ACA-Patienten, da bei apathischen Patienten manchmal eine allgemeine Unruhe beobachtet wird (Kang & Kim, 2008). In der vorliegenden Studie wie auch in weiteren eigenen Versuchen wurde außerdem immer wieder beobachtet, dass die ACA-Tiere sowohl im Käfig als auch im Kontakt zum Men-

schen unruhiger waren als es vor der Operation der Fall gewesen war.

Im Open Field zeigten die Versuchstiere sowohl prä- als auch postoperativ ein sogenanntes *Homebase*-Verhalten. Wie auch schon kurz im Material und Methoden teil (vgl. 2.7.1) erläutert, halten sich Ratten meist bevorzugt in einer Zone der Arena auf. In der vorliegenden Studie verbrachten die Tiere in der Zone, in die sie auch zu Beginn des Versuchs gesetzt wurden, am meisten Zeit. In vorherigen Studien wurde dieses Verhalten sowohl im hellen Licht (Eilam & Golani, 1989; Leke *et al.*, 2012) als auch im Rotlicht (Mertgens, 2008; Rohleder, 2012) beobachtet. Dass Ratten unter beiden Lichtverhältnissen ein *Homebase*-Verhalten ausbilden, könnte entweder daran liegen, dass entgegen Annahmen aus der Literatur Rotlicht zumindest etwas wahrgenommen werden kann (vgl. 2.1). Die Orientierung im Dunkeln könnte aber auch über olfaktorische Landmarken erfolgen (Rohleder, 2012). Dass die ACAo das *Homebase*-Verhalten nicht beeinträchtigte, wurde auch in einer anderen Studie unserer Arbeitsgruppe so beobachtet (Mertgens, 2008).

Das Verhalten auf der erhöhten Plus-Arena veränderte sich nach ACAo ebenfalls nur leicht: Hier war die zurückgelegte Distanz auf den geschlossenen Armen in der ACA-Gruppe mit großer Läsion fünf Tage nach der Operation niedriger als in der scheinoperierten Gruppe. Die Korrelationsanalyse mit der Läsionsgröße löste diesen Effekt weiter auf: In Abhängigkeit von der Läsionsgröße nahm die zurückgelegte Distanz auf den geschlossenen Armen ab, während auf den offenen Armen das Gegenteil der Fall war. Die prozentuale Aufenthaltsdauer auf den offenen und geschlossenen Armen blieb nach ACAo jedoch unverändert. Dieser Effekt ist also auf eine Veränderung des Aktivitätslevels auf den geschlossenen bzw. offenen Armen zurückzuführen und nicht auf eine veränderte Aufenthaltsdauer. Möglich ist, dass sich die Tiere mit größerer Läsion schlechter an die Umgebung erinnerten und so das Erkundungsverhalten auf den offenen Armen postoperativ etwas stärker ausgeprägt war als präoperativ. Der retrospleniale Kortex, der vor allem bei den Tieren mit größerer Läsion mitbetroffen war (vgl. 7.1) spielt eine wichtige Rolle im Hinblick auf verschiedene Erinnerungsfunktionen (Vann *et al.*, 2009). Dies ist aber unwahrscheinlich, da dann ein vergleichbares Verhalten vermutlich auch im Open Field beobachtet worden wäre. Es ist eher anzunehmen, dass diese Effekte darauf zurückzuführen sind, dass die ACAo zu einer leichten Verminderung der Ängstlichkeit führte. Ähnliches wurde auch in der bereits zitierten vorherigen Stu-

die unserer Arbeitsgruppe beobachtet: Hier führten Läsionen nach ACAo zu einem erhöhten Aufenthalt auf den offenen Armen. Wie im Material und Methodenteil erwähnt (vgl. 2.7.2) wird die prozentuale Aufenthaltsdauer auf den beiden offenen Armen als inverses Maß für die Ängstlichkeit eines Tieres angesehen (Pellow *et al.*, 1985). In dieser Arbeit führte die ACAo jedoch wenn überhaupt, nur zu einer leichten Verringerung der Ängstlichkeit, da sich die Aufenthaltsdauer auf den offenen Armen nicht erhöhte.

Wie bereits erwähnt, wurde das Laufverhalten der Versuchstiere auf dem Cat Walk untersucht. Für keinen der in dieser Arbeit vorgestellten Parameter (Laufgeschwindigkeit, Schrittfrequenz, Schrittlänge) wurde ein Effekt der ACAo festgestellt. Auch weitere, in dieser Arbeit nicht näher ausgeführte Parameter, veränderten sich postoperativ nicht. Wie in der Einleitung erläutert, treten beim Menschen motorische Defizite wie Fuß- oder Beinparese nach ACA-Infarkt häufig auf (Kumral *et al.*, 2002; Kang & Kim, 2008; Arboix *et al.*, 2009). Bei der Ratte führen Läsionen im sekundär motorischen Kortex und im ACC eher zu einer Beeinträchtigung der Handlungsinitiierung und weniger zu motorischen Defiziten (Muir *et al.*, 1996; Ward *et al.*, 1998; Höfener, 2010). Dass es bei Ratten zu einem Hemineglect nach ACAo kommt, konnte ebenfalls in einer Studie unserer Arbeitsgruppe ausgeschlossen werden (Mertgens, 2008).

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass die Ergebnisse des Open Field, der erhöhten Plus-Arena und dem Cat Walk zeigen, dass die Ängstlichkeit, das Explorationsverhalten und die Motorik nach ACAo unbeeinträchtigt war. Dies unterstützt die Hypothese, dass die beobachteten Beeinträchtigungen in der Motivationsaufgabe eher auf apathieähnliche Symptome zurückzuführen sind.

### **7.3 Diskussion der postoperativen PET-Ergebnisse**

Im Folgenden wird zunächst erläutert, inwiefern sich das Verhalten während der Verhaltens-PET-Messungen postoperativ änderte. In diesem Abschnitt wird das FDG- und FDOPA-Verhaltens-PET gemeinsam diskutiert. Im Anschluss werden die metabolischen und dopaminergen Änderungen zunächst separat erörtert. Wie auch in der präoperativen Verhaltens-PET Diskussion, werden vor allem motivations- und belohnungsrelevante Areale diskutiert.

### 7.3.1 Verhaltensergebnisse

Sowohl das FDG- als auch das FDOPA-PET fand jeweils über einen Zeitraum von zwei Wochen statt. Wie im Material und Methodenteil erläutert war dies nicht anders möglich, da die Radiopharmaka nur zweimal wöchentlich produziert wurden und außerdem jedes Tier drei (nur FDG-PET) bzw. sechs (FDG-PET und FDOPA-PET) verschiedene PET-Bedingungen in randomisierter Reihenfolge durchlief (vgl. Material und Methoden 2.6.3). Wie in Abschnitt 7.2 erörtert waren die Unterschiede zwischen der Verhaltensmessung in der dritten und fünften Woche nur sehr klein, so dass davon ausgegangen werden kann, dass dies keinen erheblichen Einfluss auf die Verhaltens-PET-Ergebnisse hatte. Dennoch sollte der zeitliche Abstand bei der Interpretation der Verhaltensergebnisse in Kombination mit PET beachtet werden.

Das FDG-Verhaltens-PET fand drei bis fünf Wochen nach der ACA- bzw. Schein-OP statt. Beim Vergleich zwischen den verschiedenen Antworttypen (erfolgreich, nicht erfolgreich, keine Antwort) war zunächst auffällig, dass die Anzahl erfolgreicher Durchläufe postoperativ abnahm. Umgekehrt war die Anzahl nicht beantworteter Durchläufe postoperativ signifikant höher als präoperativ. Obwohl dieser Effekt unabhängig von der Gruppe und dem Motivationslevel war, zeigte der Vergleich zwischen den Mittelwerten, dass der Unterschied zwischen den Testzeitpunkten generell für die ACA-Gruppen größer war als für die scheinoperierte Gruppe und die Unterschiede bei hoher Motivation nur sehr klein waren.

Vermutlich führte die wiederholte Vorfütterung unabhängig von der ACAo zu einem Gewöhnungseffekt, so dass die Motivation, im anschließenden Versuch mitzuarbeiten, sank. Diese Annahme beruht auch auf der Beobachtung, dass die Versuchstiere postoperativ tendenziell eher dazu neigten, die vor dem Versuch dargebotenen Pellets vollständig aufzufressen als präoperativ, so dass das Sättigungsgefühl vermutlich höher war. Bei hoher Motivation war nur für die ACA-Gruppe mit großer Läsion ein leichter Unterschied zwischen den Testzeitpunkten zu erkennen. Hier lag die Reduktion erfolgreicher Antworten bei etwa 20 %, während in den anderen Gruppen nur ein minimaler Unterschied zwischen den Testzeitpunkten zu verzeichnen war. Die Motivationsschwelle unterschied sich zwischen den Gruppen nicht, wobei die Standardabweichung hoch war, vor allem für die ACA-Gruppe mit

großer Läsion. Auch die Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit unterschieden sich zwischen den Gruppen nicht signifikant, was auch vermutlich auf die hohen Standardabweichungen, vor allem in der scheinoperierten Gruppe, zurückzuführen war. Im Mittel lagen die Reaktionszeiten der ACA-Gruppen nämlich 20-30 % über dem präoperativen Level. Die Verlängerung der Reaktionszeiten war unabhängig von der Läsionsgröße.

Das FDOPA-PET fand zwei bis drei Wochen nach der Operation und somit zeitlich vor dem FDG-PET statt. Hier gab es keinen Effekt zwischen den Testzeitpunkten und die Vorfütterung führte unabhängig von der Operation zu einer reduzierten Anzahl erfolgreicher und nicht erfolgreicher Durchläufe. Die prozentualen Änderungen der Motivationsschwelle und der Reaktionszeit an der Nosepoke-Einheit konnten statistisch nicht verglichen werden, da eine Gruppenaufteilung anhand der Läsionsgrößen auf Grund der kleinen Stichprobe nicht sinnvoll erschien (vgl. Material und Methoden 2.9.4). Die postoperative Motivationsschwelle lag jedoch bei fünf der sechs Tiere deutlich unter dem präoperativen Level. Da die Motivationsschwelle bei einem Tier mit kleiner Läsion jedoch weit über dem präoperativen Wert lag, war die Standardabweichung innerhalb der Gruppe groß und der Mittelwert nur knapp unter dem präoperativen Level.

Die Beobachtungen im FDG- und FDOPA-Verhaltens-PET unterstreichen die Punkte, die schon in der Diskussion der Verhaltensergebnisse ohne PET herausgestellt wurden: Während eine Woche nach der Operation motivationale Effekte beobachtet werden konnten, scheinen zu den späteren Testzeitpunkten kompensatorische Effekte eine Annäherung des Verhaltens an das präoperative Level zu bewirken.

### **7.3.2 Metabolische Aktivitätsunterschiede (FDG-Verhaltens-PET)**

Mit einigen Ausnahmen, die im Verlauf der Diskussion genauer erläutert werden, entsprach das Muster der metabolischen Aktivitätsreduktion in beiden ACA-Gruppen der Läsionslokalisation mittels MRT-Aufnahmen (vgl. 7.1). Nach ACAo war die metabolische Aktivität im zingulären Kortex deutlich reduziert, wobei ein klarer Zusammenhang mit der Läsionsgröße bestand. Vor allem in der ACA-Gruppe mit großer Läsion war die FDG-Aktivität zudem im sekundären motorischen Kortex deutlich reduziert. Außerdem zeigte der Vergleich der q-Wertkarten zwischen

den Gruppen wie auch die Korrelationsanalyse mit der Läsionsgröße, dass sich die Läsion im zingulären Kortex bei den ACA-Tieren mit größerer Läsion sowohl anterior als auch posterior weiter ausdehnte als es in der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion der Fall war (vgl. 6.5.1.2). Außerdem war die metabolische Aktivität vor allem bei den ACA-Tieren mit großer Läsion sowohl im ACC als auch im MCC bilateral deutlich reduziert. In der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion war auffällig, dass das Aktivitätsdifferenzbild zwar der Läsionslokalisierung mittels MR-Aufnahmen entsprach, die Unterschiede aber vor allem im vorderen ACC (Schnitt 3,24 mm vor Bregma) nicht signifikant waren. Dies entspricht jedoch auch den Erwartungen, da die Läsionen in dieser Gruppe deutlich heterogener ausfielen (vgl. 7.1). In der scheinoperierten Gruppe war die metabolische Aktivität hingegen bei den beiden Testzeitpunkten vergleichbar.

Im Gegensatz zu den MRT-Aufnahmen geben die Verhaltens-PET Aufnahmen außerdem Aufschluss darüber, wie stark der Effekt der ACAo in den betroffenen Arealen war: Während die metabolische Aktivität in der ACA-Gruppe mit großer Läsion im betroffenen Gebiet im Mittel um bis zu 48 % sank, war der mittlere Aktivitätsunterschied in der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion nur etwa halb so groß (21 %). In vorherigen Studien unserer Arbeitsgruppe mit Lister und Black hooded Ratten (vgl. 2.1, 7.1) wurde nach ACAo eine höhere Aktivitätsreduktion beobachtet, die vier Wochen postoperativ ca. 60 % betrug (eig. Erfahrungen). Wie jedoch in Abschnitt 7.1 bereits diskutiert, scheinen Läsionen nach ACAo bei Lister und Black hooded Ratten größer und weniger heterogen auszufallen als bei Long Evans Ratten. Die unterschiedlich starke Reduktion der metabolischen Aktivität ist also vermutlich dadurch bedingt, dass sich die genaue Lokalisation des Kerngebiets der Läsion in der vorliegenden Arbeit auch in der Gruppe mit großer Läsion nach ACAo etwas stärker unterschied als in ACA-Studien mit Lister und Black hooded Ratten. Dies könnte auch darauf zurückzuführen sein, dass vor allem bei den ACA-Tieren mit kleiner Läsion mehr Gewebe in der Penumbra überlebensfähig blieb und sich so auf Voxelebene die metabolische Aktivität zwischen den Tiere etwas stärker unterschied (vgl. Einleitung 1.1.2). Wie in der Einleitung erläutert ist das Überleben des Gewebes in der Penumbra davon abhängig wie schnell sich der Blutfluss wieder erholt (Heiss, 2012). Verschiedene physiologische Prozesse im Kerngebiet und in der Penumbra selbst erhöhen den Stress des umliegenden Gewebes zusätz-

lich (vgl. Einleitung 1.1.2).

Wie bereits in Abschnitt 7.2 diskutiert, zeigte die postoperative Verhaltensanalyse, dass das Motivationsverhalten vor allem eine Woche postoperativ reduziert war und sich zu den späteren Testzeitpunkten dem präoperativen Level wieder annäherte. Die Korrelationsanalyse zwischen der postoperativen Änderung der metabolischen Aktivität und der Motivationsschwelle eine Woche nach der Operation, zeigte, dass eine besonders starke Beeinträchtigung des Verhaltens mit einer reduzierten Aktivität im ACC nach ACAo einherging. Dies steht auch im Einklang mit der Literatur und bestärkt die Annahme, dass besonders dem ACC eine wichtige Funktion im Hinblick auf Motivationsverhalten zugesprochen werden kann (Walton *et al.*, 2003; Holroyd & Yeung, 2012; Kim, 2013). Wie in der Einleitung ausführlich erläutert, treten apathische Störungen bei ACA-Patienten häufig auf, wenn die Folgen des Schlaganfalls auch den Gyrus cinguli betreffen (Kumral *et al.*, 2002; Kang & Kim, 2008). Eine Studie mit Alzheimer-Patienten zeigt außerdem, dass eine reduzierte Perfusion im rechten ACC mit der Stärke der Apathiesymptome korreliert (Robert *et al.*, 2006).

In der vorliegenden Arbeit wurde zudem ein Zusammenhang zwischen der Änderung der Motivationsschwelle und der Aktivitätsreduktion im linken sekundären motorischen Kortex sowie beidseitig im retrosplenialen Kortex und für wenige Voxel im linken prälimbischen Kortex beobachtet. Der Korrelationseffekt im sekundären motorischen Kortex steht im Einklang mit der Annahme, dass auch eine Handlungsinitiierung nach ACAo beeinträchtigt sein könnte (vgl. 7.2). Im prälimbischen Kortex waren nur wenige Voxel signifikant mit der postoperativen Änderung der Motivationsschwelle korreliert. Diese schlossen sich direkt an die signifikanten Voxelgruppen im sekundären motorischen Kortex und im dorsalen ACC an, so dass dieser Effekt nicht überinterpretiert werden sollte. Wie jedoch auch in der Einleitung beschrieben (vgl. 1.4, 1.5.1) wird dem prälimbischen Kortex der Ratte eine Funktion bei der komplexeren Aufmerksamkeitskontrolle und zielgerichteten Verhaltensweisen zugesprochen (Birrell & Brown, 2000; Totah *et al.*, 2013). Wie in Abschnitt 7.2 bereits diskutiert, könnte der geminderte Erfolg an der Nosepoke-Einheit mitunter auch durch eine beeinträchtigte Aufmerksamkeitskontrolle bedingt sein, was den positiven Korrelationseffekt erklären könnte. Der retrospleniale Kortex wird in der Literatur vor allem mit verschiedenen Erinnerungsfunktion-

nen (vgl. Review Vann *et al.*, 2009), aber auch mit Aufmerksamkeitskontrolle in Verbindung gebracht (vgl. 7.2; Ng *et al.*, 2007a). Sowohl der Korrelationseffekt im retrosplenialen Kortex als auch im prälimbischen Kortex könnte aber auch darauf zurückzuführen sein, dass sich die Läsion bei den Tieren mit größerem Infarkt vom ACC ausgehend in diese Areale ausdehnte.

In der ACA-Gruppe mit großer Läsion war zusätzlich die FDG-Aktivität postoperativ bei hoher Motivation in einigen Arealen außerhalb des ACA-Versorgungsgebiets signifikant höher als präoperativ. Eine höhere postoperative Aktivität könnte auf mögliche kompensatorische Mechanismen zurückzuführen sein. Dies betraf Voxelgruppen in der rechten Kernregion des Ncl. Accumbens und im rechten lateralen und ventralen orbitofrontalen Kortex, im dorsalen Hippokampus, im rechten dorsalen Ncl. geniculatus lateralis, sowie im linken ventralen Hippokampus. Wie es auch schon im präoperativen Verhaltens-PET-beobachtet wurde, war hier auffällig, dass die postoperativen Erhöhungen vor allem unilateral waren (vgl. 5.2.2). Innerhalb der ACA-Gruppe mit kleiner Läsion war die FDG-Aktivität nur im Ncl. praeopticus pars magnocellularis des Hypothalamus postoperativ signifikant erhöht. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen der Korrelationsanalyse: Wie im Folgenden noch ausführlicher erläutert wird, waren die postoperativen Aktivitätserhöhungen im Ncl. Accumbens und im lateralen orbitofrontalen Kortex von der Läsionsgröße abhängig. Dies war auch für Voxelgruppen in anderen motivations- und belohnungsrelevanten Arealen wie dem rostralen Ncl. Accumbens, dem Caudate-Putamen und der Amygdala und dem Hypothalamus der Fall. Im Folgenden werden mögliche kompensatorische Mechanismen für die einzelnen Areale diskutiert.

Da die ACA-Tiere postoperativ eher weniger Durchläufe machten und sich die Anzahl belohnter Durchläufe zwischen den Messzeitpunkten nicht unterschied, kann davon ausgegangen werden, dass die erhöhte Aktivität im Ncl. Accumbens und im orbitofrontalen Kortex auf kompensatorische Funktion nach ACAo zurückzuführen ist. Hinzu kommt, dass die Aktivitätserhöhung mit der Läsionsgröße korreliert war. In der Literatur findet sich eine FDG-Studie, in der bei Patienten mit fronto-

temporaler Demenz<sup>3</sup> ein Hypometabolismus im orbitofrontalen Kortex mit apathischen Symptomen, aber auch enthemmten, unangemessenen Verhaltensweisen einherging (Peters *et al.*, 2006). Ähnliches wird auch in einer anderen Studie mit Alzheimer-Patienten berichtet (Marshall *et al.*, 2007). Auch bei der Ratte wird der orbitofrontale Kortex mit der Anpassung an situationsbedingte Änderungen zielgerichteten Verhaltens in Verbindung gebracht (McAlonan & Brown, 2003; Ghods-Sharifi *et al.*, 2008). Läsionen in diesem Areal führen unter anderem dazu, dass in Diskriminierungsaufgaben das Umkehren einer zuvor erlernten Regel schwerer fällt (zuvor nicht-belohnter Stimulus führt nun zu einer Belohnung; McAlonan & Brown, 2003). Im Rattenmodell wurde sowohl nach ACAo als auch nach selektiven Inaktivierungen des ACCs beobachtet, dass willkürliche, ungerichtete Handlungsweisen zunehmen (Endepols *et al.*, 2014; Hosking *et al.*, 2014). Eine Interpretationsmöglichkeit der postoperativen Erhöhung wäre folglich, dass zielgerichtete Handlungen nach ACAo verstärkt über den orbitofrontalen Kortex reguliert werden. Im Hinblick auf die Motivationsaufgabe würde dies erklären, warum sich die Versuchstiere drei und fünf Wochen nach der Operation wieder dem präoperativen Level näherten.

Wie bereits erwähnt gilt der Ncl. Accumbens als Schnittstelle zwischen dem limbischen und motorischen System (Mogenson *et al.*, 1980; Ghods-Sharifi & Floresco, 2010). Er erhält Eingang aus verschiedenen limbischen Nuclei wie der Amygdala, dem Hippokampus und dem präfrontalen Kortex und projiziert zugleich zu verschiedenen motorisch assoziierten Arealen der Basalganglien (Nicola, 2007). Obwohl beim Menschen Läsionen im Ncl. Accumbens allein nicht zu apathischen Störungen führen, wird dieser dennoch als eine zentrale Struktur des pathologischen Netzwerks verstanden (Levy & Dubois, 2006; Alexopoulos *et al.*, 2013). Dopaminerge Verbindungen zwischen der VTA und dem Ncl. Accumbens spielen eine kritische Rolle im Hinblick auf die Regulation von Motivation (vgl. Einleitung 1.5.2; Levy & Dubois, 2006; Brown *et al.*, 2012). In einem Primaten-Parkinsonmodell korrelierte außerdem der dopaminerge Zellverlust in der VTA, aber nicht in der Substantia nigra pars compacta mit Apathie-ähnlichen Symptomen. Mittels

---

<sup>3</sup> Bei einer frontotemporalen Demenz kommt es zu einer neuronalen Degeneration, die im Anfangsstadium v. a. die Frontallappen betrifft, so dass zunächst symptomatische Veränderungen der Persönlichkeit und des Sozialwesens sowie Beeinträchtigungen verschiedener Exekutivfunktionen im Vordergrund der Krankheit stehen (Doegge & Abeliovich, 2014)

FDOPA-PET-Messungen wurde das gleiche für den Ncl. Accumbens gezeigt (Brown *et al.*, 2012). Nach ACAo könnte der Ncl. Accumbens also an einem kompensatorischen Mechanismus beteiligt gewesen sein, der dazu führte, dass das beeinträchtigte Motivationsverhalten einen Monat nach der Operation wieder mit dem präoperativen Level vergleichbar war. Der Ncl. Accumbens stellt außerdem eine zentrale Struktur in Bezug auf Kosten-Nutzen-Abwägung und weiteren zielgerichteten Verhaltensweisen dar (Salamone *et al.*, 2007). Wie auch schon im vorherigen Abschnitt diskutiert und in der Einleitung ausführlich erläutert, führt Apathie zu einer quantitativen Reduktion zielgerichteten Verhaltens (Levy & Dubois, 2006). Die Inaktivierung der Kern-, aber nicht der Schalenregion des Ncl. Accumbens führt dazu, dass die Bereitschaft, mehr Arbeitsaufwand für eine höhere Belohnung aufzubringen, sinkt (Ghods-Sharifi & Floresco, 2010). Dies steht zunächst im Einklang mit der Beobachtung der vorliegenden Studie, dass nach ACAo nur die FDG-Aktivität in der Kernregion, aber nicht in der Schalenregion anstieg. In der Korrelationsanalyse zeigte sich jedoch, dass auch die FDG-Aktivitätsdifferenz einiger Voxel im rostralen Ncl. Accumbens positiv mit der Läsionsgröße korreliert war. Da die Auflösung des PETs auf eine Voxelgröße von 0,38 x 0,38 x 0,82 mm beschränkt ist (vgl. Material und Methoden 2.6.4) und der rostrale Ncl. Accumbens bei der Ratte sehr klein ist, muss dies jedoch mit Vorsicht betrachtet werden. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass diese postoperative Aktivitätserhöhung auf die angrenzende Schalenregion des Ncl. Accumbens zurückzuführen ist. Die Kern- und Schalenregion des Ncl. Accumbens übernehmen verschiedene, teils gegensätzliche Funktionen im Hinblick auf die Regulation von Verhalten (Di Chiara, 2002). Der Schalenregion wird unter anderem eine Funktion bei der Inhibition irrelevanter Stimuli zugesprochen (Floresco *et al.*, 2006). Wie bereits in Abschnitt 7.2 kurz erwähnt führen Läsionen im gesamten zingulären Kortex dazu, dass diese Form der Aufmerksamkeitskontrolle beeinträchtigt ist (Ng *et al.*, 2007a). Denkbar ist also, dass die Schalenregion des Ncl. Accumbens bei Tieren mit größerer Läsion daher eine stärkere funktionelle Rolle eingenommen hat.

In der ACA-Gruppe mit großer aber nicht mit kleiner Läsion waren außerdem Voxelgruppen sowohl im ventralen als auch im dorsalen Hippokampus nach ACAo signifikant erhöht. Auch der statistische Vergleich zwischen der ACA-Gruppe mit großer Läsion und der scheinoperierten Gruppe ergab, dass die Gruppen sich post-

aber nicht präoperativ signifikant unterschieden. Hier muss jedoch beachtet werden, dass das mittlere Aktivitätsdifferenzbild (in dieser Arbeit nicht abgebildet) zeigte, dass die mittlere FDG-Aktivität der ACA-Gruppe mit großer Läsion im dorsalen Hippokampus präoperativ schon leicht erhöht war. Während der Unterschied präoperativ jedoch bei etwa 5 % lag, stieg der Unterschied beider Gruppen postoperativ deutlich auf bis zu 25 %. Der präoperative Unterschied war nicht signifikant, könnte aber dadurch zustande gekommen sein, dass die Gesamtanzahl an Durchläufen in der scheinoperierten Gruppe präoperativ im Mittel etwas geringer war als in der ACA-Gruppe mit großer Läsion.

Ein möglicher kompensatorischer Mechanismus nach ACAo über den Hippokampus wurde auch schon nach einer vorherigen, eigenen Studie angenommen, in der der Effekt der ACAo auf die Aufmerksamkeitsverschiebungsfähigkeit von Ratten in Kombination mit FDG-PET untersucht wurde (Höfener, 2010). Zentrale Funktionen des Hippokampus beim Menschen und bei auch bei Ratten betreffen das Erinnerungs- und Gedächtnissystem (vgl. Review Eichenbaum, 2000). Der gesamte zinguläre Kortex (ACC, MCC und retrosplenialer Kortex) ist an einem Netzwerk beteiligt, das Erinnerungen aus dem Langzeitgedächtnis abrufen (vgl. Reviews Ranganath & Ritchey, 2012; Weible, 2013). Dies scheint die postoperative Erhöhung im Hippokampus jedoch nicht zu erklären, da die Versuchstiere die Motivationsaufgabe täglich machten und das Langzeitgedächtnis vermutlich in diesem Zusammenhang keine wichtige Rolle spielt. In einer Tiermodellstudie führten Läsionen im ventralen Hippokampus während einer Aufmerksamkeitsaufgabe jedoch auch zu vorschnellen Antworten und einer erhöhten Fehlerrate (Abela *et al.*, 2013). Wie in Abschnitt 7.2 erläutert wurden in anderen Arbeiten ACC-Dysfunktionen auch mit einer erhöhten Impulsivität in Verbindung gebracht (Muir *et al.*, 1996; Hosking *et al.*, 2014), was in dieser Arbeit auch als mögliche Erklärung für den verminderten Erfolg an der Nosepoke-Einheit in Betracht gezogen wurde und zu den späteren Testzeitpunkten über den ventralen Hippokampus kompensiert worden sein könnte. Sowohl dem Hippokampus als auch dem retrosplenialen Kortex werden Funktionen im Hinblick auf räumliche Orientierung und Navigation zugesprochen (Vann *et al.*, 2009; Foster & Knierim, 2012; Buzsaki & Moser, 2013). Dies spielt im Hinblick auf Motivationsverhalten *per se* zwar keine Rolle, schon aber im Hinblick auf die Ausführung von Handlungssequenzen allgemein. Auch in

der Motivationsaufgabe mussten die Versuchstiere mehrere Handlungsaktionen hintereinander ausführen. Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass die erhöhte Aktivität im ventralen Hippokampus nach ACAo durch eine verstärkte inhibitorische Kontrolle zu erklären sein könnte. Sowohl der dorsale als auch der ventrale Hippokampus könnten nach ACAo eine verstärkte Funktion im Hinblick auf räumliche Navigation eingenommen haben.

Für weitere Areale bestand ein Zusammenhang zwischen einer postoperativen FDG-Erhöhung und der Läsionsgröße. Es waren sowohl Voxelgruppen im dorso-medialen als auch im dorsolateralen Striatum (Caudate-Putamen) positiv mit der Läsionsgröße korreliert. Wie die Verhaltensanalyse im Open Field zeigte, nahm die Laufgeschwindigkeit der ACA-Tiere in Abhängigkeit von der Läsionsgröße postoperativ etwas zu. Da das Caudate-Putamen eine wichtige Funktion im Hinblick auf die Kontrolle von Bewegungen hat (David *et al.*, 2005), könnte die erhöhte FDG-Aktivität darauf zurückzuführen sein. Vor allem über das dorsomediale Striatum werden jedoch auch zielgerichtete Verhaltensweisen reguliert, während dem dorsolateralen Striatum eher die Kontrolle gewohnter Handlungsweisen zugesprochen wird (Balleine & O'Doherty, 2010). Das dorsomediale Striatum erhält bei der Ratte Afferenzen aus verschiedenen kortikalen Arealen wie dem ACC, dem OFC und dem prälimbischen Kortex (Berendse *et al.*, 1992; Schilman *et al.*, 2008). Vor allem das posteriore dorsomediale Striatum scheint in ein Netzwerk integriert zu sein, das für die adäquate Einschätzung einer Stimuluswahl und der entsprechenden Handlungsfolge wichtig ist (Yin *et al.*, 2005). N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptoren im ACC und im dorsomedialen Striatum wird außerdem eine kritische Funktion beim Lernen operanter Konditionierungsaufgaben zugesprochen (McKee *et al.*, 2010). Möglich ist, dass der Korrelationseffekt zwischen der Läsionsgröße und der erhöhten postoperativen Aktivität im dorsolateralen Striatum eher durch eine erhöhte allgemeine Aktivität nach ACAo bedingt ist, während die Aktivität im dorsomedialen Striatum eine verstärkte Kontrolle zielgerichteten Verhaltens widerspiegelt.

In weiteren motivations- und belohnungsrelevanten Arealen außerhalb des ACA-Versorgungsgebiets war die postoperative FDG-Aktivität mit zunehmender Läsionsgröße niedriger. Dies betraf Voxelgruppen in der Substantia nigra pars compacta und verschiedene Kerne der VTA. Da es keinen Korrelationseffekt zwischen

der Anzahl belohnter Durchläufe und der Läsionsgröße gab (nicht gezeigt), kann dieser Aktivitätsunterschied nicht auf die Anzahl an Belohnungen *per se* zurückgeführt werden. Wie auch in Abschnitt 5.2.2 diskutiert, sind auch bei der Ratte verschiedene Areale im präfrontalen Kortex sowohl indirekt als auch direkt an der Regulation der Aktivität dopaminerger Neurone im Mittelhirn beteiligt (Gariano & Groves, 1988; Maurice *et al.*, 1999; Sesack & Carr, 2002). So führt z. B. die Stimulation von Neuronen im prälimbischen Kortex und im ACC zu einer erhöhten „Burstaktivität“ dopaminerger Mittelhirnneurone (Gariano & Groves, 1988). Die dort reduzierte FDG-Aktivität nach ACAo könnte also durch den verringerten Eingang aus dem ACC bedingt sein.

Der postoperative Vergleich zwischen der Messung bei hoher und reduzierter Motivation ergab für die ACA-Gruppe mit kleiner Läsion ein ähnliches Aktivitätsmuster wie präoperativ. Dies unterstützt die Annahme, dass kleine Läsionen im zingulären Kortex nur zu geringen Motivationsbeeinträchtigungen führen. In der ACA-Gruppe mit großer Läsion ergab der Vergleich zwischen den beiden Bedingungen wenige signifikante Effekte. Dies ist vermutlich auf die kleine Gruppengröße zurückzuführen. Obwohl im Mittel keine signifikanten Unterschiede zwischen der prä- und postoperativen Messung nach Vorfütterung bei reduzierter Motivation vorlag, wurde bei manchen Tieren eine erhöhte FDG-Aktivität im Ncl. Accumbens und im OFC beobachtet. Da innerhalb der Gruppen mit unterschiedlicher Läsionsgröße keine signifikanten Unterschiede in Abhängigkeit vom Messzeitpunkt vorlagen, ergab auch der postoperative Vergleich zwischen den beiden Gruppen keinen Unterschied.

Neben dem Vergleich zwischen der prä- und postoperativen Messung bei hoher Motivation innerhalb der ACA-Gruppen, wurden die Tiere mit großer Läsion mit der scheinoperierten Gruppe verglichen. Der Vergleich unterstrich zum einen, dass der laterale OFC und der Ncl. Accumbens nach ACAo eine kompensatorische Funktion übernommen haben könnten. Allerdings zeigte der präoperative Vergleich, dass die FDG-Aktivität weniger Voxel im lateralen OFC vor der Operation in der ACA-Gruppe mit großer Läsion signifikant niedriger war als in der scheinoperierten Gruppe. Nach der Operation war jedoch die metabolische Aktivität in einer deutlich größeren Voxelgruppe in der ACA-Gruppe mit großer Läsion signifikant erhöht. Zusammen mit den bereits diskutierten Ergebnissen der Korrelationsanaly-

se und dem Vergleich innerhalb der ACA-Gruppe mit großer Läsion kann also dennoch von einem kompensatorischen Effekt nach ACAo über den lateralen OFC ausgegangen werden. Post- aber nicht präoperativ ergab der Gruppenvergleich außerdem, dass die FDG-Aktivität in Voxelgruppen im ventralen und dorsalen Hippokampus in der ACA-Gruppe mit großer Läsion höher war als in der scheinoperierten Gruppe. Auch dies wurde bereits diskutiert.

Des Weiteren war die metabolische Aktivität in der ACA-Gruppe mit großer Läsion postoperativ in der Habenula sowie im mediodorsalen Thalamus und in weiteren thalamischen Nuclei wie dem Ncl. centrolateralis, dem Ncl. centromedianus und dem Ncl. lateralis dorsalis höher als in der scheinoperierte Gruppe. Für einige Voxel im mediodorsalen Thalamus und im thalamischen Ncl. lateralis dorsalis bestand dieser Gruppenunterschied schon vor der ACAo. Allerdings war die metabolische Aktivitätsdifferenz zwischen den Gruppen in allen aufgezählten Arealen postoperativ um etwa 5-10 % höher als es präoperativ der Fall war. Erstaunlich ist zunächst, dass dieser Aktivitätsunterschied weder beim Vergleich der prä- und postoperativen Messung der ACA-Gruppe mit großer Läsion signifikant war, noch ein Zusammenhang mit der Läsionsgröße oder der postoperativen Änderung der Motivationsschwelle festgestellt werden konnte. Allerdings zeigte der Vergleich zwischen der prä- und postoperativen Messung, dass die mittlere Aktivitätsdifferenz nach ACAo in dieser Gruppe etwa 5 % höher war als vor der Operation. Dennoch ist anzunehmen, dass der signifikante Unterschied zwischen der scheinoperierten Gruppe und den ACA-Tieren mit großer Läsion zu beiden Testzeitpunkten auch auf einen Gruppenunterschied *per se* zurückzuführen ist. Dies unterstreicht, wie wichtig es ist, Vorher-Nachher Messungen im selben Versuchstier durchzuführen.

Dass der Gruppeneffekt nach der Operation jedoch so viel größer war, deutet daraufhin, dass auch die ACAo zu einer erhöhten metabolischen Aktivität in diesen Arealen geführt hat. Der mediodorsale Thalamus, die Habenula und der thalamische Ncl. centrolateralis wurden bereits präoperativ im Zusammenhang mit der Motivationsschwelle diskutiert (vgl. 5.2.2). Der Thalamus ist sowohl mit den Basalganglien als auch mit dem präfrontalen Kortex über verschiedene Schleifen verbunden (Alexander *et al.*, 1986). Bei der Ratte führen vor allem Läsionen im lateralen Thalamus, zu dem auch der thalamische Ncl. centrolateralis gehört, zu einer

leichten Beeinträchtigung des Arbeitsgedächtnisses (Mitchell & Dalrymple-Alford, 2005). Der mediodorsale Thalamus erhält bei der Ratte Eingang aus verschiedenen frontalen Arealen inklusive dem dorsalen ACC, dem OFC und dem prälimbischen Kortex (Holland & Gallagher, 2004; Gabbott *et al.*, 2005). Eine Interpretationsmöglichkeit ist, dass die erhöhte Aktivität damit zusammenhängt, dass der Eingang aus dem OFC postoperativ erhöht war. Läsionen in beiden Arealen führten zu ähnlichen Beeinträchtigungen bei der Bewertung von Stimuli in einer operanten Konditionierungsaufgabe (Corbit *et al.*, 2003; Ostlund & Balleine, 2007; 2008). Beim Menschen können Läsionen im mediodorsalen Thalamus apathische Symptome bedingen (vgl. Einleitung 1.6), aber auch Beeinträchtigungen verschiedener Exekutivfunktionen (Engelborghs *et al.*, 2000; Van der Werf *et al.*, 2003). Auch bei Ratten scheint die Funktion des mediodorsalen Thalamus komplex zu sein: In der Literatur wird berichtet, dass Läsionen zu einer verringerten Hebeldrückrate führen, aber auch zu unterschiedlichen exekutiven Beeinträchtigungen (Block *et al.*, 2007; Ostlund & Balleine, 2008). Die gleichzeitige Inaktivierung des mediodorsalen Thalamus und des kontralateralen Ncl. Accumbens bedingt zum Beispiel, dass Ratten bei der Verfolgung einer Strategie beeinträchtigt sind, was sich vor allem darin äußerte, dass häufiger auf den Stimulus geantwortet wurde, der nie belohnt wurde (Block *et al.*, 2007). Der mediodorsale Thalamus könnte nach ACAo also eine verstärkte Kontrollfunktion bei der Förderung von zielgerichtetem Verhalten eingenommen haben.

Wie bereits in Abschnitt 7.2 erwähnt stellt die Habenula ebenfalls eine wichtige Struktur des Belohnungssystems dar (Hikosaka, 2010). Es gibt Hinweise darauf, dass über die Habenula verschiedene motivationsassoziierte Stimuli kodiert werden. In einer funktionellen MRT-Studie war die Habenula zusammen mit dem ACC bei negativer, aber nicht bei positiver Feedbackkontrolle aktiv (Ullsperger & von Cramon, 2003). In einer elektrophysiologischen Tierstudie wurde hingegen gezeigt, dass in der Habenula sowohl belohnende als auch aversive Stimuli kodiert werden, aber sich das Antwortmuster in Abhängigkeit vom Wert des Stimulus unterscheidet (Bromberg-Martin *et al.*, 2010a). Aus den Beobachtungen dieser Studie wurde geschlossen, dass die Habenula sowohl den Wert als auch die Auffälligkeit (Salienz) eines Stimulus kodiert (vgl. Einleitung 1.5.3). Die unterschiedliche Aktivität zwischen der ACA-Gruppe mit großer Läsion und der scheinoperierten Gruppe

in der Habenula könnte also mit einer Funktion der Habenula bei der Kodierung von motivationsrelevanten Stimuli zusammenhängen, die postoperativ in der ACA-Gruppe bedingt durch Läsionen im zingulären Kortex zunahm.

### **7.3.3 Dopaminerge Aktivitätsunterschiede (FDOPA-Verhaltens-PET)**

Die Effekte der ACAo wurden außerdem mit FDOPA untersucht. Sowohl im zingulären Kortex (ACC, MCC) als auch im sekundären motorischen Kortex waren einige Voxel postoperativ signifikant erhöht. Wie aus der Betrachtung der Differenzbilder einzelner Tiere deutlich hervorging, betraf dies Voxel, die von der Läsion betroffen waren. Es ist daher davon auszugehen, dass dieser Effekt durch eine Verletzung der Bluthirnschranke bedingt war und das erhöhte PET-Signal vermutlich auf die Einlagerung von ungebundenem  $^{18}\text{F}$  zurückzuführen oder auch aufgenommenes FDA zurückzuführen ist, jedoch keine funktionelle Bedeutung im Hinblick auf das Verhaltensparadigma hat.

Es gab postoperativ keine Aktivitätsreduktionen im Läsionsgebiet. Dies war jedoch vermutlich auch auf die  $^{18}\text{F}$ -Einlagerung zurückzuführen.

Der Vergleich zwischen der prä- und postoperativen Messung bei hoher Motivation ergab keine Effekte, die auf eine kompensatorische Funktion nach ACAo hindeuten könnten. Wie es auch schon präoperativ der Fall war, war aber die FDOPA-Aktivität in der Kernregion des Ncl. Accumbens höher, wenn die Aufgabe mit hoher Motivation durchgeführt wurde. Dies bestätigt die Ergebnisse des präoperativen Verhaltens-PETs. Vor allem linkshemisphärisch war der Unterschied jedoch für deutlich weniger Voxel signifikant. Dies könnte aber auch auf die Gruppengröße zurückzuführen sein. Wie im Material und Methodenteil sowie im Ergebnisteil (vgl. 2.9.4, 6.5.2) erläutert, konnten postoperativ nur sechs, statt zehn Tiere eingeschlossen werden. Beim präoperativen Vergleich zwischen den beiden Bedingungen unter Einschluss dieser sechs Tiere (nicht gezeigt) waren ähnliche Voxelgruppen signifikant wie postoperativ.

In einigen Arealen wie dem somatosensorischen Kortex oder dem Hypothalamus war die FDOPA-Aktivität einiger Voxel signifikant reduziert. Diese Unterschiede sind vermutlich auf Schwankungen zwischen den Messungen zurückzuführen, die z. B. durch unterschiedliches Belohnungsempfinden oder ähnliches bedingt sein

könnten. Außerdem war die FDOPA-Aktivität in der Substantia nigra pars compacta nach ACAo signifikant geringer als vor der Operation. Wie die Ergebnisse des FDG-Verhaltens-PET zeigten, ergab der Vergleich der gleichen Verhaltens-PET-Bedingungen in dieser Voxelgruppe auch einen metabolischen Aktivitätsunterschied. Wie auch schon im vorherigen Abschnitt diskutiert, könnte diese Reduktion durch einen verringerten Input aus dem ACC bedingt sein (vgl. 7.2).

Die Korrelationsanalyse mit der Läsionsgröße deutet jedoch auch auf kompensatorische Dopaminaktivität nach ACAo hin. Unter anderem ging ein erhöhtes FDOPA-Signal im infralimbischen Kortex mit der größeren Läsion einher. Die Betrachtung der Differenzbilder einzelner Tiere ergab jedoch, dass dieser Effekt sich unmittelbar an die einstrahlende  $^{18}\text{F}$ -Einlagerung anschloss. Es ist daher nicht auszuschließen, dass dieser Effekt ebenfalls auf eine Verletzung der Bluthirnschranke zurückzuführen ist.

In Abhängigkeit von der Läsionsgröße war außerdem die FDOPA-Aktivität einiger Voxel im ventralen und dorsalen Hippokampus erhöht. Wie auch schon in Bezug auf die postoperative Aktivitätserhöhung im FDG-PET erläutert, könnte der Hippokampus postoperativ eine verstärkte inhibitorische Kontrolle eingenommen haben. Das erhöhte Dopaminsignal im infralimbischen Kortex und im Hippokampus könnte jedoch auch unmittelbar zusammenhängen: In beiden Arealen wird Dopamin eine kritische Funktion im Hinblick auf räumliche Navigation zugesprochen (Ito & Canselier, 2010; Hayen *et al.*, 2014). Ähnlich wie auch andere Areale im medialen PFC (vgl. Einleitung 1.4) integriert der infralimbische Kortex jedoch auch verhaltensrelevante Informationen und kontrolliert damit zielgerichtetes Verhalten (Vertes, 2006; Haddon & Killcross, 2011). Dabei wird Dopamin als kritischer Neurotransmitter angenommen (Hitchcott *et al.*, 2007; Tsutsui-Kimura *et al.*, 2013). Möglich ist also, dass das FDOPA-Signal im infralimbischen Kortex vor allem bei den Tieren mit größerer Läsion erhöht war, weil dieses Areal nach ACAo eine kompensatorische Funktion eingenommen hat.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass auch die postoperativen FDOPA-Verhaltens-PET Ergebnisse darauf hindeuten, dass Dopamin in Arealen außerhalb des Läsionsgebiets eine verstärkte Funktion eingenommen hat. Dass diese Effekte jedoch eher durch die Korrelationsanalyse nachgewiesen werden konnten und

beim Vergleich zwischen der prä- und postoperativen Messung bei hoher Motivation nicht deutlich wurden, liegt wahrscheinlich an der kleinen Stichprobe. Hinzu kommt, dass nur drei der Tiere, die in diesen Vergleich eingeschlossen wurden, eine große Läsion hatten. Zur vereinfachten Interpretation der postoperativen Verhaltens-PET Daten wäre daher eine größere Stichprobe notwendig.

### **7.4 Fazit**

In der longitudinalen Schlaganfallstudie konnten motivationale Beeinträchtigungen nach ACAo nachgewiesen werden. Vor allem eine Woche postoperativ waren die ACA-Tiere mit größerer Läsion weniger motiviert, die Wartezeit einzuhalten. Außerdem verlängerten sich die Reaktionszeiten an der Nosepoke-Einheit. Wie anhand weiterer Testungen im Open Field, der erhöhten Plus-Arena und dem Cat Walk deutlich wurde, waren diese Defizite nicht motorisch bedingt. Allerdings kann auch eine erhöhte Impulsivität sowie eine allgemeine Beeinträchtigung zielgerichteten Verhaltens zum verminderten Erfolg an der Nosepoke-Einheit beigetragen haben. Zu den späteren Testzeitpunkten näherte sich das Motivationsverhalten dann wieder dem präoperativen Level an. Die Verhaltens-PET-Ergebnisse lassen vermuten, dass diese Besserung durch die kompensatorische Aktivität anderer Areale nach ACAo erreicht wurde. In diesem Zusammenhang wurde vor allem eine Funktion des Ncl. Accumbens, des OFC und des Hippokampus in Betracht gezogen.

## 8 Abschließende Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde Verhaltens-PET erstmals mit FDOPA kombiniert. Vor und nach ACAo wurden sowohl mit FDG als auch mit FDOPA motivations- und belohnungsassoziierte Areale mittels PET detektiert. Im unbehandelten Versuchstier führten die beiden Radiopharmaka teilweise während der Motivationsaufgabe zu gegenteiligen Aktivitätsmustern. Während die metabolische Aktivität im Ncl. Accumbens bei hoher Motivation reduziert war, war die FDOPA-Aktivität erhöht. Dies unterstreicht die Komplexität des Motivations- und Belohnungssystems einerseits. Andererseits zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Studie aber auch, dass eine reduzierte metabolische Antwort im FDG-PET in dopaminreichen Arealen wie dem Ncl. Accumbens auch mit einer erhöhten Gesamtdopaminaktivität einhergehen kann. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie lassen annehmen, dass das erhöhte FDOPA-Signal vor allem durch D<sub>2</sub>-Rezeptoraktivität bedingt war. Eine Möglichkeit, dies mittels Verhaltens-PET weiter zu überprüfen, wäre die Motivationsaufgabe in Kombination mit anderen Radiopharmaka wie <sup>11</sup>C-Raclopride oder <sup>18</sup>F-Fallypride durchzuführen. Beide agieren als D<sub>2</sub>-Rezeptorantagonisten und <sup>11</sup>C-Raclopride wurde auch schon als Verhaltens-PET Radiopharmakon bei Ratten eingesetzt (Patel *et al.*, 2008).

Des Weiteren wurde in dieser Arbeit ein Verhaltensparadigma etabliert, mit dem Motivationsverhalten bei Ratten untersucht werden kann. Über die Bestimmung der Motivationsschwelle kann der aufgebrachte Arbeitsaufwand des Tiers und die Motivation gut eingeschätzt werden. Dieser Versuchsaufbau könnte sich auch für andere Tiermodelle eignen. Wie eingangs erläutert gehen auch andere Störungsbilder wie Parkinson oder Schizophrenie mit apathieähnlichen Symptomen einher (Marin, 1990; Levy & Dubois, 2006; Kirkpatrick, 2014). Verhaltensparadigmen zur Untersuchung von Motivation im Tiermodell sind aber immer noch rar (Martinowich *et al.*, 2012).

In der longitudinalen Schlaganfallstudie konnte mit diesem Verhaltensparadigma ein direkter Zusammenhang zwischen dem beeinträchtigten Motivationsverhalten nach ACAo und der Läsionsgröße hergestellt werden. Somit wurden in dieser Arbeit apathieähnliche Beeinträchtigungen nach ACAo nachgewiesen. Dies steht im

Einklang mit vorherigen ACA-Modell Studien, in denen bereits eine Reduktion zielgerichteten Verhaltens beobachtet wurde (Cordova *et al.*, 2014; Endepols *et al.*, 2014). Die verminderte Motivation ging aber vermutlich auch in der vorliegenden Arbeit mit einer verringerten Handlungsinitiierung und Aufmerksamkeitskontrolle einher. Wie beim Menschen auch lassen sich diese Prozesse, die zur Kontrolle von Motivationsverhalten wichtig sind, schlecht voneinander trennen (Levy & Dubois, 2006; Holroyd & Yeung, 2012). Deutlich wurde in dieser Arbeit auch, dass die Effekte nach ACAo mit der Läsionsgröße zusammenhängen. Die Auswirkungen einer ACAo mit Endothelin scheinen auch vom Rattenstamm abzuhängen. Die kleinen Läsionen einiger Tiere bedingten vermutlich, dass die Defizite teilweise geringer ausfielen als erwartet. Allerdings waren die Läsionen hauptsächlich im zingulären Kortex lokalisiert, was die Interpretation im Hinblick auf Motivationsdefizite erleichterte. Der Vergleich mit vorherigen ACA-Studien, in denen die Läsionen deutlich größer ausfielen, war allerdings schwierig. Hinzu kommt, dass in vorherigen Studien meist nur ein postoperativer Testzeitpunkt gewählt wurde (Ward *et al.*, 1998; Cordova *et al.*, 2014). Wie in dieser Arbeit aber deutlich gezeigt wurde, hängen die Effekte einer ACAo auch stark vom Messzeitpunkt ab. Von einer Besserung apathischer Symptome wird auch bei ACA-Patienten berichtet (Kumral *et al.*, 2002; Arboix *et al.*, 2009).

Mittels FDG-PET wurde postoperativ die reduzierte Motivationsschwelle nach ACAo mit einer Abnahme der metabolischen Aktivität im ACC in Verbindung gebracht. Dies steht im Einklang mit der Literatur und bestätigt eine zentrale Funktion des ACCs bei der Regulation von Motivationsverhalten (Walton *et al.*, 2003; Holroyd & Yeung, 2012). Nach ACAo war die metabolische Aktivität in Strukturen, die ebenfalls an der Regulation von Motivation und der Förderung zielgerichteten Verhaltens beteiligt sind erhöht, was eine kompensatorische Funktion über Areale außerhalb des Läsionsgebiets annehmen lässt. Dies betraf den Ncl. Accumbens und den OFC. Im FDOPA-PET wurde auch der infralimbische Kortex mit einer solchen Rolle nach ACAo in Verbindung gebracht. Gleichzeitig erhöhte sich aber auch die FDG-Aktivität in Arealen wie dem Hippokampus, dem Caudate Putamen oder der Habenula. Dies war vermutlich eher auf Prozesse wie Inhibitionskontrolle und Fehlerkodierung zurückzuführen. Auch in diese Prozesse ist der zinguläre Kortex involviert.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in dieser Arbeit zum einen gezeigt wurde, dass sich das Rattenmodell zur Untersuchung von Motivationsverhalten eignet. Zum anderen stellte sich Verhaltens-PET, einhergehend mit vorherigen Studien, als geeignete Methode zur Identifizierung relevanter Hirnstrukturen im unbehandelten Versuchstier heraus (Endepols *et al.*, 2014; Rohleder *et al.*, 2014). Weiterhin eignet sich diese Methode auch, um kompensatorische Aktivität im pathologischen Tiermodell zu identifizieren.



## 9 Literaturverzeichnis

- Abela, A.R., Dougherty, S.D., Fagen, E.D., Hill, C.J. & Chudasama, Y. (2013) Inhibitory control deficits in rats with ventral hippocampal lesions. *Cereb Cortex*, 23, 1396-1409.
- Agmo, A. & Gomez, M. (1991) Conditioned place preference produced by infusion of Met-enkephalin into the medial preoptic area. *Brain Res*, 550, 343-346.
- Alexander, G.E., DeLong, M.R. & Strick, P.L. (1986) Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci*, 9, 357-381.
- Alexopoulos, G.S., Hoptman, M.J., Yuen, G., Kanellopoulos, D., Seirup, J.K., Lim, K.O. & Gunning, F.M. (2013) Functional connectivity in apathy of late-life depression: a preliminary study. *J Affect Disord*, 149, 398-405.
- Amiez, C., Joseph, J.P. & Procyk, E. (2006) Reward encoding in the monkey anterior cingulate cortex. *Cereb Cortex*, 16, 1040-1055.
- Anderberg, R.H., Anefors, C., Bergquist, F., Nissbrandt, H. & Skibicka, K.P. (2014) Dopamine signaling in the amygdala, increased by food ingestion and GLP-1, regulates feeding behavior. *Physiol Behav*.
- Andrew, J. & Nathan, P.W. (1964) Lesions on the Anterior Frontal Lobes and Disturbances of Micturition and Defaecation. *Brain*, 87, 233-262.
- Antle, M.C. & Mistelberger, R.E. (2005) Circadian Rhythms In: Wishaw, I.Q., Kolb, B. (eds) *The behavior of the laborator rat. A handbook with tests*. Oxford University Press, S. 183-194.
- Arboix, A., Garcia-Eroles, L., Sellares, N., Raga, A., Oliveres, M. & Massons, J. (2009) Infarction in the territory of the anterior cerebral artery: clinical study of 51 patients. *BMC Neurol*, 9, 30.
- Archer, J. (1973) Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Anim Behav*, 21, 205-235.
- Astrup, J., Siesjo, B.K. & Symon, L. (1981) Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. *Stroke*, 12, 723-725.
- Attwell, D., Buchan, A.M., Charkpak, S., Lauritzen, M., Macvicar, B.A. & Newman, E.A. (2010) Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature*, 468, 232-243.
- Baik, J.H. (2013) Dopamine signaling in reward-related behaviors. *Frontiers in neural circuits*, 7, 152.
- Bailey, K.R. & Mair, R.G. (2004) Dissociable effects of frontal cortical lesions on measures of visuospatial attention and spatial working memory in the rat. *Cereb Cortex*, 14, 974-985.
- Baird, A.E. & Warach, S. (1998) Magnetic resonance imaging of acute stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*, 18, 583-609.
- Balleine, B.W. & Dickinson, A. (1998) The role of incentive learning in instrumental outcome revaluation by sensory-specific satiety. *Anim Learn Behav*, 26, 46-59.

- Balleine, B.W. & O'Doherty, J.P. (2010) Human and rodent homologies in action control: corticostriatal determinants of goal-directed and habitual action. *Neuropsychopharmacology*, 35, 48-69.
- Bari, A. & Robbins, T.W. (2013) Inhibition and impulsivity: behavioral and neural basis of response control. *Prog Neurobiol*, 108, 44-79.
- Bear, M.F., Connors, B.W. & Paradiso, M.A. (2009) Motivation. In: Bear M. F., Connors, B.W., Paradiso, M.A. (eds) *Neurowissenschaften*. Spektrum, Heidelberg, S. 569-594.
- Beaulieu, J.M. & Gainetdinov, R.R. (2011) The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev*, 63, 182-217.
- Beauregard, M., Levesque, J. & Bourgouin, P. (2001) Neural correlates of conscious self-regulation of emotion. *J Neurosci*, 21, RC165.
- Benoit, M. & Robert, P.H. (2011) Imaging correlates of apathy and depression in Parkinson's disease. *J Neurol Sci*, 310, 58-60.
- Bentivoglio, M. & Morelli, M. (2005) The organization and circuits of mesencephalic dopaminergic neurons and the distribution of dopamine receptors in the brain In: Björklund, A., Hökfelt, T. (eds) *Handbook of chemical neuroanatomy "Dopamine"*. Elsevier, Aufl. 21, Amsterdam, S. 1-107.
- Berendse, H.W., Galis-de Graaf, Y. & Groenewegen, H.J. (1992) Topographical organization and relationship with ventral striatal compartments of prefrontal corticostriatal projections in the rat. *J Comp Neurol*, 316, 314-347.
- Berger, B., Doucet, G. & Descarries, L. (1988) Density of the dopamine innervation in rat cerebral cortex after neonatal 6-hydroxydopamine or adult stage DSP-4 noradrenaline denervations: a quantitative radioautographic study. *Brain Res*, 441, 260-268.
- Berridge, K.C. (1996) Food reward: brain substrates of wanting and liking. *Neurosci Biobehav Rev*, 20, 1-25.
- Bird, C.M., Castelli, F., Malik, O., Frith, U. & Husain, M. (2004) The impact of extensive medial frontal lobe damage on 'Theory of Mind' and cognition. *Brain*, 127, 914-928.
- Birrell, J.M. & Brown, V.J. (2000) Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat. *J Neurosci*, 20, 4320-4324.
- Bland, J.M. & Altman, D.G. (2009) Analysis of continuous data from small samples. *BMJ*, 338, a3166.
- Block, A.E., Dhanji, H., Thompson-Tardif, S.F. & Floresco, S.B. (2007) Thalamic-prefrontal cortical-ventral striatal circuitry mediates dissociable components of strategy set shifting. *Cereb Cortex*, 17, 1625-1636.
- Bonelli, R.M. & Cummings, J.L. (2007) Frontal-subcortical circuitry and behavior. *Dialogues in clinical neuroscience*, 9, 141-151.

- Bonnin, P., Leger, P.L., Deroide, N., Fau, S., Baud, O., Pocard, M., Charriaut-Marlangue, C. & Renolleau, S. (2011) Impact of intracranial blood-flow redistribution on stroke size during ischemia-reperfusion in 7-day-old rats. *J Neurosci Methods*, 198, 103-109.
- Borg, E. (1982) Auditory thresholds in rats of different age and strain. A behavioral and electrophysiological study. *Hear Res*, 8, 101-115.
- Botvinick, M., Nystrom, L.E., Fissell, K., Carter, C.S. & Cohen, J.D. (1999) Conflict monitoring versus selection-for-action in anterior cingulate cortex. *Nature*, 402, 179-181.
- Bouhaddi, M., Vuillier, F., Fortrat, J.O., Cappelle, S., Henriot, M.T., Rumbach, L. & Regnard, J. (2004) Impaired cardiovascular autonomic control in newly and long-term-treated patients with Parkinson's disease: involvement of L-dopa therapy. *Auton Neurosci*, 116, 30-38.
- Bousser, M.G. (2012) Stroke prevention: an update. *Frontiers of medicine*, 6, 22-34.
- Broersen, L.M. & Uylings, H.B. (1999) Visual attention task performance in Wistar and Lister hooded rats: response inhibition deficits after medial prefrontal cortex lesions. *Neuroscience*, 94, 47-57.
- Bromberg-Martin, E.S., Matsumoto, M. & Hikosaka, O. (2010a) Distinct tonic and phasic anticipatory activity in lateral habenula and dopamine neurons. *Neuron*, 67, 144-155.
- Bromberg-Martin, E.S., Matsumoto, M. & Hikosaka, O. (2010b) Dopamine in motivational control: rewarding, aversive, and alerting. *Neuron*, 68, 815-834.
- Brooks, A.M. & Berns, G.S. (2013) Aversive stimuli and loss in the mesocorticolimbic dopamine system. *Trends Cogn Sci*, 17, 281-286.
- Brown, C.A., Campbell, M.C., Karimi, M., Tabbal, S.D., Loftin, S.K., Tian, L.L., Moerlein, S.M. & Perlmuter, J.S. (2012) Dopamine pathway loss in nucleus accumbens and ventral tegmental area predicts apathetic behavior in MPTP-lesioned monkeys. *Exp Neurol*, 236, 190-197.
- Brown, D.C., 2nd, Nichols, J.A., Thomas, F., Dinh, L. & Atzori, M. (2010) Nicotinic modulation of auditory attentional shift in the rat. *Behav Brain Res*, 210, 273-279.
- Brown, J.O. (1966) The morphology of circulus arteriosus cerebri in rats. *The Anatomical record*, 156, 99-106.
- Bruen, P.D., McGeown, W.J., Shanks, M.F. & Venneri, A. (2008) Neuroanatomical correlates of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *Brain*, 131, 2455-2463.
- Brust, J.C. (2000) Circulation of the brain. In: Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M. (eds) *Principles of neural science*. McGraw-Hill, New York, S. 1302-1319.
- Brust, J.C., Sawada, T. & Kazui, S. (2001) Anterior cerebral artery. In: Bogousslavski, J. (ed) *Stroke Syndromes*. Cambridge University Press, Cambridge, S. 439-450.

- Buchan, A., Balami, J.S. & Arba, F. (2012) Epidemiology of Stroke Prevention and Urgency of Treatment. In: Spence D., B.H.J. (ed) *Stroke Prevention* Mc Graw Hill Medical, New York S. 3-21.
- Burgdorf, J. & Panksepp, J. (2006) The neurobiology of positive emotions. *Neurosci Biobehav Rev*, 30, 173-187.
- Buzsaki, G. & Moser, E.I. (2013) Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nat Neurosci*, 16, 130-138.
- Cardinal, R.N., Parkinson, J.A., Hall, J. & Everitt, B.J. (2002) Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci Biobehav Rev*, 26, 321-352.
- Carlsson, M.A. & Swedberg, M.D. (2010) A behavioural operant discrimination model for assessment and pharmacological manipulation of visual function in rats. *Brain Res*, 1321, 78-87.
- Chan, G.L., Doudet, D.J., Dobko, T., Hewitt, K.A., Schofield, P., Pate, B.D. & Ruth, T.J. (1995) Routes of administration and effect of carbidopa pretreatment on 6-[<sup>18</sup>F]fluoro-L-dopa/PET scans in non-human primates. *Life Sci*, 56, 1759-1766.
- Cheung, T.H. & Cardinal, R.N. (2005) Hippocampal lesions facilitate instrumental learning with delayed reinforcement but induce impulsive choice in rats. *BMC Neurosci*, 6, 36.
- Christoph, G.R., Leonzio, R.J. & Wilcox, K.S. (1986) Stimulation of the lateral habenula inhibits dopamine-containing neurons in the substantia nigra and ventral tegmental area of the rat. *J Neurosci*, 6, 613-619.
- Chuang, Y.M., Liu, C.Y., Pan, P.J. & Lin, C.P. (2007) Anterior cerebral artery A1 segment hypoplasia may contribute to A1 hypoplasia syndrome. *Eur Neurol*, 57, 208-211.
- Ciliax, B.J., Heilman, C., Demchyshyn, L.L., Pristupa, Z.B., Ince, E., Hersch, S.M., Niznik, H.B. & Levey, A.I. (1995) The dopamine transporter: immunochemical characterization and localization in brain. *J Neurosci*, 15, 1714-1723.
- Cohen, M.X. & Frank, M.J. (2009) Neurocomputational models of basal ganglia function in learning, memory and choice. *Behav Brain Res*, 199, 141-156.
- Corbit, L.H., Muir, J.L. & Balleine, B.W. (2003) Lesions of mediodorsal thalamus and anterior thalamic nuclei produce dissociable effects on instrumental conditioning in rats. *Eur J Neurosci*, 18, 1286-1294.
- Cordova, C.A., Jackson, D., Langdon, K.D., Hewlett, K.A. & Corbett, D. (2014) Impaired executive function following ischemic stroke in the rat medial prefrontal cortex. *Behav Brain Res*, 258, 106-111.
- Courtiere, A., Hardouin, J., Burle, B., Vidal, F. & Hasbroucq, T. (2007) Simon effect in the rat: a new model for studying the neural bases of the dual-route architecture. *Behav Brain Res*, 179, 69-75.
- Dalley, J.W., Cardinal, R.N. & Robbins, T.W. (2004) Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neurosci Biobehav Rev*, 28, 771-784.

- Damasio, A.R., Grabowski, T.J., Bechara, A., Damasio, H., Ponto, L.L., Parvizi, J. & Hichwa, R.D. (2000) Subcortical and cortical brain activity during the feeling of self-generated emotions. *Nat Neurosci*, 3, 1049-1056.
- Damasio, A.R. & Hoesen, G.W. (1983) Emotional disturbances associated with focal lesions of the limbic frontal lobe. In: Heilmann, K.M., Satz, P. (eds) *Neuropsychology of human emotion*. The Guilford Press, New York, S. 85-110.
- David, H.N., Ansseau, M. & Abbraini, J.H. (2005) Dopamine-glutamate reciprocal modulation of release and motor responses in the rat caudate-putamen and nucleus accumbens of "intact" animals. *Brain Res Brain Res Rev*, 50, 336-360.
- Deep, P., Gjedde, A. & Cumming, P. (1997) On the accuracy of an [18F]FDOPA compartmental model: evidence for vesicular storage of [18F]fluorodopamine in vivo. *J Neurosci Methods*, 76, 157-165.
- DeJesus, O.T., Haaparanta, M., Solin, O. & Nickles, R.J. (2000) 6-fluoroDOPA metabolism in rat striatum: time course of extracellular metabolites. *Brain Res*, 877, 31-36.
- del Zoppo, G.J., Milner, R., Mabuchi, T., Hung, S., Wang, X., Berg, G.I. & Koziol, J.A. (2007) Microglial activation and matrix protease generation during focal cerebral ischemia. *Stroke*, 38, 646-651.
- Di Chiara, G. (2002) Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction. *Behav Brain Res*, 137, 75-114.
- Dijkhuizen, R.M. & Nicolay, K. (2003) Magnetic resonance imaging in experimental models of brain disorders. *J Cereb Blood Flow Metab*, 23, 1383-1402.
- Dirnagl, U., Iadecola, C. & Moskowitz, M.A. (1999) Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci*, 22, 391-397.
- Doege, C.A. & Abeliovich, A. (2014) Dementia in a Dish. *Biol Psychiatry*, 75, 558-564.
- Dolan, R.J., Fletcher, P., Morris, J., Kapur, N., Deakin, J.F. & Frith, C.D. (1996) Neural activation during covert processing of positive emotional facial expressions. *Neuroimage*, 4, 194-200.
- Dosenbach, N.U., Visscher, K.M., Palmer, E.D., Miezin, F.M., Wenger, K.K., Kang, H.C., Burgund, E.D., Grimes, A.L., Schlaggar, B.L. & Petersen, S.E. (2006) A core system for the implementation of task sets. *Neuron*, 50, 799-812.
- Dowd, E. & Dunnett, S.B. (2005) Comparison of 6-hydroxydopamine-induced medial forebrain bundle and nigrostriatal terminal lesions in a lateralised nose-poking task in rats. *Behav Brain Res*, 159, 153-161.
- Doyle, K.P., Simon, R.P. & Stenzel-Poore, M.P. (2008) Mechanisms of ischemic brain damage. *Neuropharmacology*, 55, 310-318.
- Dunker, R.O. & Harris, A.B. (1976) Surgical anatomy of the proximal anterior cerebral artery. *J Neurosurg*, 44, 359-367.
- Eichenbaum, H. (2000) A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nat Rev Neurosci*, 1, 41-50.

- Eilam, D. & Golani, I. (1989) Home base behavior of rats (*Rattus norvegicus*) exploring a novel environment. *Behav Brain Res*, 34, 199-211.
- Endepols, H., Mertgens, H., Backes, H., Himmelreich, U., Graf, R. & Mies, G. (2014) Longitudinal assessment of behavior, brain metabolism and infarct progression following anterior cerebral artery occlusion in rats. *Manuskript in Vorbereitung*.
- Endepols, H., Sommer, S., Backes, H., Wiedermann, D., Graf, R. & Hauber, W. (2010) Effort-based decision making in the rat: an [18F]fluorodeoxyglucose micro positron emission tomography study. *J Neurosci*, 30, 9708-9714.
- Engelborghs, S., Marien, P., Pickut, B.A., Verstraeten, S. & De Deyn, P.P. (2000) Loss of psychic self-activation after paramedian bithalamic infarction. *Stroke*, 31, 1762-1765.
- Fernando, A.B., Murray, J.E. & Milton, A.L. (2013) The amygdala: securing pleasure and avoiding pain. *Front Behav Neurosci*, 7, 190.
- Field, A. (2009) *Discovering Statistics using SPSS*. SAGE Publications Ltd., Singapur.
- Figley, C.R. & Stroman, P.W. (2011) The role(s) of astrocytes and astrocyte activity in neurometabolism, neurovascular coupling, and the production of functional neuroimaging signals. *Eur J Neurosci*, 33, 577-588.
- Fisher, M. & Bastan, B. (2012) Identifying and utilizing the ischemic penumbra. *Neurology*, 79, S79-85.
- Floresco, S.B., Block, A.E. & Tse, M.T. (2008a) Inactivation of the medial prefrontal cortex of the rat impairs strategy set-shifting, but not reversal learning, using a novel, automated procedure. *Behav Brain Res*, 190, 85-96.
- Floresco, S.B. & Ghods-Sharifi, S. (2007) Amygdala-prefrontal cortical circuitry regulates effort-based decision making. *Cereb Cortex*, 17, 251-260.
- Floresco, S.B., Ghods-Sharifi, S., Vexelman, C. & Magyar, O. (2006) Dissociable roles for the nucleus accumbens core and shell in regulating set shifting. *J Neurosci*, 26, 2449-2457.
- Floresco, S.B., Tse, M.T. & Ghods-Sharifi, S. (2008b) Dopaminergic and glutamatergic regulation of effort- and delay-based decision making. *Neuropsychopharmacology*, 33, 1966-1979.
- Foster, D.J. & Knierim, J.J. (2012) Sequence learning and the role of the hippocampus in rodent navigation. *Curr Opin Neurobiol*, 22, 294-300.
- Freeman, A.S. & Bunney, B.S. (1987) Activity of A9 and A10 dopaminergic neurons in unrestrained rats: further characterization and effects of apomorphine and cholecystokinin. *Brain Res*, 405, 46-55.
- Fuster, J.M. (2001) The prefrontal cortex--an update: time is of the essence. *Neuron*, 30, 319-333.
- Gabbott, P.L., Warner, T.A., Jays, P.R., Salway, P. & Busby, S.J. (2005) Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *J Comp Neurol*, 492, 145-177.
- Gacs, G., Fox, A.J., Barnett, H.J. & Vinuela, F. (1983) Occurrence and mechanisms of occlusion of the anterior cerebral artery. *Stroke*, 14, 952-959.

- Gallagher, M., McMahan, R.W. & Schoenbaum, G. (1999) Orbitofrontal cortex and representation of incentive value in associative learning. *J Neurosci*, 19, 6610-6614.
- Gariano, R.F. & Groves, P.M. (1988) Burst firing induced in midbrain dopamine neurons by stimulation of the medial prefrontal and anterior cingulate cortices. *Brain Res*, 462, 194-198.
- Garris, P.A. & Wightman, R.M. (1994) Different kinetics govern dopaminergic transmission in the amygdala, prefrontal cortex, and striatum: an in vivo voltammetric study. *J Neurosci*, 14, 442-450.
- Gehring, W.J., Goss, B., Coles, M.G.H., Meyer, D.E. & Donchin, E. (1993) A Neural System for Error-Detection and Compensation. *Psychological Science*, 4, 385-390.
- Gehring, W.J. & Willoughby, A.R. (2002) The medial frontal cortex and the rapid processing of monetary gains and losses. *Science*, 295, 2279-2282.
- Ghandehari, K. & Izadi-Mood, Z. (2007) Khorasan stroke registry: analysis of 1392 stroke patients. *Arch Iran Med*, 10, 327-334.
- Ghods-Sharifi, S. & Floresco, S.B. (2010) Differential effects on effort discounting induced by inactivations of the nucleus accumbens core or shell. *Behav Neurosci*, 124, 179-191.
- Ghods-Sharifi, S., Haluk, D.M. & Floresco, S.B. (2008) Differential effects of inactivation of the orbitofrontal cortex on strategy set-shifting and reversal learning. *Neurobiol Learn Mem*, 89, 567-573.
- Gottfried, J.A., O'Doherty, J. & Dolan, R.J. (2002) Appetitive and aversive olfactory learning in humans studied using event-related functional magnetic resonance imaging. *J Neurosci*, 22, 10829-10837.
- Grace, A.A. & Bunney, B.S. (1984a) The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: burst firing. *J Neurosci*, 4, 2877-2890.
- Grace, A.A. & Bunney, B.S. (1984b) The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: single spike firing. *J Neurosci*, 4, 2866-2876.
- Grace, A.A., Floresco, S.B., Goto, Y. & Lodge, D.J. (2007) Regulation of firing of dopaminergic neurons and control of goal-directed behaviors. *Trends Neurosci*, 30, 220-227.
- Haber, S.N. & Knutson, B. (2010) The reward circuit: linking primate anatomy and human imaging. *Neuropsychopharmacology*, 35, 4-26.
- Hacke, W., Donnan, G., Fieschi, C., Kaste, M., von Kummer, R., Broderick, J.P., Brott, T., Frankel, M., Grotta, J.C., Haley, E.C., Jr., Kwiatkowski, T., Levine, S.R., Lewandowski, C., Lu, M., Lyden, P., Marler, J.R., Patel, S., Tilley, B.C., Albers, G., Bluhmki, E., Wilhelm, M., Hamilton, S., Investigators, A.T., Investigators, E.T. & Investigators, N.r.-P.S.G. (2004) Association of outcome with early stroke treatment: pooled analysis of ATLANTIS, ECASS, and NINDS rt-PA stroke trials. *Lancet*, 363, 768-774.

- Hacke, W., Kaste, M., Fieschi, C., von Kummer, R., Davalos, A., Meier, D., Larrue, V., Bluhmki, E., Davis, S., Donnan, G., Schneider, D., Diez-Tejedor, E. & Trouillas, P. (1998) Randomised double-blind placebo-controlled trial of thrombolytic therapy with intravenous alteplase in acute ischaemic stroke (ECASS II). Second European-Australasian Acute Stroke Study Investigators. *Lancet*, 352, 1245-1251.
- Haddon, J.E. & Killcross, S. (2011) Inactivation of the infralimbic prefrontal cortex in rats reduces the influence of inappropriate habitual responding in a response-conflict task. *Neuroscience*, 199, 205-212.
- Hadland, K.A., Rushworth, M.F., Gaffan, D. & Passingham, R.E. (2003) The effect of cingulate lesions on social behaviour and emotion. *Neuropsychologia*, 41, 919-931.
- Haluk, D.M. & Floresco, S.B. (2009) Ventral striatal dopamine modulation of different forms of behavioral flexibility. *Neuropsychopharmacology*, 34, 2041-2052.
- Hamann, M., Rossi, D.J., Mohr, C., Andrade, A.L. & Attwell, D. (2005) The electrical response of cerebellar Purkinje neurons to simulated ischaemia. *Brain*, 128, 2408-2420.
- Hamann, S.B., Ely, T.D., Hoffman, J.M. & Kilts, C.D. (2002) Ecstasy and agony: activation of the human amygdala in positive and negative emotion. *Psychol Sci*, 13, 135-141.
- Hayen, A., Meese-Tamuri, S., Gates, A. & Ito, R. (2014) Opposing roles of prelimbic and infralimbic dopamine in conditioned cue and place preference. *Psychopharmacology (Berl)*.
- Heiss, W.D. (2012) The ischemic penumbra: how does tissue injury evolve? *Ann N Y Acad Sci*, 1268, 26-34.
- Herz, R.C., Jonker, M., Verheul, H.B., Hillen, B., Versteeg, D.H. & de Wildt, D.J. (1996) Middle cerebral artery occlusion in Wistar and Fischer-344 rats: functional and morphological assessment of the model. *J Cereb Blood Flow Metab*, 16, 296-302.
- Hikosaka, O. (2010) The habenula: from stress evasion to value-based decision-making. *Nat Rev Neurosci*, 11, 503-513.
- Hillman, K.L. & Bilkey, D.K. (2012) Neural encoding of competitive effort in the anterior cingulate cortex. *Nat Neurosci*, 15, 1290-1297.
- Hitchcott, P.K., Quinn, J.J. & Taylor, J.R. (2007) Bidirectional modulation of goal-directed actions by prefrontal cortical dopamine. *Cereb Cortex*, 17, 2820-2827.
- Höfener, E. (2010) Kognitive Defizite und deren Kompensation nach Blockade der anterioren Zerebalarterie bei Ratten (*Rattus norvegicus*): Eine metabolische VerhaltensPET Studie. Masterarbeit, eingereicht an der Universität zu Köln.
- Holland, P.C. & Gallagher, M. (2004) Amygdala-frontal interactions and reward expectancy. *Curr Opin Neurobiol*, 14, 148-155.

- Holroyd, C.B. & Coles, M.G. (2002) The neural basis of human error processing: reinforcement learning, dopamine, and the error-related negativity. *Psychol Rev*, 109, 679-709.
- Holroyd, C.B., Dien, J. & Coles, M.G. (1998) Error-related scalp potentials elicited by hand and foot movements: evidence for an output-independent error-processing system in humans. *Neurosci Lett*, 242, 65-68.
- Holroyd, C.B. & Yeung, N. (2012) Motivation of extended behaviors by anterior cingulate cortex. *Trends Cogn Sci*, 16, 122-128.
- Hosking, J.G., Cocker, P.J. & Winstanley, C.A. (2014) Dissociable contributions of anterior cingulate cortex and basolateral amygdala on a rodent cost/benefit decision-making task of cognitive effort. *Neuropsychopharmacology*.
- Howells, D.W., Porritt, M.J., Rewell, S.S., O'Collins, V., Sena, E.S., van der Worp, H.B., Traystman, R.J. & Macleod, M.R. (2010) Different strokes for different folks: the rich diversity of animal models of focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*, 30, 1412-1431.
- Hyland, B.I., Reynolds, J.N., Hay, J., Perk, C.G. & Miller, R. (2002) Firing modes of midbrain dopamine cells in the freely moving rat. *Neuroscience*, 114, 475-492.
- Iadecola, C. & Anrather, J. (2011) The immunology of stroke: from mechanisms to translation. *Nat Med*, 17, 796-808.
- Ikemoto, S. (2007) Dopamine reward circuitry: two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex. *Brain Res Rev*, 56, 27-78.
- Ito, R. & Canselier, M. (2010) Amphetamine exposure selectively enhances hippocampus-dependent spatial learning and attenuates amygdala-dependent cue learning. *Neuropsychopharmacology*, 35, 1440-1452.
- Jacobs, G.H., Fenwick, J.A. & Williams, G.A. (2001) Cone-based vision of rats for ultraviolet and visible lights. *J Exp Biol*, 204, 2439-2446.
- Ji, H.F. & Shepard, P.D. (2007) Lateral habenula stimulation inhibits rat midbrain dopamine neurons through a GABA(A) receptor-mediated mechanism. *Journal of Neuroscience*, 27, 6923-6930.
- Jorge, R.E., Starkstein, S.E. & Robinson, R.G. (2010) Apathy following stroke. *Can J Psychiatry*, 55, 350-354.
- Joseph, M.H., Datla, K. & Young, A.M. (2003) The interpretation of the measurement of nucleus accumbens dopamine by in vivo dialysis: the kick, the craving or the cognition? *Neurosci Biobehav Rev*, 27, 527-541.
- Kalladka, D. & Muir, K.W. (2014) Brain repair: cell therapy in stroke. *Stem cells and cloning : advances and applications*, 7, 31-44.
- Kandel, E.R. (2000) Disorders of Mood: depression, Mania and Anxiety Disorders In: Kandel, E.R., Schwartz, A.E., Jessell, T.M. (eds) *Principles of neural science*. McGraw-Hill, Aufl. 4, New York, S. 1209-1226.
- Kang, S.Y. & Kim, J.S. (2008) Anterior cerebral artery infarction: stroke mechanism and clinical-imaging study in 100 patients. *Neurology*, 70, 2386-2393.

- Karnath, H.O. (2002) Klinisch-neuropsychologische Syndrome und Störungen. In: Hartje, W., Poeck, K. (eds) *Klinische Neuropsychologie*. Geoge Thieme Verlag, Aufl. 5, New York, S. 334-360.
- Keiflin, R., Reese, R.M., Woods, C.A. & Janak, P.H. (2013) The orbitofrontal cortex as part of a hierarchical neural system mediating choice between two good options. *J Neurosci*, 33, 15989-15998.
- Kennerley, S.W., Walton, M.E., Behrens, T.E., Buckley, M.J. & Rushworth, M.F. (2006) Optimal decision making and the anterior cingulate cortex. *Nat Neurosci*, 9, 940-947.
- Kim, J.S., Nah, H.W., Park, S.M., Kim, S.K., Cho, K.H., Lee, J., Lee, Y.S., Kim, J., Ha, S.W., Kim, E.G., Kim, D.E., Kang, D.W., Kwon, S.U., Yu, K.H. & Lee, B.C. (2012) Risk factors and stroke mechanisms in atherosclerotic stroke: intracranial compared with extracranial and anterior compared with posterior circulation disease. *Stroke*, 43, 3313-3318.
- Kim, S.I. (2013) Neuroscientific model of motivational process. *Frontiers in psychology*, 4, 98.
- Kirkpatrick, B. (2014) Developing concepts in negative symptoms: primary vs secondary and apathy vs expression. *J Clin Psychiatry*, 75 Suppl 1, 3-7.
- Klement, D., Levčík, D., Dusková, L. & Nekovarova, T. (2010) Spatial task for rats testing position recognition of an object displayed on a computer screen. *Behav Brain Res*, 207, 480-489.
- Knecht, S., Breitenstein, C., Bushuven, S., Wailke, S., Kamping, S., Floel, A., Zwitserlood, P. & Ringelstein, E.B. (2004) Levodopa: faster and better word learning in normal humans. *Ann Neurol*, 56, 20-26.
- Knutson, B., Fong, G.W., Adams, C.M., Varner, J.L. & Hommer, D. (2001) Dissociation of reward anticipation and outcome with event-related fMRI. *Neuroreport*, 12, 3683-3687.
- Knutson, B., Fong, G.W., Bennett, S.M., Adams, C.M. & Hommer, D. (2003) A region of mesial prefrontal cortex tracks monetarily rewarding outcomes: characterization with rapid event-related fMRI. *Neuroimage*, 18, 263-272.
- Kobayashi, S., Maki, T. & Kunimoto, M. (2011) Clinical symptoms of bilateral anterior cerebral artery territory infarction. *J Clin Neurosci*, 18, 218-222.
- Kolb, B., Buhrmann, K., McDonald, R. & Sutherland, R.J. (1994) Dissociation of the medial prefrontal, posterior parietal, and posterior temporal cortex for spatial navigation and recognition memory in the rat. *Cereb Cortex*, 4, 664-680.
- Koob, G.F. & Volkow, N.D. (2010) Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology*, 35, 217-238.
- Koopmans, G.C., Deumens, R., Honig, W.M., Hamers, F.P., Steinbusch, H.W. & Joosten, E.A. (2005) The assessment of locomotor function in spinal cord injured rats: the importance of objective analysis of coordination. *Journal of neurotrauma*, 22, 214-225.

- Korte, S.M. & De Boer, S.F. (2003) A robust animal model of state anxiety: fear-potentiated behaviour in the elevated plus-maze. *Eur J Pharmacol*, 463, 163-175.
- Kringelbach, M.L., O'Doherty, J., Rolls, E.T. & Andrews, C. (2003) Activation of the human orbitofrontal cortex to a liquid food stimulus is correlated with its subjective pleasantness. *Cereb Cortex*, 13, 1064-1071.
- Kristian, T., Gido, G., Kuroda, S., Schutz, A. & Siesjo, B.K. (1998) Calcium metabolism of focal and penumbral tissues in rats subjected to transient middle cerebral artery occlusion. *Exp Brain Res*, 120, 503-509.
- Kubis, N., Guichard, J.P. & Woimant, F. (1999) Isolated anterior cerebral artery infarcts: A series of 16 patients. *Cerebrovasc Dis*, 9, 185-187.
- Kumakura, Y. & Cumming, P. (2009) PET studies of cerebral levodopa metabolism: a review of clinical findings and modeling approaches. *Neuroscientist*, 15, 635-650.
- Kumakura, Y., Vernaleken, I., Buchholz, H.G., Borghammer, P., Danielsen, E., Grunder, G., Heinz, A., Bartenstein, P. & Cumming, P. (2010) Age-dependent decline of steady state dopamine storage capacity of human brain: an FDOPA PET study. *Neurobiol Aging*, 31, 447-463.
- Kumral, E., Bayulkem, G., Evyapan, D. & Yuntun, N. (2002) Spectrum of anterior cerebral artery territory infarction: clinical and MRI findings. *Eur J Neurol*, 9, 615-624.
- Kupfermann, I., Kandel, E.R. & Iversen, S.D. (2000) Motivational and addictive states. In: Kandel, E.R., Schwartz, A.E., Jessell, T.M. (eds) *Principles of neural science*. McGraw-Hill, New York, S. 998-1114.
- Kurniawan, I.T., Guitart-Masip, M. & Dolan, R.J. (2011) Dopamine and effort-based decision making. *Front Neurosci*, 5, 81.
- Lee, R.M. (1995) Morphology of cerebral arteries. *Pharmacol Ther*, 66, 149-173.
- Leke, R., de Oliveira, D.L., Mussulini, B.H., Pereira, M.S., Kazlauckas, V., Mazzini, G., Hartmann, C.R., Silveira, T.R., Simonsen, M., Bak, L.K., Waagepetersen, H.S., Keiding, S., Schousboe, A. & Portela, L.V. (2012) Impairment of the organization of locomotor and exploratory behaviors in bile duct-ligated rats. *PLoS One*, 7, e36322.
- Leviel, V. (2011) Dopamine release mediated by the dopamine transporter, facts and consequences. *J Neurochem*, 118, 475-489.
- Levy, R. & Dubois, B. (2006) Apathy and the functional anatomy of the prefrontal cortex-basal ganglia circuits. *Cereb Cortex*, 16, 916-928.
- Lex, B. & Hauber, W. (2010) The role of nucleus accumbens dopamine in outcome encoding in instrumental and Pavlovian conditioning. *Neurobiol Learn Mem*, 93, 283-290.
- Li, C., Engstrom, G., Hedblad, B., Berglund, G. & Janzon, L. (2005) Blood pressure control and risk of stroke: a population-based prospective cohort study. *Stroke*, 36, 725-730.

- Li, S., Shi, Z., Zhang, H., Liu, X., Chen, S., Jin, J., Wang, Y., Jia, W. & Li, H. (2013) Assessing gait impairment after permanent middle cerebral artery occlusion in rats using an automated computer-aided control system. *Behav Brain Res*, 250, 174-191.
- Lindgren, H.S., Klein, A. & Dunnett, S.B. (2014) Nigral 6-hydroxydopamine lesion impairs performance in a lateralised choice reaction time task-Impact of training and task parameters. *Behav Brain Res*.
- Lindgren, H.S., Wickens, R., Tait, D.S., Brown, V.J. & Dunnett, S.B. (2013) Lesions of the dorsomedial striatum impair formation of attentional set in rats. *Neuropharmacology*, 71, 148-153.
- Lipton, P. (1999) Ischemic cell death in brain neurons. *Physiological reviews*, 79, 1431-1568.
- Lisman, J.E. & Grace, A.A. (2005) The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron*, 46, 703-713.
- Lo, E.H., Dalkara, T. & Moskowitz, M.A. (2003) Mechanisms, challenges and opportunities in stroke. *Nat Rev Neurosci*, 4, 399-415.
- Lovinger, D.M. (2008) Communication networks in the brain: neurons, receptors, neurotransmitters, and alcohol. *Alcohol Res Health*, 31, 196-214.
- Macrez, R., Ali, C., Toutirais, O., Le Mauff, B., Defer, G., Dirnagl, U. & Vivien, D. (2011) Stroke and the immune system: from pathophysiology to new therapeutic strategies. *Lancet Neurol*, 10, 471-480.
- Marin, R.S. (1990) Differential diagnosis and classification of apathy. *Am J Psychiatry*, 147, 22-30.
- Marin, R.S. (1991) Apathy: a neuropsychiatric syndrome. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 3, 243-254.
- Marin, R.S., Fogel, B.S., Hawkins, J., Duffy, J. & Krupp, B. (1995) Apathy: a treatable syndrome. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 7, 23-30.
- Marshall, G.A., Monserratt, L., Harwood, D., Mandelkern, M., Cummings, J.L. & Sultzer, D.L. (2007) Positron emission tomography metabolic correlates of apathy in Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 64, 1015-1020.
- Martinowich, K., Cardinale, K.M., Schloesser, R.J., Hsu, M., Greig, N.H. & Manji, H.K. (2012) Acetylcholinesterase inhibition ameliorates deficits in motivational drive. *Behav Brain Funct*, 8, 15.
- Marx, C., Lex, B., Calaminus, C., Hauber, W., Backes, H., Neumaier, B., Mies, G., Graf, R. & Endepols, H. (2012) Conflict Processing in the Rat Brain: Behavioral Analysis and Functional muPET Imaging Using [F]Fluorodeoxyglucose. *Front Behav Neurosci*, 6, 4.
- Matsumoto, M. & Hikosaka, O. (2007) Lateral habenula as a source of negative reward signals in dopamine neurons. *Nature*, 447, 1111-1115.
- Matsumoto, M. & Hikosaka, O. (2009) Two types of dopamine neuron distinctly convey positive and negative motivational signals. *Nature*, 459, 837-841.

- Maurice, N., Deniau, J.M., Glowinski, J. & Thierry, A.M. (1999) Relationships between the prefrontal cortex and the basal ganglia in the rat: physiology of the cortico-nigral circuits. *J Neurosci*, 19, 4674-4681.
- McAlonan, K. & Brown, V.J. (2003) Orbital prefrontal cortex mediates reversal learning and not attentional set shifting in the rat. *Behav Brain Res*, 146, 97-103.
- McKee, B.L., Kelley, A.E., Moser, H.R. & Andrzejewski, M.E. (2010) Operant learning requires NMDA-receptor activation in the anterior cingulate cortex and dorsomedial striatum, but not in the orbitofrontal cortex. *Behav Neurosci*, 124, 500-509.
- Merino, J.G. & Warach, S. (2010) Imaging of acute stroke. *Nature reviews. Neurology*, 6, 560-571.
- Mertgens, H. (2008) Kognitive und emotionale Verhaltensänderungen nach Blockade der anterioren Zerebralarterie bei Ratten (*Rattus norvegicus*). Diplomarbeit, eingereicht an der Universität zu Köln.
- Mies, G., Ishimaru, S., Xie, Y., Seo, K. & Hossmann, K.A. (1991) Ischemic thresholds of cerebral protein synthesis and energy state following middle cerebral artery occlusion in rat. *J Cereb Blood Flow Metab*, 11, 753-761.
- Mitchell, A.S. & Dalrymple-Alford, J.C. (2005) Dissociable memory effects after medial thalamus lesions in the rat. *Eur J Neurosci*, 22, 973-985.
- Miteff, F., Levi, C.R., Bateman, G.A., Spratt, N., McElduff, P. & Parsons, M.W. (2009) The independent predictive utility of computed tomography angiographic collateral status in acute ischaemic stroke. *Brain*, 132, 2231-2238.
- Mogenson, G.J., Jones, D.L. & Yim, C.Y. (1980) From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Prog Neurobiol*, 14, 69-97.
- Moskowitz, M.A., Lo, E.H. & Iadecola, C. (2010) The science of stroke: mechanisms in search of treatments. *Neuron*, 67, 181-198.
- Moustafa, R.R. & Baron, J.C. (2008) Pathophysiology of ischaemic stroke: insights from imaging, and implications for therapy and drug discovery. *Br J Pharmacol*, 153 Suppl 1, S44-54.
- 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. *Cereb Cortex*, 6, 470-481.
- Muller, T. (2012) Drug therapy in patients with Parkinson's disease. *Translational neurodegeneration*, 1, 10.
- Nagaratnam, N., Davies, D. & Chen, E. (1998) Clinical effects of anterior cerebral artery infarction. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 7, 391-397.
- Nagaratnam, N., Nagaratnam, K., Ng, K. & Diu, P. (2004) Akinetic mutism following stroke. *J Clin Neurosci*, 11, 25-30.

- Ng, C.W., Noblejas, M.I., Rodefer, J.S., Smith, C.B. & Poremba, A. (2007a) Double dissociation of attentional resources: prefrontal versus cingulate cortices. *J Neurosci*, 27, 12123-12131.
- Ng, Y.S., Stein, J., Ning, M. & Black-Schaffer, R.M. (2007b) Comparison of clinical characteristics and functional outcomes of ischemic stroke in different vascular territories. *Stroke*, 38, 2309-2314.
- Nicola, S.M. (2007) The nucleus accumbens as part of a basal ganglia action selection circuit. *Psychopharmacology (Berl)*, 191, 521-550.
- Nieuwenhuys, R., Voogd, J. & van Huijzen, C. (2008a) Blood Supply, Meninges and Cerebrospinal fluid circulation. In: Nieuwenhuys R., J., V., van Huijzen, C. (eds) *The Human Central Nervous System*. Springer, Berlin, S. 95-101.
- Nieuwenhuys, R., Voogd, J. & Van Huijzen, C. (2008b) Telencephalon: Neocortex. In: Nieuwenhuys, R., Voogd, J., Van Huijzen, C. (eds) *The Human Central Nervous System* Springer, Berlin, S. 491-679.
- Nikolova, S., Moyanova, S., Hughes, S., Bellyou-Camilleri, M., Lee, T.Y. & Bartha, R. (2009) Endothelin-1 induced MCAO: dose dependency of cerebral blood flow. *J Neurosci Methods*, 179, 22-28.
- Nikonenko, A.G., Radenovic, L., Andjus, P.R. & Skibo, G.G. (2009) Structural features of ischemic damage in the hippocampus. *Anatomical record (Hoboken, N.J. : 2007)*, 292, 1914-1921.
- Nirenberg, M.J., Chan, J., Vaughan, R.A., Uhl, G.R., Kuhar, M.J. & Pickel, V.M. (1997) Immunogold localization of the dopamine transporter: an ultrastructural study of the rat ventral tegmental area. *J Neurosci*, 17, 5255-5262.
- Nirenberg, M.J., Vaughan, R.A., Uhl, G.R., Kuhar, M.J. & Pickel, V.M. (1996) The dopamine transporter is localized to dendritic and axonal plasma membranes of nigrostriatal dopaminergic neurons. *J Neurosci*, 16, 436-447.
- Nowend, K.L., Arizzi, M., Carlson, B.B. & Salamone, J.D. (2001) D1 or D2 antagonism in nucleus accumbens core or dorsomedial shell suppresses lever pressing for food but leads to compensatory increases in chow consumption. *Pharmacol Biochem Behav*, 69, 373-382.
- Nunes, E.J., Randall, P.A., Podurgiel, S., Correa, M. & Salamone, J.D. (2013) Nucleus accumbens neurotransmission and effort-related choice behavior in food motivation: effects of drugs acting on dopamine, adenosine, and muscarinic acetylcholine receptors. *Neurosci Biobehav Rev*, 37, 2015-2025.
- O'Doherty, J., Dayan, P., Schultz, J., Deichmann, R., Friston, K. & Dolan, R.J. (2004) Dissociable roles of ventral and dorsal striatum in instrumental conditioning. *Science*, 304, 452-454.
- O'Donnell, M.J., Xavier, D., Liu, L., Zhang, H., Chin, S.L., Rao-Melacini, P., Rangarajan, S., Islam, S., Pais, P., McQueen, M.J., Mondo, C., Damasceno, A., Lopez-Jaramillo, P., Hankey, G.J., Dans, A.L., Yusuf, K., Truelsen, T., Diener, H.C., Sacco, R.L., Ryglewicz, D., Czlonkowska, A., Weimar, C., Wang, X., Yusuf, S. & investigators, I. (2010) Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): a case-control study. *Lancet*, 376, 112-123.

- Olausson, P., Kiraly, D.D., Gourley, S.L. & Taylor, J.R. (2013) Persistent effects of prior chronic exposure to corticosterone on reward-related learning and motivation in rodents. *Psychopharmacology (Berl)*, 225, 569-577.
- Olds, J. & Milner, P. (1954) Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *Journal of comparative and physiological psychology*, 47, 419-427.
- Olmez, I. & Ozyurt, H. (2012) Reactive oxygen species and ischemic cerebrovascular disease. *Neurochem Int*, 60, 208-212.
- Ongur, D., Ferry, A.T. & Price, J.L. (2003) Architectonic subdivision of the human orbital and medial prefrontal cortex. *J Comp Neurol*, 460, 425-449.
- Ongur, D. & Price, J.L. (2000) The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cereb Cortex*, 10, 206-219.
- Onur, O.A., Piefke, M., Lie, C.H., Thiel, C.M. & Fink, G.R. (2011) Modulatory effects of levodopa on cognitive control in young but not in older subjects: a pharmacological fMRI study. *Journal of cognitive neuroscience*, 23, 2797-2810.
- Ostlund, S.B. & Balleine, B.W. (2007) The contribution of orbitofrontal cortex to action selection. *Ann N Y Acad Sci*, 1121, 174-192.
- Ostlund, S.B. & Balleine, B.W. (2008) Differential involvement of the basolateral amygdala and mediodorsal thalamus in instrumental action selection. *J Neurosci*, 28, 4398-4405.
- Ostlund, S.B., Wassum, K.M., Murphy, N.P., Balleine, B.W. & Maidment, N.T. (2011) Extracellular dopamine levels in striatal subregions track shifts in motivation and response cost during instrumental conditioning. *J Neurosci*, 31, 200-207.
- Panagopoulos, N.T., Papadopoulos, G.C. & Matsokis, N.A. (1991) Dopaminergic innervation and binding in the rat cerebellum. *Neurosci Lett*, 130, 208-212.
- Papp, E., Borhegyi, Z., Tomioka, R., Rockland, K.S., Mody, I. & Freund, T.F. (2012) Glutamatergic input from specific sources influences the nucleus accumbens-ventral pallidum information flow. *Brain structure & function*, 217, 37-48.
- Patel, V.D., Lee, D.E., Alexoff, D.L., Dewey, S.L. & Schiffer, W.K. (2008) Imaging dopamine release with Positron Emission Tomography (PET) and (11)C-raclopride in freely moving animals. *Neuroimage*, 41, 1051-1066.
- Paus, T. (2001) Primate anterior cingulate cortex: where motor control, drive and cognition interface. *Nat Rev Neurosci*, 2, 417-424.
- Pavlis, M., Feretti, C., Levy, A., Gupta, N. & Lister, C. (2006) l-DOPA improves odor discrimination learning in rats. *Physiol Behav*, 87, 109-113.
- Paxinos, G. & Watson, C. (2005) *The Rat Brain in stereotaxic coordinates* Elsevier Academic Press, Aufl. 5, San Diego.

- Pellow, S., Chopin, P., File, S.E. & Briley, M. (1985) Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods*, 14, 149-167.
- Perlmutter, D. & Rhoton, A.L., Jr. (1976a) Microsurgical anatomy of anterior cerebral anterior communicating recurrent artery complex. *Surgical forum*, 27, 464-465.
- Perlmutter, D. & Rhoton, A.L., Jr. (1976b) Microsurgical anatomy of the anterior cerebral-anterior communicating-recurrent artery complex. *J Neurosurg*, 45, 259-272.
- Perlmutter, D. & Rhoton, A.L., Jr. (1978) Microsurgical anatomy of the distal anterior cerebral artery. *J Neurosurg*, 49, 204-228.
- Peters, F., Perani, D., Herholz, K., Holthoff, V., Beuthien-Baumann, B., Sorbi, S., Pupi, A., Degueldre, C., Lemaire, C., Collette, F. & Salmon, E. (2006) Orbitofrontal dysfunction related to both apathy and disinhibition in frontotemporal dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 21, 373-379.
- Petrides, M. & Pandya, D.N. (2002) Comparative cytoarchitectonic analysis of the human and the macaque ventrolateral prefrontal cortex and corticocortical connection patterns in the monkey. *Eur J Neurosci*, 16, 291-310.
- Pezze, M.A., Dalley, J.W. & Robbins, T.W. (2007) Differential roles of dopamine D1 and D2 receptors in the nucleus accumbens in attentional performance on the five-choice serial reaction time task. *Neuropsychopharmacology*, 32, 273-283.
- Phillis, J.W., Smith-Barbour, M. & O'Regan, M.H. (1996) Changes in extracellular amino acid neurotransmitters and purines during and following ischemias of different durations in the rat cerebral cortex. *Neurochem Int*, 29, 115-120.
- Pluck, G.C. & Brown, R.G. (2002) Apathy in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 73, 636-642.
- Preuss, T.M. (1995) Do rats have prefrontal cortex? The rose-woolsey-akert program reconsidered. *Journal of cognitive neuroscience*, 7, 1-24.
- Preuss, T.M. & Goldman-Rakic, P.S. (1991) Myelo- and cytoarchitecture of the granular frontal cortex and surrounding regions in the strepsirrhine primate Galago and the anthropoid primate Macaca. *J Comp Neurol*, 310, 429-474.
- Qi, J., Leahy, R.M., Cherry, S.R., Chatziioannou, A. & Farquhar, T.H. (1998) High-resolution 3D Bayesian image reconstruction using the microPET small-animal scanner. *Phys Med Biol*, 43, 1001-1013.
- Raichle, M.E. (1979) Quantitative in vivo autoradiography with positron emission tomography. *Brain Res*, 180, 47-68.
- Raichle, M.E. (2006) Neuroscience. The brain's dark energy. *Science*, 314, 1249-1250.
- Raichle, M.E. & Mintun, M.A. (2006) Brain work and brain imaging. *Annu Rev Neurosci*, 29, 449-476.
- Ranganath, C. & Ritchey, M. (2012) Two cortical systems for memory-guided behaviour. *Nat Rev Neurosci*, 13, 713-726.

- Redgrave, P. & Gurney, K. (2006) The short-latency dopamine signal: a role in discovering novel actions? *Nat Rev Neurosci*, 7, 967-975.
- Reinholz, J., Skopp, O., Breitenstein, C., Winterhoff, H. & Knecht, S. (2009) Better than normal: improved formation of long-term spatial memory in healthy rats treated with levodopa. *Exp Brain Res*, 192, 745-749.
- Rexrode, K.M. (2010) Emerging risk factors in women. *Stroke*, 41, S9-11.
- Rice, M.E. & Cragg, S.J. (2008) Dopamine spillover after quantal release: rethinking dopamine transmission in the nigrostriatal pathway. *Brain Res Rev*, 58, 303-313.
- Rice, M.E., Patel, J.C. & Cragg, S.J. (2011) Dopamine release in the basal ganglia. *Neuroscience*, 198, 112-137.
- Ringelstein, E.B. & Nabavi, D.G. (2004) Der akute Schlaganfall In: Diener, H.C., Hacke, W., Forsting, M. (eds) *Schlaganfall*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Deutschland, S. 1-101.
- Robbins, T.W. (2002) The 5-choice serial reaction time task: behavioural pharmacology and functional neurochemistry. *Psychopharmacology (Berl)*, 163, 362-380.
- Robert, P.H., Darcourt, G., Koulibaly, M.P., Clairet, S., Benoit, M., Garcia, R., Dechaux, O. & Darcourt, J. (2006) Lack of initiative and interest in Alzheimer's disease: a single photon emission computed tomography study. *Eur J Neurol*, 13, 729-735.
- Rodgers, R.J. & Dalvi, A. (1997) Anxiety, defence and the elevated plus-maze. *Neurosci Biobehav Rev*, 21, 801-810.
- Rohleder, C. (2012) Verhaltenspharmakologische und metabolische Untersuchungen akuter und chronischer Modulation des Endocannabinoidsystems der Ratte. Dissertationsschrift, eingereicht an der Universität zu Köln.
- Rohleder, C., Jung, F., Mertgens, H., Wiedermann, D., Sué, M., Neumaier, B., Graf, R., Leweke, F.M. & Endepols, H. (2014) Neural correlates of sensorimotor gating: A metabolic positron emission tomography study in awake rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, under review.
- Rolls, E.T., O'Doherty, J., Kringelbach, M.L., Francis, S., Bowtell, R. & McGlone, F. (2003) Representations of pleasant and painful touch in the human orbitofrontal and cingulate cortices. *Cereb Cortex*, 13, 308-317.
- Rudebeck, P.H., Buckley, M.J., Walton, M.E. & Rushworth, M.F. (2006) A role for the macaque anterior cingulate gyrus in social valuation. *Science*, 313, 1310-1312.
- Rudebeck, P.H., Saunders, R.C., Prescott, A.T., Chau, L.S. & Murray, E.A. (2013) Prefrontal mechanisms of behavioral flexibility, emotion regulation and value updating. *Nat Neurosci*, 16, 1140-1145.
- Rushworth, M.F. & Behrens, T.E. (2008) Choice, uncertainty and value in prefrontal and cingulate cortex. *Nat Neurosci*, 11, 389-397.

- Rushworth, M.F., Walton, M.E., Kennerley, S.W. & Bannerman, D.M. (2004) Action sets and decisions in the medial frontal cortex. *Trends Cogn Sci*, 8, 410-417.
- Russo, S.J. & Nestler, E.J. (2013) The brain reward circuitry in mood disorders. *Nat Rev Neurosci*, 14, 609-625.
- Salamone, J.D. & Correa, M. (2012) The mysterious motivational functions of mesolimbic dopamine. *Neuron*, 76, 470-485.
- Salamone, J.D., Correa, M., Farrar, A. & Mingote, S.M. (2007) Effort-related functions of nucleus accumbens dopamine and associated forebrain circuits. *Psychopharmacology (Berl)*, 191, 461-482.
- Salamone, J.D., Cousins, M.S. & Bucher, S. (1994) Anhedonia or anergia? Effects of haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion on instrumental response selection in a T-maze cost/benefit procedure. *Behav Brain Res*, 65, 221-229.
- Saper, C.B. (2000) Brain Stem Modulation of Sensation, Movement, and Consciousness. In: Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M. (eds) *Principels of neural science* McGraw-Hill, Aufl. 4, New York, S. 889-909.
- Schiffer, W.K., Mirrione, M.M. & Dewey, S.L. (2007) Optimizing experimental protocols for quantitative behavioral imaging with 18F-FDG in rodents. *J Nucl Med*, 48, 277-287.
- Schilman, E.A., Uylings, H.B., Galis-de Graaf, Y., Joel, D. & Groenewegen, H.J. (2008) The orbital cortex in rats topographically projects to central parts of the caudate-putamen complex. *Neurosci Lett*, 432, 40-45.
- Schultz, W. (1998) Predictive reward signal of dopamine neurons. *J Neurophysiol*, 80, 1-27.
- Schultz, W. (2007) Behavioral dopamine signals. *Trends Neurosci*, 30, 203-210.
- Schultz, W. (2010) Dopamine signals for reward value and risk: basic and recent data. *Behav Brain Funct*, 6, 24.
- Schüncke, M., Schulte, E. & Schumacher, U. (2006) Blutgefäße des Gehirns. In: Schüncke, M., Schulte, E., Schumacher, U. (eds) *Prometheus*. Georg Thieme Verlag, Aufl. 2, Stuttgart, S. 364-383.
- Schwartz, A.E. & Pile-Spellman, J. (2011) New model of reperfused stroke by occlusion of the anterior cerebral artery in baboons. *Acta Neurochir (Wien)*, 153, 327-331.
- Schweimer, J. & Hauber, W. (2005) Involvement of the rat anterior cingulate cortex in control of instrumental responses guided by reward expectancy. *Learn Mem*, 12, 334-342.
- Schweimer, J. & Hauber, W. (2006) Dopamine D1 receptors in the anterior cingulate cortex regulate effort-based decision making. *Learn Mem*, 13, 777-782.
- Scremin, O.U. (2004) Cerebral Vasculature System. In: Paxinos, G. (ed) *The Rat Nervous System*. Elsevier Academic Press, San Diego, S. 1165-1202.
- Sesack, S.R. & Carr, D.B. (2002) Selective prefrontal cortex inputs to dopamine cells: implications for schizophrenia. *Physiol Behav*, 77, 513-517.

- Seymour, B., O'Doherty, J.P., Koltzenburg, M., Wiech, K., Frackowiak, R., Friston, K. & Dolan, R. (2005) Opponent appetitive-aversive neural processes underlie predictive learning of pain relief. *Nat Neurosci*, 8, 1234-1240.
- Shaw, N.A. (1988) The auditory evoked potential in the rat--a review. *Prog Neurobiol*, 31, 19-45.
- Shen, C., Ardid, S., Kaping, D., Westendorff, S., Everling, S. & Womelsdorf, T. (2014) Anterior Cingulate Cortex Cells Identify Process-Specific Errors of Attentional Control Prior to Transient Prefrontal-Cingulate Inhibition. *Cereb Cortex*.
- Shimura, T., Imaoka, H. & Yamamoto, T. (2006) Neurochemical modulation of ingestive behavior in the ventral pallidum. *Eur J Neurosci*, 23, 1596-1604.
- Simard, J.M., Kent, T.A., Chen, M., Tarasov, K.V. & Gerzanich, V. (2007) Brain oedema in focal ischaemia: molecular pathophysiology and theoretical implications. *Lancet Neurol*, 6, 258-268.
- Small, D.M., Zatorre, R.J., Dagher, A., Evans, A.C. & Jones-Gotman, M. (2001) Changes in brain activity related to eating chocolate: from pleasure to aversion. *Brain*, 124, 1720-1733.
- Smith, K.S., Tindell, A.J., Aldridge, J.W. & Berridge, K.C. (2009) Ventral pallidum roles in reward and motivation. *Behav Brain Res*, 196, 155-167.
- Spence, J.D. (2012) Cholesterol lowering, nutrition and stroke prevention. *Can J Neurol Sci*, 39, 700-701.
- Stanley, B.G., Urstadt, K.R., Charles, J.R. & Kee, T. (2011) Glutamate and GABA in lateral hypothalamic mechanisms controlling food intake. *Physiol Behav*, 104, 40-46.
- Starkstein, S.E. & Leentjens, A.F. (2008) The nosological position of apathy in clinical practice. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 79, 1088-1092.
- Steiner, A.P. & Redish, A.D. (2012) The road not taken: neural correlates of decision making in orbitofrontal cortex. *Front Neurosci*, 6, 131.
- Stouffer, M.A., Ali, S., Reith, M.E., Patel, J.C., Sarti, F., Carr, K.D. & Rice, M.E. (2011) SKF-83566, a D1-dopamine receptor antagonist, inhibits the dopamine transporter. *J Neurochem*, 118, 714-720.
- Stratford, T.R. & Kelley, A.E. (1997) GABA in the nucleus accumbens shell participates in the central regulation of feeding behavior. *J Neurosci*, 17, 4434-4440.
- Stratford, T.R., Kelley, A.E. & Simansky, K.J. (1999) Blockade of GABAA receptors in the medial ventral pallidum elicits feeding in satiated rats. *Brain Res*, 825, 199-203.
- Stratford, T.R., Swanson, C.J. & Kelley, A. (1998) Specific changes in food intake elicited by blockade or activation of glutamate receptors in the nucleus accumbens shell. *Behav Brain Res*, 93, 43-50.
- Stuss, D.T., Alexander, M.P., Shallice, T., Picton, T.W., Binns, M.A., Macdonald, R., Borowiec, A. & Katz, D.I. (2005) Multiple frontal systems controlling response speed. *Neuropsychologia*, 43, 396-417.

- Surmeier, D.J., Ding, J., Day, M., Wang, Z. & Shen, W. (2007) D1 and D2 dopamine-receptor modulation of striatal glutamatergic signaling in striatal medium spiny neurons. *Trends Neurosci*, 30, 228-235.
- Thaler, D.E., Rolls, E.T. & Passingham, R.E. (1988) Neuronal activity of the supplementary motor area (SMA) during internally and externally triggered wrist movements. *Neurosci Lett*, 93, 264-269.
- Totah, N.K., Jackson, M.E. & Moghaddam, B. (2013) Preparatory attention relies on dynamic interactions between prelimbic cortex and anterior cingulate cortex. *Cereb Cortex*, 23, 729-738.
- Tsai, H.C., Zhang, F., Adamantidis, A., Stuber, G.D., Bonci, A., de Lecea, L. & Deisseroth, K. (2009) Phasic firing in dopaminergic neurons is sufficient for behavioral conditioning. *Science*, 324, 1080-1084.
- Tsutsui-Kimura, I., Ohmura, Y., Izumi, T., Kumamoto, H., Yamaguchi, T., Yoshida, T. & Yoshioka, M. (2013) Milnacipran enhances the control of impulsive action by activating D(1)-like receptors in the infralimbic cortex. *Psychopharmacology (Berl)*, 225, 495-504.
- Ullsperger, M. & von Cramon, D.Y. (2003) Error monitoring using external feedback: specific roles of the habenular complex, the reward system, and the cingulate motor area revealed by functional magnetic resonance imaging. *J Neurosci*, 23, 4308-4314.
- Utter, A.A. & Basso, M.A. (2008) The basal ganglia: an overview of circuits and function. *Neurosci Biobehav Rev*, 32, 333-342.
- Uylings, H.B.M., Groenewegen, H.J. & Kolb, B. (2003) Do rats have a prefrontal cortex? *Behavioural Brain Research*, 146, 3-17.
- Valentin, V.V., Dickinson, A. & O'Doherty, J.P. (2007) Determining the neural substrates of goal-directed learning in the human brain. *J Neurosci*, 27, 4019-4026.
- Van der Werf, Y.D., Scheltens, P., Lindeboom, J., Witter, M.P., Uylings, H.B. & Jolles, J. (2003) Deficits of memory, executive functioning and attention following infarction in the thalamus; a study of 22 cases with localised lesions. *Neuropsychologia*, 41, 1330-1344.
- van Praag, H., Kempermann, G. & Gage, F.H. (2000) Neural consequences of environmental enrichment. *Nat Rev Neurosci*, 1, 191-198.
- van Rooyen, J.M. & Offermeier, J. (1981) Peripheral dopaminergic receptors. Physiological and pharmaceutical aspects of therapeutic importance. *S Afr Med J*, 59, 329-332.
- Vandeputte, C., Taymans, J.M., Casteels, C., Coun, F., Ni, Y., Van Laere, K. & Baekelandt, V. (2010) Automated quantitative gait analysis in animal models of movement disorders. *BMC Neurosci*, 11, 92.
- Vann, S.D., Aggleton, J.P. & Maguire, E.A. (2009) What does the retrosplenial cortex do? *Nat Rev Neurosci*, 10, 792-802.
- Vertes, R.P. (2006) Interactions among the medial prefrontal cortex, hippocampus and midline thalamus in emotional and cognitive processing in the rat. *Neuroscience*, 142, 1-20.

- Vogt, B.A. & Paxinos, G. (2012) Cytoarchitecture of mouse and rat cingulate cortex with human homologies. *Brain structure & function*.
- Vogt, B.A., Vogt, L. & Faber, N.B. (2004) Cingulate Cortex and Disease and Models In: Paxinos, G. (ed) *The rat nervous system* Elsevier Academic Press, Aufl. 3, San Diego, USA, S. 705-727.
- Vollmar, S., Hampfl, J.A., Kracht, L. & Herholz, K. (2007) Integration of functional data (PET) into brain surgery planning and neuronavigation. *Springer Proc Phys*, 114, 98-103.
- Wallis, J.D. (2012) Cross-species studies of orbitofrontal cortex and value-based decision-making. *Nat Neurosci*, 15, 13-19.
- Walsh, R.N. & Cummins, R.A. (1976) The Open-Field Test: a critical review. *Psychol Bull*, 83, 482-504.
- Walton, M.E., Bannerman, D.M., Alterescu, K. & Rushworth, M.F. (2003) Functional specialization within medial frontal cortex of the anterior cingulate for evaluating effort-related decisions. *J Neurosci*, 23, 6475-6479.
- Walton, M.E., Croxson, P.L., Behrens, T.E., Kennerley, S.W. & Rushworth, M.F. (2007) Adaptive decision making and value in the anterior cingulate cortex. *Neuroimage*, 36 Suppl 2, T142-154.
- Walton, M.E., Groves, J., Jennings, K.A., Croxson, P.L., Sharp, T., Rushworth, M.F. & Bannerman, D.M. (2009) Comparing the role of the anterior cingulate cortex and 6-hydroxydopamine nucleus accumbens lesions on operant effort-based decision making. *Eur J Neurosci*, 29, 1678-1691.
- Ward, N.M., Sharkey, J., Marston, H.M. & Brown, V.J. (1998) Simple and choice reaction-time performance following occlusion of the anterior cerebral arteries in the rat. *Exp Brain Res*, 123, 269-281.
- Wardlaw, J.M., Murray, V., Berge, E., del Zoppo, G., Sandercock, P., Lindley, R.L. & Cohen, G. (2012) Recombinant tissue plasminogen activator for acute ischaemic stroke: an updated systematic review and meta-analysis. *Lancet*, 379, 2364-2372.
- Weible, A.P. (2013) Remembering to attend: the anterior cingulate cortex and remote memory. *Behav Brain Res*, 245, 63-75.
- White, N.M. (2009) Some highlights of research on the effects of caudate nucleus lesions over the past 200 years. *Behav Brain Res*, 199, 3-23.
- Willuhn, I., Wanat, M.J., Clark, J.J. & Phillips, P.E. (2010) Dopamine signaling in the nucleus accumbens of animals self-administering drugs of abuse. *Curr Top Behav Neurosci*, 3, 29-71.
- Winters, B.D., Bartko, S.J., Saksida, L.M. & Bussey, T.J. (2010) Muscimol, AP5, or scopolamine infused into perirhinal cortex impairs two-choice visual discrimination learning in rats. *Neurobiol Learn Mem*, 93, 221-228.
- Wise, R.A. (2004) Dopamine, learning and motivation. *Nat Rev Neurosci*, 5, 483-494.
- Wise, S.P. (2008) Forward frontal fields: phylogeny and fundamental function. *Trends Neurosci*, 31, 599-608.

- Woosley, T.A., Hanaway, J. & Gado, M.H. (2008) *The brain atlas*. Wiley, Aufl. 3, Hoboken, NJ.
- Xing, C., Arai, K., Lo, E.H. & Hommel, M. (2012) Pathophysiologic cascades in ischemic stroke. *International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society*, 7, 378-385.
- Yamauchi, H., Nishii, R., Higashi, T., Kagawa, S. & Fukuyama, H. (2011) Selective neuronal damage and Wisconsin Card Sorting Test performance in atherosclerotic occlusive disease of the major cerebral artery. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 82, 150-156.
- Yin, H.H., Ostlund, S.B., Knowlton, B.J. & Balleine, B.W. (2005) The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *Eur J Neurosci*, 22, 513-523.
- Yokoyama, S. (2000) Molecular evolution of vertebrate visual pigments. *Progress in retinal and eye research*, 19, 385-419.
- Zalba, G., Fortunato, A., San Jose, G., Moreno, M.U., Beloqui, O. & Diez, J. (2007) Oxidative stress, endothelial dysfunction and cerebrovascular disease. *Cerebrovasc Dis*, 24 Suppl 1, 24-29.
- Zald, D.H. (2003) The human amygdala and the emotional evaluation of sensory stimuli. *Brain Res Brain Res Rev*, 41, 88-123.
- Zeeb, F.D. & Winstanley, C.A. (2013) Functional disconnection of the orbitofrontal cortex and basolateral amygdala impairs acquisition of a rat gambling task and disrupts animals' ability to alter decision-making behavior after reinforcer devaluation. *J Neurosci*, 33, 6434-6443.
- Zhou, X.Y., Chen, L. & Zhang, S.Q. (2013) Nonfluent aphasia and cognitive impairment caused by anterior cerebral artery infarction. *CNS Neurosci Ther*, 19, 987-989.
- Zoratto, F., Tringle, A.L., Bellenchi, G., Speranza, L., Travaglini, D., di Porzio, U., Perrone-Capano, C., Laviola, G., Dreyer, J.L. & Adriani, W. (2013) Impulsivity and home-cage activity are decreased by lentivirus-mediated silencing of serotonin transporter in the rat hippocampus. *Neurosci Lett*, 548, 38-43.
- Zweifel, L.S., Parker, J.G., Lobb, C.J., Rainwater, A., Wall, V.Z., Fadok, J.P., Darvas, M., Kim, M.J., Mizumori, S.J., Paladini, C.A., Phillips, P.E. & Palmiter, R.D. (2009) Disruption of NMDAR-dependent burst firing by dopamine neurons provides selective assessment of phasic dopamine-dependent behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106, 7281-7288.

## 10 Danksagung

Ein ganz herzlicher Dank gilt meiner Betreuerin PD Dr. Heike Endepols, die es mir ermöglichte diese Arbeit anzufertigen, die stets offen für wissenschaftliche Diskussionen war, mir mit ihrer großen Kompetenz immer weiterhalf und jederzeit für Fragen und Unterstützung zur Verfügung stand. . Herrn Prof. Dr. Walkowiak möchte ich für die Begutachtung meiner Arbeit danken. Vielen Dank auch an Prof. Dr. Rudolf Graf der mich mit seinen wissenschaftlichen Anregungen in den letzten Jahren häufig weiterbrachte.

Ich danke der Manhotstiftung für die finanzielle Förderung meiner Promotion und dafür, dass die Stiftung mir auch die Konferenzteilnahme in New Orleans ermöglichte. Persönlich bedanken möchte ich mich diesbezüglich bei meiner Ansprechpartnerin Frau Thormann.

Ein herzlicher Dank gilt auch Christiane Schäfer und Daniel Kleineberg, die einen Teil des Trainings der Tiere übernommen haben. Danken möchte ich auch der Abteilung „Radiochemie“ der Uniklinik Köln und des MPI für neurologische Forschung für die Herstellung der Radiopharmaka. Hier gilt besonderer Dank Herrn Prof. Dr. Neumaier, der als Leiter der Radiochemie den PET-Experimenten zustimmte und Herrn Dr. Wagner der für viele der FDOPA-Produktionen verantwortlich war.

Ein ganz besonderer Dank gilt Dr. Cathrin Rohleder und Dr. Fabienne Jung für das Lesen meines Manuskripts. Ihnen und Hanna Mertgens möchte ich für die vielen anregenden wissenschaftlichen Diskussionen in den letzten Jahren danken, für die aufmunternden Worte zwischendurch und vor allem für die nette Bürogemeinschaft. Vielen Dank auch an Katharina Schneider für ihre selbstständige und zuverlässige Arbeit. Darüber hinaus möchte ich Dr. Heiko Backes für die wissenschaftlichen Anregungen, die technische Unterstützung im PET und den Kaffee zwischendurch danken. Ein herzliches Dankeschön auch an den Rest meiner Arbeitsgruppe, die die schönen letzten Jahre am MPI möglich machten.

Ganz besonders möchte ich meiner Mutter danken, die mich immer in allem unterstützt hat was ich mache. Meinem Mann Etienne Kordys gilt ebenfalls besonderer Dank, dafür, dass er mich mit viel Liebe nicht nur durch die letzten Wochen, sondern durch meine gesamte Promotionszeit begleitet hat. Außerdem danke ich dem Rest meiner Familie Höfener-Kordys und Familie Steinbeck für die vielen aufmun-

ternden Worte und die Fürsorge. Sarah Laukamp, Verena Vogel und Anja Radeke gilt besonderer Dank für die Unternehmungen zwischendurch und das Interesse an meinem Wohlbefinden. Auch meinen anderen Freunden möchte ich hiermit für das offene Ohr und die Freizeitgestaltung danken.

## **11 Erklärung**

„Ich versichere, dass ich die von mir vorgelegte Dissertation selbstständig angefertigt, die benutzten Quellen und Hilfsmittel vollständig angegeben und die Stellen der Arbeit einschließlich Tabellen, Karten und Abbildungen-, die anderen Werken im Wortlaut oder dem Sinn nach entnommen sind, in jedem Einzelfall als Entlehnung kenntlich gemacht habe; dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat; dass sie - abgesehen von unten angegebenen Teilpublikationen - noch nicht veröffentlicht worden ist sowie, dass ich eine solche Veröffentlichung vor Abschluss des Promotionsverfahren nicht vornehmen werde. Die Bestimmungen dieser Promotionsordnung sind mir bekannt. Die von mir vorgelegte Dissertation ist von PD Dr. Heike Endepols betreut worden.“