

Aus dem Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin  
der Universität zu Köln  
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. J. Dötsch

# **Einfluss unterschiedlicher Ursachen der intrauterinen Wachstumsretardierung auf die langfristige neurokognitive Entwicklung bei der Ratte**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Sahar Nazzal  
aus Köln

promoviert am 11. Juni 2024

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln  
2024

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink

1. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. J. W. Dötsch
2. Gutachterin: Universitätsprofessorin Dr. rer. nat. T. Korotkova

## Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:

Frau Dr. med. Eva Nüsken  
Herr Dr. med. Kai-Dietrich Nüsken

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Der dieser Arbeit zugrunde liegende Datensatz zum Körpergewicht und Gehirngewicht sowie der Datensatz zur Ratio von Gehirngewicht und Körpergewicht an P1, P7, P12 und P180 wurde ohne meine Mitarbeit im Rahmen des dieser Arbeit übergeordneten DFG-Projektes von Dr. L. Oberholz, Dr. M. J. Wingender, Dr. L. Sprenger und Dr. C.S. Schömig ermittelt und mir von meinem Betreuer Dr. med. Kai-Dietrich Nüsken zur Verfügung gestellt.

Folgende Arbeiten habe ich im Rahmen dieser Dissertationsschrift selbstständig durchgeführt:

- Assistenz bei der Operation der Versuchstiere, durchgeführt von Dr. Kai-Dietrich Nüsken
- Fürsorge der Nachkommen der operierten Versuchstiere sowie der nicht operierten Versuchstiere: Füttern, Messen, Wiegen
- Durchführung der Verhaltenstests nach initialer Anleitung durch Dr. med. Kai-Dietrich Nüsken
- Ermittlung der Daten mittels der Computersoftware EthoVision
- Statistische Auswertung der Daten mittels der Computersoftware GraphPadPrism und Interpretation der Ergebnisse

Dankenswerte Hilfe erhielt ich von:

- Frau Dr. Eva Nüsken und Herrn Dr. Kai-Dietrich Nüsken, die mir während der gesamten Umsetzung dieser Arbeit zur Seite standen.
- Den biologisch-technischen Assistenten unserer Arbeitsgruppe Herr Gregor Fink und Frau Maria Wohlfahrt.

Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 30.12.2023

Unterschrift:

## Danksagung

Großen Dank möchte ich Herrn Professor Dr. Jörg Dötsch und insbesondere meinen Betreuern Frau Dr. Eva Nüsken und Herrn Dr. Kai-Dietrich Nüsken sowie meinen biologisch-technischen Assistenten Gregor Fink und Maria Wohlfahrt für die großartige Betreuung und Unterstützung bei dieser Dissertation aussprechen.

Außerdem danke ich von ganzem Herzen meinem Ehemann Ilias Nazzal und meinen Freunden, die mich bei der Fertigstellung dieser Arbeit jederzeit unterstützt haben.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meinen Eltern, die mir meine Ausbildung ermöglicht haben und mich während der Fertigstellung dieser Arbeit durch die Betreuung meiner Tochter in besonderem Maße unterstützt haben.

Für meine Eltern

# Inhaltsverzeichnis

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>8</b>
<b>1. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>10</b>
<b>2. EINLEITUNG</b>	<b>11</b>
2.1. Intrauterine Wachstumsretardierung und fetale Programmierung	11
2.2. Neurokognitive und psychische Entwicklung unter IUGR	12
2.2.1. Brain spairing – Gehirnentwicklung unter IUGR	13
2.3. IUGR im Tiermodell	14
2.4. Geschlechtsspezifische Unterschiede nach IUGR	15
2.5. Fragestellungen und Ziel der Arbeit	16
<b>3. MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>17</b>
3.1. Tiermodell	17
3.1.1. Ligaturmodell (LIG)	17
3.1.2. Intrauteriner Stress (IUS)	18
3.2. Tierhaltung	18
3.3. EthoVision	20
3.4. Verhaltenstests	21
3.4.1. Open-Field Test	21
3.4.2. Elevated Zero Maze Test	23
3.4.3. Barnes Maze Test	24
3.5. Statistische Auswertung	30
<b>4. ERGEBNISSE</b>	<b>30</b>
4.1. Auswirkungen der verschiedenen Ursachen der IUGR auf den Phänotyp	30
4.1.1. Auswirkungen auf das Körpergewicht an P1, P7, P12 und P180	30
4.1.2. Auswirkung der experimentell induzierten IUGR auf das Gehirngewicht	33
4.1.3. Auswirkungen der experimentell induzierten IUGR auf das Verhältnis von Gehirngewicht zu Körpergewicht	35

<b>4.2.</b>	<b>Ergebnisse der Verhaltenstests</b>	<b>37</b>
4.2.1.	Open-Field Test - Untersuchung des explorativen Verhaltens	37
4.2.2.	Elevated Zero Maze – Untersuchung des Angstverhaltens	42
4.2.3.	Barnes Maze Test – Überprüfung des räumlichen Arbeitsgedächtnisses und der Lernfähigkeit	48
<b>4.3.</b>	<b>Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse</b>	<b>61</b>
4.3.1.	Auswirkungen des Ligaturmodells (LIG) und des intrauterinen Stress-Modells (IUS) auf Körper- und Gehirngewicht	61
4.3.2.	Zusammenfassung – Open-Field	63
4.3.3.	Zusammenfassung – Elevated Zero Maze	64
4.3.4.	Zusammenfassung – Barnes Maze	65
<b>5.</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>69</b>
<b>5.1.</b>	<b>IUGR-Phänotyp</b>	<b>69</b>
5.1.1.	Auswirkungen der experimentellen IUGR auf das Körpergewicht an P1, P2, P7 und P12	69
5.1.2.	Auswirkungen der experimentellen IUGR auf das Körpergewicht an P180	69
5.1.3.	Auswirkungen von IUGR auf das Gehirngewicht und die Ratio von Gehirn- zu Körpergewicht	70
<b>5.2.</b>	<b>Verhaltenstests</b>	<b>71</b>
5.2.1.	Open-Field – IUGR führt zu einem erhöhten Aktivitätslevel	71
5.2.2.	Elevated Zero Maze – IUGR scheint zu einem reduzierten Angstverhalten zu führen	72
5.2.3.	Barnes Maze – IUGR führt zu keiner Beeinträchtigung der räumlichen Orientierung oder der Lernfähigkeit	73
<b>5.3.</b>	<b>Geschlechtsspezifische Unterschiede</b>	<b>75</b>
<b>5.4.</b>	<b>Vorteile und Limitationen der verwendeten Methoden</b>	<b>75</b>
<b>6.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>77</b>
<b>7.</b>	<b>ANHANG</b>	<b>86</b>
7.1.	Abbildungsverzeichnis	86
7.2.	Tabellenverzeichnis	95
7.3.	Barnes Maze – weitere Graphen	96

## Abkürzungsverzeichnis

ADHS	Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Störung
A., Aa.	Arteria, Arteriae
BM	Barnes Maze Test
C	Kontrollgruppe
CI	Cephalisationsindex
cm	Zentimeter
E0	embryonaler Tag 0, d.h. der Tag des Vaginalpfropfens
E14	embryonaler Tag 14
E15	embryonaler Tag 15
E17	embryonaler Tag 17
E18	embryonaler Tag 18
E21	embryonaler Tag 21
E22	embryonaler Tag 22
E $\alpha$	Estrogenrezeptor-Alpha
EZM	Elevated Zero Maze Test
FB	Fluchtbox
FBP	Fluchtboxposition
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
IUGR	intrauterine Wachstumsretardierung
IUS	Intrauteriner Stress-Gruppe
IQ	Intelligenzquotient
LIG	Ligatur-Gruppe (bilaterale Ligatur Aa. und Vv. uterinae)

NaCl	Natriumchlorid
OF	Open-Field Test
P1	postnataler Tag 1
P2	postnataler Tag 2
P4	postnataler Tag 4
P7	postnataler Tag 7
P12	postnataler Tag 12
P180	postnataler Tag 180
s	Sekunden
V., Vv.	Vena, Venae

## 1. Zusammenfassung

Eine intrauterine Wachstumsretardierung (IUGR) führt zu fetalen Anpassungsmechanismen, welche Folgeerkrankungen im Erwachsenenalter begünstigen. Neben metabolischen, kardiovaskulären und renalen Folgeerkrankungen wird IUGR mit einem erhöhten Risiko für neurokognitive und psychische Erkrankungen assoziiert. Bei von IUGR betroffenen Kindern wurden im Vergleich zu Kindern mit normalem Geburtsgewicht häufiger neurokognitive Defizite und psychische Erkrankungen diagnostiziert. Aufgrund des meist klinischen, retrospektiven Charakters der Studien ist es schwer, kausale Zusammenhänge zwischen Ursache und neuropathologischer Folge herzustellen.

Ziel dieser Dissertation war es daher die neurokognitiven Folgen zweier unterschiedlicher, pathophysiologisch klar definierter IUGR-Modelle der Ratte zu untersuchen. Dazu wurde das Verhalten der Versuchstiere der beiden IUGR-Modelle (bilaterale Ligatur der Aa. und Vv. uterinae (LIG) und intrauteriner Stress (IUS) in Verhaltenstests mit einer Kontrollgruppe verglichen. Es wurden Verhaltenstests ausgewählt, welche das explorative Verhalten (Open-Field), das Angstverhalten (Elevated Zero Maze) sowie das räumliche Arbeitsgedächtnis und die Lernfähigkeit (Barnes Maze) überprüfen.

In den Ergebnissen dieser Arbeit kann dargestellt werden, dass eine durch bilaterale Ligatur der uterinen Gefäße verursachte IUGR sowie intrauteriner Stress bei den Nachkommen zu einem erhöhten Aktivitätsniveau führen. So verbringen die Weibchen der LIG- und IUS-Gruppe im Open-Field Test signifikant mehr Zeit im „inneren Bereich“ der Apparatur und signifikant weniger Zeit im „äußeren Bereich“ (LIG w jeweils  $p < 0,05$ ; IUS w jeweils  $p < 0,001$ ). Auch legen sie im inneren Bereich der Apparatur eine signifikant weitere Strecke zurück (LIG w  $p < 0,05$ ; IUS w  $p < 0,01$ ). Das Ergebnis passt zu den retrospektiven klinischen Studien mit von IUGR betroffenen Kindern. Hier konnte mehrfach nachgewiesen werden, dass IUGR zu einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von Aufmerksamkeits-Defizits-Hyperaktivitäts-Störung (ADHS) führt.

Im Elevated Zero Maze Test verbrachten die Testtiere der LIG-Gruppe sowie die Weibchen der IUS-Gruppe signifikant mehr Zeit im „freien Bereich“ der Apparatur und signifikant weniger Zeit im „geschützten Bereich“ (jeweils  $p < 0,05$ ). Somit scheint IUGR, verursacht durch eine bilaterale Ligatur der uterinen Gefäße oder intrauterinen Stress, zu einem erniedrigten Angstverhalten zu führen. Wobei in Erwägung gezogen werden muss, dass auch das erhöhte Aktivitätsniveau zu entsprechenden Verhaltensmustern führen kann und weniger ein erniedrigtes Angstverhalten per se. Zu letzterer Deutungsmöglichkeit würde auch passen, dass die o.g Gruppen im Elevated Zero Maze in der gesamten Arena eine signifikant weitere

Distanz zurücklegten (LIG m, IUS w jeweils  $p < 0,05$ ; LIG w  $p < 0,01$ ) und sich in einer höheren Geschwindigkeit fortbewegten (LIG m, LIG w jeweils  $p < 0,01$ , IUS w  $p < 0,05$ ).

Es konnte keine Beeinträchtigung der räumlichen Orientierung oder der Lernfähigkeit nachgewiesen werden. Das Ergebnis ist diskrepant zur aktuellen Studienlage, in welcher sowohl in retrospektiven klinischen Studien mit von IUGR betroffenen Kindern als auch in experimentellen Tiermodellen ein Zusammenhang zwischen IUGR und einer Beeinträchtigung der räumlichen Orientierung sowie der Gedächtnisleistung nachgewiesen werden konnte. Ein möglicher Erklärungsansatz für die Diskrepanz der Ergebnisse könnte darin liegen, dass in unserer Arbeit der Barnes Maze Test bei älteren Testtieren (P164) durchgeführt wurde. Zu diesem Zeitpunkt hatten die Testtiere das initial im Vergleich zur Kontrollgruppe geringe Körpergewicht wahrscheinlich im Sinne eines schnellen Aufholwachstums (*catch-up growth*) wieder aufgeholt. Sowohl in retrospektiven klinischen Studien als auch tierexperimentell konnte nachgewiesen werden, dass *catch-up growth* bei IUGR einen positiven Einfluss auf die neurokognitive Entwicklung und das Lernverhalten hat.

Es konnten keine geschlechtsspezifischen Unterschiede bezüglich der neurokognitiven Entwicklung festgestellt werden.

Zusammenfassend führen die von uns verwendeten IUGR-Modelle beide zu langfristigen neurokognitiven und psychischen Folgen in Form eines erhöhten Aktivitätsniveaus sowie eines verminderten Angstverhaltens. Die räumliche Orientierung sowie die Lernfähigkeit sind nicht beeinträchtigt. Weitere Studien sind erforderlich, um die kausalen Zusammenhänge zwischen IUGR und den neurokognitiven und psychischen Folgen auf verhaltensbiologischer Ebene zu erforschen.

## **2. Einleitung**

### **2.1. Intrauterine Wachstumsretardierung und fetale Programmierung**

Als intrauterine Wachstumsretardierung (IUGR) bezeichnet man einen Fetus, der aufgrund unterschiedlicher pathologischer Ursachen nicht sein optimales genetisches Wachstumspotenzial erreicht.<sup>1</sup> Die Ursachen sind vielfältig und können durch maternale, fetale, plazentare oder genetische Faktoren bedingt sein, welche in einer fetalen Wachstumsrestriktion resultieren.<sup>2</sup> Zur Diagnosestellung sind in der Regel mehrere anthropometrische Messungen während der Schwangerschaft erforderlich. Pathognomonisch für IUGR ist dabei das Abweichen der Perzentilenkurve im Laufe der fetalen Entwicklung nach unten.<sup>3</sup> Das Vorliegen von zusätzlichen pathologischen Befunden hinweisend auf eine IUGR, wie beispielsweise pathologische Befunde in der fetalen oder maternalen Dopplerultraschalluntersuchung, können zur Diagnosestellung hilfreich sein.<sup>4</sup> Die häufigste

Ursache einer IUGR stellt in den Industrienationen die plazentare Insuffizienz dar, welche in eine chronische Hypoxie und verminderte Versorgung des Fetus mit Nährstoffen resultiert.<sup>5</sup> Häufige mütterliche Risikofaktoren sind Schwangerschaftshypertonie, Präeklampsie, Nikotinabusus sowie das steigende Alter der Mütter.<sup>6</sup> Der Fetus ist auf eine zuverlässige maternale Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen angewiesen, um sein optimales genetisches Potenzial entfalten zu können. Kommt es zu einer intrauterinen Minderversorgung, werden fetale Anpassungsmechanismen entwickelt, welche sich langfristig auf zelluläre Prozesse, Organmorphologie und -funktion sowie epigenetische Faktoren auswirken. Dieser Prozess wird in der Literatur als „fetale Programmierung“ bezeichnet. Inzwischen konnte in zahlreichen Studien nachgewiesen werden, dass störende Faktoren in der vulnerablen, intrauterinen Phase, wie eine intrauterine Minderversorgung, durch den Prozess der fetalen Programmierung Folgeerkrankungen im Erwachsenenalter begünstigen.<sup>7</sup> Im Rahmen der fetalen Programmierung kommt es zu einer Anpassung der fetalen Homöostase, welche zu metabolischen Regulationsstörungen führen kann. So konnte nachgewiesen werden, dass IUGR das Risiko für die Entwicklung von kardiovaskulären Erkrankungen, Diabetes mellitus Typ 2, Dyslipidämie und Adipositas im Erwachsenenalter erhöht.<sup>7,8</sup> In weiteren epidemiologischen Studien konnte nachgewiesen werden, dass durch eine intrauterine Mangelversorgung auch das Risiko für die Entwicklung von Nierenerkrankungen steigt.<sup>9,10</sup> Neben den genannten metabolischen, kardiovaskulären und renalen Folgeerkrankungen wird eine IUGR auch mit einem erhöhten Risiko für neurokognitive und psychische Störungen assoziiert, worauf im Folgenden näher eingegangen werden soll.

## **2.2. Neurokognitive und psychische Entwicklung unter IUGR**

Von IUGR betroffene Kinder haben ein erhöhtes Risiko neurokognitive oder psychische Störungen zu entwickeln.<sup>11-12-13</sup> In einer Studie mit 123 Kindern konnten Leitner und seine Kollegen in einer prospektiven 10-Jahres Studie nachweisen, dass von IUGR betroffene Kinder im Vergleich zu Kindern mit normalem Geburtsgewicht neurokognitive Defizite sowie schlechtere schulische Leistungen aufweisen.<sup>14</sup> Verschiedene darauffolgende Studien konnten diese Beobachtung bestätigen.<sup>15-16-17</sup> Es konnte beobachtet werden, dass IUGR-Kinder Defizite in der räumlichen Orientierung sowie im Kurzzeitgedächtnis vorweisen.<sup>12,18</sup> Partanen et al. konnten unter IUGR-Kindern im Alter von acht bis 10 Jahren nachweisen, dass sie schlechter lesen und buchstabieren konnten als Kinder, die mit einem normalen Geburtsgewicht zur Welt kamen.<sup>19</sup> Die Defizite betreffen vor allem die Bereiche Lernen, Gedächtnis, Aufmerksamkeit, räumliche Orientierung und Sprachentwicklung. Neben intellektuellen Beeinträchtigungen wird IUGR auch mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von psychischen Erkrankungen assoziiert.<sup>20</sup> Es wurde eine lebenslang erhöhte Anfälligkeit für die Entwicklung von Depressionen und Angststörungen beschrieben.<sup>21</sup>

Insbesondere konnten unter Kindern mit IUGR ein erhöhtes Aufkommen von Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Störungen (ADHS) sowie Störungen der Exekutivfunktion beobachtet werden.<sup>22-23-24</sup> Durch die beschriebenen klinischen Beobachtungen von IUGR-Betroffenen kommt somit die Frage auf, wie sich IUGR auf die Gehirnentwicklung auswirkt. Hier soll die aktuelle Studienlage im Folgenden kurz angerissen werden.

### **2.2.1. Brain sparing – Gehirnentwicklung unter IUGR**

Kommt es zu einer intrauterinen Mangelversorgung des Fetus, zum Beispiel durch eine Plazentainsuffizienz der Mutter, resultiert dies in einer fetalen Hypoxie und Hypoglykämie.<sup>25</sup> Neben einer Verlangsamung der Wachstumsrate, reagiert der Fetus auf das verminderte Nährstoffangebot mit einer Anpassung des fetalen Blutflusses, um vor allem die Versorgung von Gehirn, Herz und Nebennieren zu sichern.<sup>26</sup> Durch den angepassten Blutfluss mit favorisierter Durchblutung des Gehirns kommt es zu einer asymmetrischen Wachstumsrestriktion, wodurch die Ratio von Gehirn- und Körpergewicht, auch Cephalisationsindex (CI) genannt, erhöht ist. Dieser Prozess wird als *brain sparing* bezeichnet.<sup>27</sup> Der *brain sparing* Effekt ist als Schutzmechanismus zu verstehen, um eine physiologische Entwicklung des Gehirns trotz intrauteriner Mangelversorgung zu ermöglichen. Doch trotz des schützenden Mechanismus konnten bei Betroffenen mit einer asymmetrischen IUGR neuropathologische Konsequenzen beobachtet werden.<sup>18</sup> Die neuropathologischen Folgen sind vielfältig und vor allem abhängig von der Schwere und dem Zeitpunkt der Minderversorgung.<sup>28,29</sup> In der Literatur wird zwischen *early-onset* und *late-onset* IUGR unterschieden. *Early-onset* IUGR wird bereits im zweiten Schwangerschaftsdrittel diagnostiziert. Eine so früh auftretende und langanhaltende Minderversorgung des Fetus ist häufig mit einer symmetrischen Wachstumsrestriktion und schweren neurologischen Folgen assoziiert.<sup>28</sup> Eine *late-onset* IUGR ist meist durch eine mildere maternale Plazentainsuffizienz bedingt und wird im letzten Schwangerschaftsdrittel diagnostiziert.<sup>30</sup> Als Folge der *late-onset* IUGR sind vor allem neurokognitive und psychische Störungen beschrieben.<sup>28</sup> In der vorliegenden Arbeit werden wir uns unter anderem mit der in den Industrienationen am häufigsten vorkommenden Form der IUGR beschäftigen – der *late-onset* IUGR bedingt durch eine maternale Plazentainsuffizienz.<sup>30</sup> In einem klar definierten experimentellen Tiermodell soll der Zusammenhang zwischen *late-onset* Plazentainsuffizienz und neurokognitiver und psychischer Entwicklung bei der Ratte beleuchtet werden. Außerdem sollen die Folgen einer durch intrauterinen Stress bedingten IUGR auf die langfristige neurokognitive und psychische Entwicklung bei der Ratte beleuchtet werden.

### 2.3. IUGR im Tiermodell

Die Ursachen, die zu einer IUGR führen, sind vielfältig. Die konsekutiven neurologischen und psychischen Folgen sind häufig multifaktoriell bedingt. Es ist schwer, anhand der meist klinischen, retrospektiven Studien die kausalen Zusammenhänge zwischen Ursache und neuropathologischer Folge herzustellen.<sup>10</sup> Experimentelle Tiermodelle können dabei helfen die unterschiedlichen pathophysiologischen Ursachen einer IUGR getrennt voneinander zu untersuchen und die daraus resultierenden morphologischen, zellulären und molekularen Mechanismen genauer zu beleuchten. Nicht nur das verminderte Geburtsgewicht, sondern die Ursache für die intrauterine Wachstumsretardierung ist maßgebend für die pathophysiologischen Folgen.<sup>31</sup> So konnte in einer Studie von Illa und Kollegen dargestellt werden, dass neurokognitive Defizite nach einer Plazentainsuffizienz wesentlich ausgeprägter sind als nach intrauteriner Mangeldiät.<sup>32</sup> Es sind Tiermodelle mit Ratten, Mäusen, Hamstern, Kaninchen und Schafen zur Erzeugung einer experimentellen IUGR bekannt.<sup>33–34–35–36–37</sup> Um eine IUGR bei den Nachkommen auszulösen, wurde die Möglichkeit der Kauterisation der Gefäße im Mesovarium des schwangeren Muttertieres beschrieben.<sup>38</sup> In einem weiteren Tiermodell wurde bei transgenen Mäusen die Expression von IGF-1 komplett ausgeschaltet, was zu einer schweren IUGR führt.<sup>39</sup> Bei Nagetieren wird eine experimentelle Plazentainsuffizienz zur Erzeugung einer IUGR in der Literatur häufig durch eine bilaterale Ligatur der kaudal gelegenen Aa. uterinae induziert.<sup>40,41</sup> Der Uterus wird anschließend auf beiden Seiten nur noch über die Aa. ovaricae von kranial versorgt. Wie ausgeprägt die IUGR bei den Nachkommen ist, ist abhängig von ihrer Lage im Uterushorn. Vor allem die ligaturnahen, kaudalen Feten sind von der IUGR betroffen.<sup>40,41</sup> In unserem Labor ist das Tiermodell der beidseitigen Ligatur (LIG) der Aa. uterinae bei der Ratte am 18. Tag der Schwangerschaft (der Tag des Vaginalpfropfens ist hier als 0. Tag der Schwangerschaft definiert) gut etabliert. Es soll eine late-onset IUGR beim Menschen nachgestellt werden. Der operative Eingriff macht zwei Kontrollgruppen erforderlich. Eine Gruppe scheinoperierter Ratten, welche die identische Operation durchleben, bei denen die Ligatur jedoch nicht vollzogen wird, dient als Kontrolle für den chirurgischen Eingriff an sich. Mittlerweile konnte gezeigt werden, dass auch der chirurgische Eingriff an sich, durch den ausgelösten intrauterinen Stress (IUS), zu einer signifikanten Wachstumsretardierung bei den Nachkommen führt, so dass eine weitere Gruppe in das Modell integriert wurde, die keinerlei Einflüssen während der Schwangerschaft ausgesetzt war und als übergeordnete, unbeeinträchtigte Kontrollgruppe (C) für beide Formen der IUGR dient.<sup>41</sup> Kein Tiermodell schafft es, alle multifaktoriellen Ursachen und Konsequenzen einer IUGR in sich zu vereinen, aber jedes Tiermodell gibt uns die Möglichkeit, die Anpassungsmechanismen auf die durch unterschiedliche Ursachen bedingte intrauterine Hypoxie und Hypoglykämie genauer zu verstehen.<sup>30</sup> In dieser Dissertation sowie im übergeordneten DFG-Projekt sollen die oben

erwähnten IUGR-Tiermodelle genutzt werden, um die Auswirkung einer durch late-onset Plazentainsuffizienz induzierte sowie durch intrauterinen Stress induzierte IUGR auf die langfristige neurokognitive Entwicklung zu beleuchten.



**Abb. 1** Phänotyp der Nachkommen aus unserem experimentellen Tiermodell: Ligatur der Aa. uterinae (links), intrauteriner Stress (Mitte) und der Kontrollgruppe ohne Eingriff (rechts) am postnatalen Tag 1 (Foto: K.-D. Nüsken, 2007; publiziert in Alejandre Alcazar et al., 2016).

#### **2.4. Geschlechtsspezifische Unterschiede nach IUGR**

In klinischen Studien konnte eine erhöhte Anfälligkeit des männlichen Geschlechtes für die Entwicklung von durch IUGR bedingten neurologischen Beeinträchtigungen dargestellt werden.<sup>42, 24</sup> Auch in Experimenten mit IUGR Tiermodellen konnte eine erhöhte neurologische Vulnerabilität des männlichen Geschlechtes nachgewiesen werden.<sup>43</sup> Mithilfe von IUGR-Tiermodellen wurden bereits molekularbiologische Faktoren entdeckt, die möglicherweise Erklärungsansätze für die in der Literatur beschriebene geschlechtsspezifische neurologische Vulnerabilität beim Menschen liefern.<sup>24</sup> Dazu gehören zum Beispiel geschlechtsspezifische Veränderungen epigenetischer Faktoren im Hippocampus, der Testosteron-Blutkonzentration, der hippocampalen Aromatase des Estrogenrezeptors Alpha (E $\alpha$ ) und des 17-Beta-Estradiol-Spiegels im Hippocampus.<sup>44-45-46</sup> Estrogen und sein Rezeptor sind an der physiologischen Programmierung der hippocampalen Entwicklung beteiligt.<sup>46</sup> Daher ist es auch ein Ziel dieser Arbeit, geschlechtsspezifische Unterschiede in der langfristigen neurokognitiven Entwicklung nach IUGR zu erfassen.

## **2.5. Fragestellungen und Ziel der Arbeit**

Ziel dieser Arbeit ist es, die langfristigen neurokognitiven Folgen einer intrauterinen Wachstumsretardierung, bedingt durch experimentelle Plazentainsuffizienz oder intrauterinen Stress, bei der Ratte darzustellen.

Folgende Fragen sollen im Rahmen dieser Arbeit beantwortet werden:

- Führt eine Wachstumsretardierung bedingt durch experimentelle Plazentainsuffizienz oder intrauterinen Stress zu einer langfristigen neurokognitiven Beeinträchtigung?
- Gibt es geschlechtsspezifische Unterschiede bezüglich der neurokognitiven Entwicklung?

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1. Tiermodell**

Sämtliche tierexperimentelle Verfahren wurden gemäß den Richtlinien der Bezirksregierung Köln durchgeführt (LANUV AZ 84-02.04.2012.A316). Zur Durchführung der Experimente wurden befruchtete Wistar Ratten vom Anbieter Janvier am Schwangerschaftstag E14 oder E15 erworben.

Zum Erreichen einer experimentellen IUGR bei den Nachkommen wurden die Muttertiere folgenden Einflüssen ausgesetzt:

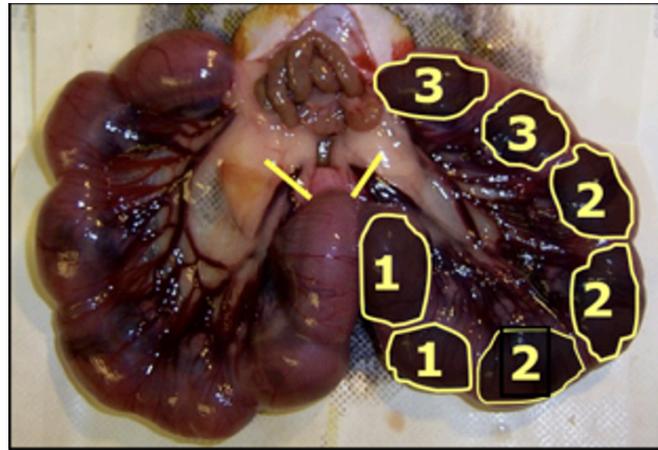
- Bilaterale Ligatur der Aa. und Vv. uterinae (LIG)
- Intrauteriner Stress (IUS)

Die Nachkommen beider Gruppen wurden mit den Nachkommen von nicht beeinflussten Wistar Ratten einer Kontrollgruppe (C) verglichen.

##### **3.1.1. Ligaturmodell (LIG)**

Wir verwendeten das bei uns etablierte Tiermodell der bilateralen Ligatur der Aa.- und Vv. uterinae (LIG) zur Erzeugung einer experimentellen uteroplazentaren Insuffizienz der Muttertiere während der Schwangerschaft, welche zu einer IUGR bei den Nachkommen führt. Die Ratten wurden am 18. Tag ihrer ersten Schwangerschaft (E18, der Tag des Vaginalpfropfens wurde als E0 definiert) operiert. Um eine wurfgrößenabhängige Beeinflussung zu vermeiden, wurden nur Nachkommen von Tieren in die LIG-Gruppe eingeschlossen, welche mindestens neun und maximal 16 lebende Feten in sich trugen, wobei sich mindestens je vier Feten in einem Uterushorn befinden mussten. Die Entscheidung ob sich ein Tier für die Ligaturgruppe eignet, wurde daher intraoperativ getroffen. Vor dem geplanten Eingriff wurden die Tiere initial mit Isofluran 5% und anschließend 2,5% Isofluran in einem 50:50 Luft-Sauerstoffgemisch narkotisiert. Zusätzlich folgte eine subkutane Injektion mit Metamizol (100mg/kgKG) zur Analgesie. Nachdem sichergestellt wurde, dass sich die Tiere im Zustand der chirurgischen Toleranz befanden, folgte eine ca. 3 cm große Laparotomie. Der Bauchraum wurde steril abgedeckt und der Uterus extraabdominal gelagert. Währenddessen wurde er durch Zufuhr von 37°C warmer 0,9% NaCl-Lösung feucht und warmgehalten. Die Aa.- und Vv. uterinae wurden lokalisiert und am möglichst kaudalen Teil mit einem 6-0 Prolene-Faden ligiert. Anschließend wurde der Uterus zurück in den Bauchraum verlagert und die Bauchdecke mit einem 4-0 Prolene-Faden wieder zugenäht. Die Tiere wurden postoperativ überwacht und erhielten Tramadol (2,5mg/100 ml nach GV-Solas) als Schmerzmittel.<sup>41, 31</sup> Die uteroplazentare Blutversorgung wird nach der Ligatur der uterinen Gefäße vor allem durch die Aa.- und Vv. ovaricae gewährleistet. Es kommt zur Minderversorgung der kaudalen Nachkommen. Je näher eine fetoplazentare Einheit an der Ligatur liegt, desto mehr ist sie von

der Minderversorgung betroffen. Für die Ligatur-Gruppe wurden jeweils die vier kleinsten und somit ligaturnahen Nachkommen eines Wurfes ausgewählt.



**Abb. 2** Intraoperativ freigelegter Uterus während der Ligatur der Aa. und Vv. uterinae. Die gelbe Linie stellt die Lokalisatin der Ligatur dar. (Quelle: Dr. Kai Nüsken, aufgenommen während der Ligaturoperationen im Rahmen des dieser Arbeit übergeordneten DFG-Projektes)

### 3.1.2. Intrauteriner Stress (IUS)

Die schwangeren Wistar-Ratten der IUS-Gruppe wurden ebenfalls am 18. Tag der Schwangerschaft (E18) analog zu dem oben beschriebenen chirurgischen Eingriff operiert mit dem Unterschied, dass der 6-0 Prolene-Faden die uterinen Gefäße nicht ligierte, sondern anschließend wieder entfernt wurde. Auch in diese Gruppe wurden nur Nachkommen von Muttertieren eingeschlossen, welche mindestens neun und maximal 16 lebende Feten in sich trugen. Bei fehlender Ligatur war die Lage der fetoplazentaren Einheit hier nicht relevant. Diese Gruppe diente als Kontrolle des chirurgischen Eingriffs. Die IUS-Gruppe ist jedoch nicht als unbeeinträchtigt anzusehen, da die Nachkommen auch einen IUGR-Phänotyp zeigen.<sup>41,31</sup> Eine Gruppe nicht operierter Muttertiere (C) diente daher als übergeordnete Kontrollgruppe für die Gruppen LIG und IUS.

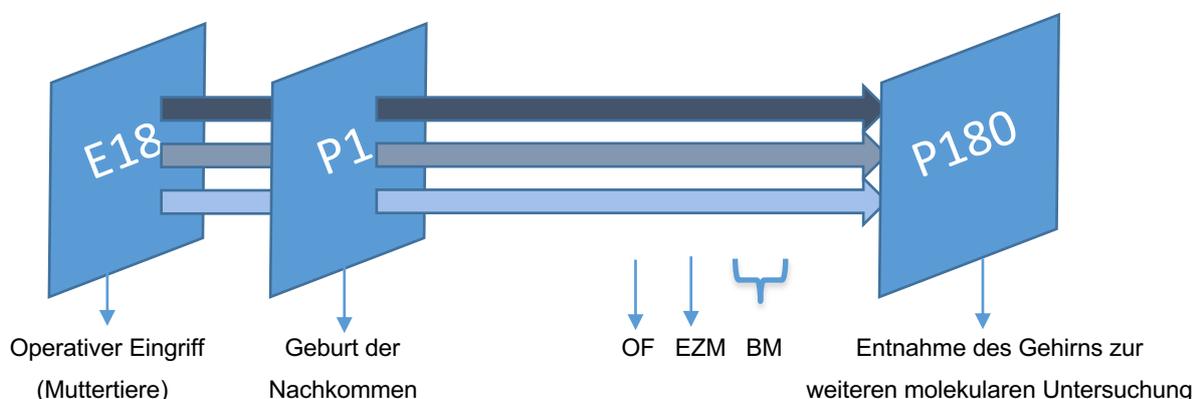
### 3.2. Tierhaltung

Während der Schwangerschaft wurden alle schwangeren Wistar-Ratten unter denselben Standardbedingungen gehalten. Die Nachkommen wurden alle spontan an E21 oder E22 geboren. 12 – 24 h nach der Geburt (P2) wurden sie von ihren Muttertieren getrennt und zur Aufzucht Kontrollmüttern übergeben, welche als Ammen dienten. Die Verteilung der Nachkommen folgte dabei, abgesehen vom Geschlecht, dem Zufallsprinzip. Jeder Kontrollmutter wurde ein Wurf mit acht Nachkommen zur Aufzucht übergeben. Hier wurde

darauf geachtet jeder Amme, vier männliche und vier weibliche Nachkommen zur Aufzucht zu geben. Die Wurfgröße von acht wurde gewählt, um postnatal weder eine Über- noch eine Unterernährung zu induzieren, sondern einen ausgewogenen Zugang zum Muttertier zu gewährleisten. Die Zusammenstellung der Würfe nennt sich „Fostering“. Dabei wurden LIG-Nachkommen, IUS-Nachkommen und C-Nachkommen zufällig einer Kontrollmutter zugeteilt. Dies diente letztendlich dazu, in allen experimentellen Gruppen möglichst gleiche und normale postnatale Bedingungen herzustellen, so dass das Zeitfenster des Mangels in den IUGR Gruppen klar auf die Zeit zwischen der Operation und der Geburt begrenzt wurde. Alle Nachkommen und Kontrollmütter wurden mit demselben Standardfutter (Altromin, C1000) und Leitungswasser versorgt. Die Nachkommen wurden an P1, P2, P4, P7, P12 sowie anschließend wöchentlich von mir gewogen, um eine Habituation an meine Person zu erreichen. So sollte verhindert werden, dass die Ergebnisse der später durchgeführten Verhaltenstests durch die Aufregung der Testtiere, aufgrund der Anwesenheit einer für sie fremden Person, verfälscht würden. Für die Verhaltenstests wurden 55 Tiere, bestehend aus 25 männlichen und 30 weiblichen Tieren aus allen drei Gruppen untersucht. Am 150. postnatalen Tag wurde der Open-Field Test durchgeführt. Am 157. postnatalen Tag wurde der Zero Maze Test durchgeführt und am 164. postnatalen Tag führten wir den Barnes Maze Test durch. Für die anschließende molekulare und histologische Untersuchung der Gehirne wurden die Tiere an P180 getötet und die Gehirne entnommen.

Gruppe	Anzahl der Nachkommen
LIG	6 m; 10 w = 16
IUS	7 m; 8 w = 15
C	12 m; 12 w = 24

**Tabelle 1** Anzahl der männlichen und weiblichen Tiere pro Versuchsgruppe

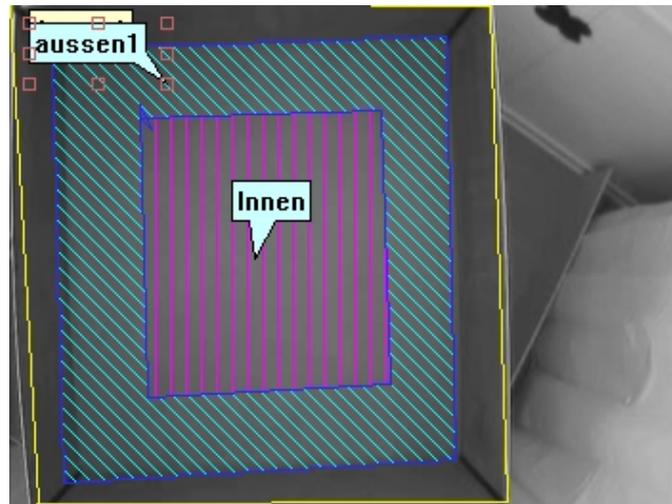


**Abb. 3** Zeitlicher Ablauf des Experiments OF= Open-Field Test, EZM = Elevated Zero Maze Test, BM = Barnes Maze Test

Alle Verhaltenstests wurden abends/nachts zwischen 18:30 Uhr und 22:30 Uhr durchgeführt, da Ratten nachtaktive Tiere sind. Umgebungsgeräusche wurden gemieden, um das Verhalten der Tiere nicht zu beeinflussen. Während der Tests befand nur ich mich im Raum. Der Bereich, in dem die Testapparaturen aufgebaut waren, war vom restlichen Raum mit bis zur Decke reichenden weißen Vorhängen abgetrennt. Nach jedem Testdurchgang wurden die Apparaturen mit verdünnter Essigsäure gereinigt, um olfaktorische Reize zu vermeiden. Alle Apparaturen bestanden aus gut zu reinigendem Material. Die Testtiere wurden in einer mit Streu ausgelegten Transportbox zur Verhaltenstest-Apparatur transportiert. Nach Abschluss des Tests wurden sie in dieser wieder in ihre „Heimkäfige“ zurücktransportiert. Nach jedem Tier wurde die Box erneut mit verdünnter Essigsäure gereinigt und die Streu ausgetauscht. Alle Verhaltenstests wurden mit einer an der Decke befestigten Videokamera aufgezeichnet. Die digitalen Videos wurden anschließend mit einer Computer Software namens EthoVision ausgewertet.

### **3.3. EthoVision**

EthoVision ist eine Computer-Software der Firma Noldus, welche ihren Hauptsitz in Wageningen (Niederlande) hat. EthoVision ist eine in der Wissenschaft häufig genutzte Videotracking-Software, um das Verhalten von Testtieren zu analysieren. Die zuvor mit der Videokamera aufgezeichneten digitalen Videos wurden mit Ethovision ausgewertet. Die Computer-Software kann mithilfe eines implementierten Algorithmus, durch den Kontrast zwischen dem Versuchstier und dem Hintergrund das Tier erkennen und unter anderem den Laufweg des Tieres „tracken“ (also nachverfolgen). Der Hintergrund, in unserem Fall die Versuchsanlage, kann mithilfe des Programms in verschiedene Zonen unterteilt werden (Abb. 4). So können verschiedene Messparameter für die einzelnen Zonen separat bestimmt werden.



**Abb. 4** Unterteilung der Open-Field Arena mithilfe der Computer-Software Ethovision in einen inneren und einen äußeren Bereich.

### **3.4. Verhaltenstests**

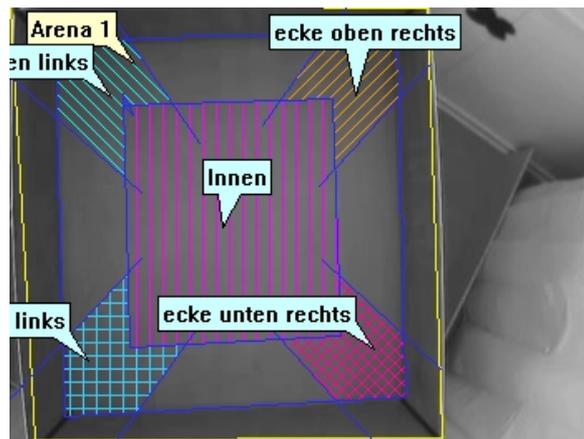
#### **3.4.1. Open-Field Test**

Am 150. postnatalen Tag führten wir den Open-Field Test durch. Dieser bereits 1935 von Hall beschriebene Verhaltenstest ist ein in der Soziologie gut etablierter Test um das Angstverhalten sowie das explorative Verhalten der Tiere unter denselben Standardbedingungen zu untersuchen. Der Test basiert auf der verhaltensbiologischen Beobachtung, dass Ratten das Betreten einer ihnen unbekanntem Freifläche ohne Rückzugsmöglichkeit, die ihnen Schutz gewähren könnte, meiden. Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Open-Field Apparatur besteht aus einer rechteckigen Arena (100 x 100 cm) und umwandenden 40 cm hohen Wänden. Die Versuchstiere können die Arena somit nicht verlassen. Die Decke ist offen. Die Arena und die Wände sind in einem dunklen Grauton gefärbt (Abb. 5). Um den Tag-Nacht-Rhythmus der Tiere nicht zu stören und dennoch ausreichend Licht für die Videoaufnahmen zu gewährleisten, wurde die Arena mit Rotlicht ausgeleuchtet. Dieses können die Ratten aufgrund fehlender Fotorezeptoren nicht wahrnehmen. Zu Beginn wurden die Testtiere immer einheitlich in dieselbe Ecke (oben rechts) gesetzt. Anschließend durften sie die Arena für 10 Minuten frei explorieren. Das Verhalten der Tiere wurde mit einer über der Arena befestigten Videokamera aufgezeichnet. Alle Videos wurden anschließend mit der Computer-Software EthoVision ausgewertet. Wir werteten die ersten fünf der insgesamt zehn Minuten aus. Für die Auswertung unterteilten wir die Arena

mithilfe von EthoVision in einen „inneren“ und einen „äußeren“ Bereich (Abb. 4). In der gesamten Arena wurden die Parameter „Zurückgelegte Distanz“ (cm) sowie die „Geschwindigkeit“ (cm/s) der Testtiere untersucht. In den Bereichen „innen“ und „außen“ wurden die Parameter „zurückgelegte Distanz“ (cm), „verbrachte Zeit“ (s) und „Geschwindigkeit“ (cm/s) untersucht. In dem Bereich „innen“ wurde zusätzlich der Parameter „Frequenz“ des Betretens untersucht. In vorigen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die Versuchstiere sich vorzugsweise in den Ecken der Apparatur aufhielten, da sie sich dort aufgrund der zwei umwandeten Wände geschützt fühlten. Vorzugsweise hielten sich die Tiere in derselben Ecke auf, welche als „Home Base“ beschrieben wurde.<sup>47</sup> Wir erstellten daher zusätzlich die Zonen „Ecke oben links“, „Ecke oben rechts“, „Ecke unten links“ und „Ecke unten rechts“ (Abb. 6). Diese wurden auf die Parameter „verbrachte Zeit“ (s) und „Frequenz“ des Betretens untersucht.



**Abb. 5** Die Open-Field Arena durfte für 10 Minuten frei exploriert werden. Der Test ist in der Soziologie ein gut etablierter Test um das Angstverhalten sowie das explorative Verhalten der Tiere unter denselben Standardbedingungen zu untersuchen.

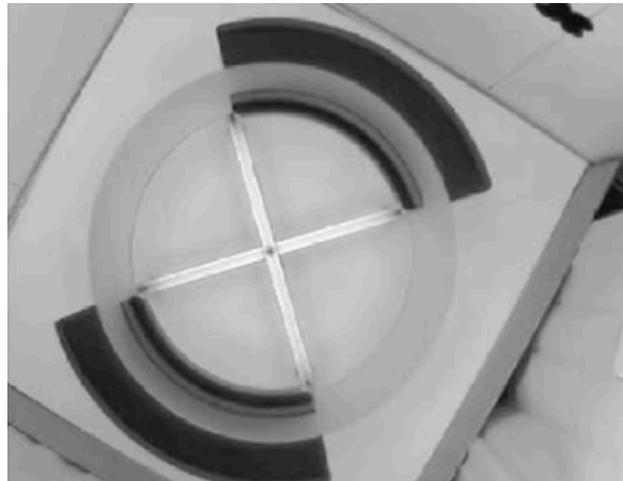


**Abb. 6** Einteilung der Open-Field Arena in die Bereiche „innen“, „Ecke oben links“, „Ecke oben rechts“, „Ecke unten links“ und „Ecke unten rechts“ für die weitere Auswertung.

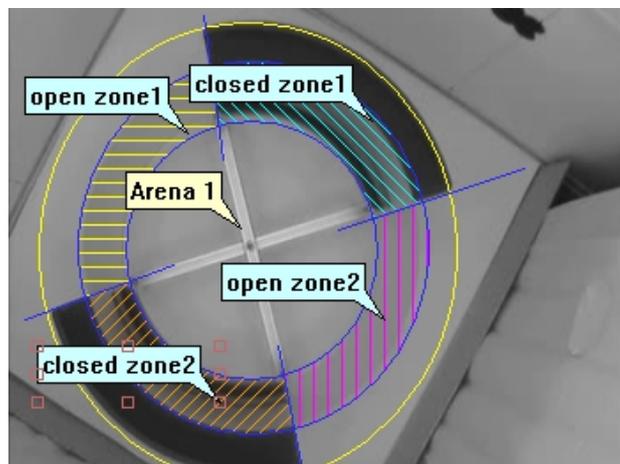
### 3.4.2. Elevated Zero Maze Test

Am 157. postnatalen Tag führten wir den Elevated Zero Maze Test durch. Dieser Test ist ein in der Wissenschaft gut validiertes Verfahren, um das Angstverhalten von insbesondere Ratten und Mäusen im Rahmen verschiedener Fragestellungen zu untersuchen. Das Elevated Zero Maze ist ein auf vier 70 cm hohen Beinen aufgestellter, kreisrunder Laufsteg mit einem Durchmesser von 100 cm. Der Laufsteg hat eine Breite von 12 cm. Er beinhaltet zwei offene und zwei umwandete Bereiche (Abb. 7). Auch hier wurde die Arena während des Tests mit Rotlicht ausgeleuchtet. Der Test arbeitet mit der Angst der Ratten vor freien Flächen sowie der angeborenen Höhenangst von Nagetieren. Die unbewandeten Bereiche im Elevated Zero Maze stellen für das Testtier eine reale Gefahr dar, da es hier von der Apparatur abrutschen und auf den Boden fallen konnte. Der Boden wurde daher in diesem Test mit Schaumstoff ausgelegt, um Verletzungen der Ratten nach einem möglichen Sturz zu verhindern. Die Testtiere wurden einheitlich mit dem Kopf auf die rechte Seite des oberen geschlossenen Bereiches zeigend in das Elevated Zero Maze gesetzt. Anschließend konnten sie die Arena für 10 Minuten frei erkunden. Das Verhalten der Ratten wurde mit einer Videokamera, welche über der Apparatur befestigt wurde, aufgezeichnet. Die digitalen Videos wurden ebenfalls mit EthoVision ausgewertet. Für die Auswertung unterteilten wir die Arena in vier Zonen. Die zwei bewandeten Bereiche und die zwei nicht bewandeten Bereiche. Die beiden bewandeten Viertel wurden als „geschützter Bereich“ zusammengefasst. Die beiden nicht bewandeten Bereiche wurden für die Auswertung als „freier Bereich“ zusammengefasst (Abb. 8). In der gesamten Arena untersuchten wir die Parameter „Zurückgelegte Distanz“ (cm) und „Geschwindigkeit“ (cm/s). In den Bereichen „geschützt“ und „frei“ untersuchten wir jeweils die Parameter, „Zurückgelegte Distanz“ (cm), „Geschwindigkeit“ (cm/s), „Verbrachte Zeit“ (s) und

„Frequenz“. Wir werteten die ersten drei sowie die ersten sechs Minuten des Videomaterials aus.



**Abb. 7** Elevated Zero Maze von oben fotografiert. Das Elevated Zero Maze ist eine auf vier Beinen aufgestellte kreisrunde Apparatur mit zwei bewandeten und zwei unbewandeten Vierteln.

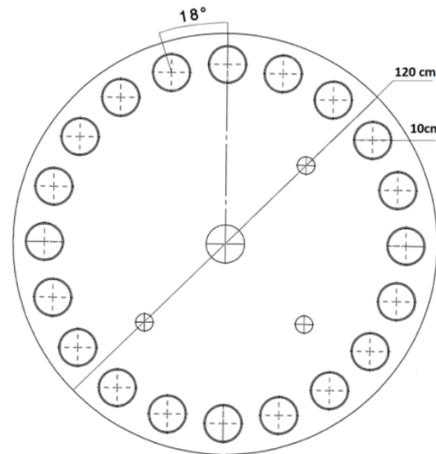


**Abb. 8** Die Unterteilung der Arena mithilfe der Computer-Software Etho-Vision. In der Abbildung bezeichnen die Zonen „closed zone 1“ und „closed zone 2“ den geschützten Bereich und die beiden Zonen „open zone 1“ und „open zone 2“ den freien Bereich.

### 3.4.3. Barnes Maze Test

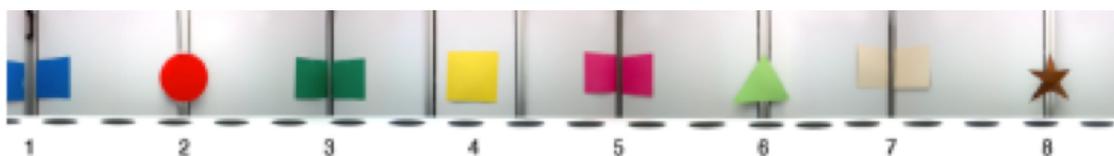
Am 164. postnatalen Tag führten wir den Barnes Maze Test durch. Der Barnes Maze Test wurde erstmals 1979 von Dr. Carol Barnes durchgeführt und ist ein Test zur Untersuchung der Lernfähigkeit sowie des räumlichen Arbeitsgedächtnisses. Auch hier basiert der Test auf der

verhaltensbiologischen Beobachtung, dass Ratten freie Flächen meiden und daher motiviert sind eine Rückzugsmöglichkeit zu finden. Die Barnes Maze Apparatur besteht aus zwei aufeinanderliegenden kreisrunden Platten mit einem Durchmesser von 120 cm. Am Rand der oberen Platte sind in regelmäßigen Abständen 20 Löcher mit einem Durchmesser von 10 cm und einer Tiefe von sechs cm eingelassen (Abb. 9).



**Abb. 9** Schematische Darstellung des Barnes Maze. Dargestellt ist die obere kreisrunde Platte mit einem Durchmesser von 120 cm. Am Rand der oberen Platte sind in regelmäßigen Abständen 20 Löcher mit einem Durchmesser von 10 cm und einer Tiefe von 6 cm eingelassen.

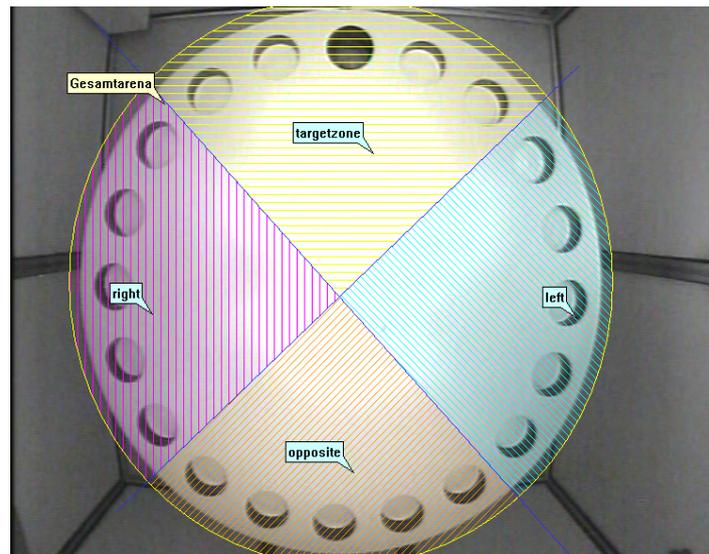
19 der Löcher enden blind. Nur eines der 20 Löcher führt in eine dunkle Fluchtbox. Diese lässt sich verschließen und seitlich aus dem Maze herausziehen. Die Ratten können so nach Eintritt in die Fluchtbox leicht von der Fluchtbox in ihre Transportbox zurücktransportiert werden. Die untere Platte ist mit einem 80 cm hohen fahrbaren Untergestell verbunden. Die obere Platte lässt sich um ihre eigene Achse drehen. Somit können Loch- und Fluchtboxposition beliebig geändert werden. In unserem Versuch waren acht verschiedene Fluchtboxpositionen möglich. Rund um das Barnes Maze herum haben wir an den Vorhängen unterschiedliche, bunte Symbole angebracht, welche den Ratten als visuelle Hilfe bei der räumlichen Orientierung dienen sollten (Abb. 10). Die Arena wurde mit hellem Weißlicht ausgeleuchtet, damit das Testtier seine Umgebung visuell wahrnehmen konnte.



**Abb. 10** Acht unterschiedliche Symbole, welche rund um die Barnes Maze Apparatur angebracht waren. Die Symbole markierten die acht verschiedenen Fluchtboxpositionen und dienten der Ratte zur visuellen Orientierung.

Der Versuch war in einen Habituationstag und einen Testtag aufgeteilt. Am Habituationstag sollten die Testtiere lernen, dass sie sich ausschließlich in der Fluchtbox zurückziehen und das Barnes Maze nur über diese verlassen können. Auch sollten sie die Angst vor der Fluchtbox verlieren, um sie künftig nach ihrer Lokalisation schnellstmöglich anzusteuern. Der Habituationstag diente außerdem dazu, den Testtieren die Möglichkeit zu geben sich die Fluchtboxposition zu merken. Beide Tage liefen nach einem ähnlichen Schema ab. Jedes Testtier durchlief pro Tag vier Durchgänge. Mithilfe einer Zufallstabelle wurde initial für jedes Tier eine Fluchtboxposition festgelegt (Position 1 – 8). Anhand von Markierungen am Boden, welche die jeweilige Position 1 - 8 festlegten, konnte das Barnes Maze mithilfe des fahrbaren Untergestells in die entsprechende Position gerückt werden. Anschließend wurde mit einer weiteren Zufallstabelle die Anzahl der Lochpositionen ermittelt, um die die obere Plattform gedreht werden sollte. Dies diente der Randomisierung von olfaktorischen Spuren, die trotz der Reinigung der Platte mit verdünnter Essigsäure noch vorhanden sein könnten. Zuletzt wurde ein Zylinder in die Mitte des Barnes Maze gestellt. Die Position des Zylinders war zuvor markiert worden, so dass er sich immer in derselben Position, genau in der Mitte des Barnes Maze befand. Der Zylinder war ein schwarzer Papierkorb aus Plastik, dessen Boden entfernt wurde. Die Ratte wurde zu Beginn jedes Durchgangs für 30 Sekunden in die Mitte des Zylinders gesetzt, um anfängliche Bewegungsrichtungen zu randomisieren. Nach 30 Sekunden wurde der Zylinder entfernt und die Ratte hatte maximal 10 Minuten Zeit die Fluchtboxposition ausfindig zu machen. Der Versuchsdurchgang endete, wenn die Ratte in die Fluchtbox eintrat. Wurde die Zeit überschritten, war es wichtig, dass die Ratte dennoch sanft in die Fluchtbox geleitet und nur über diese in die Transportbox zurückgebracht wurde, da sie lernen sollte, dass sie das Barnes Maze ausschließlich über die Fluchtbox verlassen kann. Am Habituationstag lagen zwischen den vier Durchgängen jeweils fünf Minuten Pause. Die Fluchtboxposition blieb für jedes Testtier in allen vier Durchgängen dieselbe. In der Fluchtbox lag Streu aus, damit sie für die Ratte einladender wirkte. Nach jedem Testdurchgang wurden die Apparatur und auch die Fluchtbox mit verdünnter Essigsäure gereinigt und die Streu in der Fluchtbox ausgetauscht. Nachdem bei jedem Tier am Habituationstag vier Durchgänge erfolgreich durchgeführt worden waren, konnte am nächsten Tag der Testtag beginnen. Am Testtag lief der Versuchsablauf identisch wie oben beschrieben ab, allerdings mit dem Unterschied, dass zwischen den Durchgängen 15 Minuten Pause eingehalten wurden. Des Weiteren wurde die Fluchtboxposition im vierten Durchgang gewechselt. Hiermit sollte einerseits die Flexibilität des Testtieres überprüft werden, andererseits sollte untersucht werden, ob es sich an die alte Fluchtboxposition erinnert. Die neue Fluchtboxposition wurde ebenfalls mithilfe einer Zufallstabelle ermittelt. Beim vierten Durchgang am Testtag wurde die Streu aus der Fluchtbox entfernt, um einen olfaktorischen Einfluss der Streu auf das Ergebnis auszuschließen. Für die Auswertung unterteilten wir die Arena in insgesamt 11 Zonen. Hierzu

viertelten wir initial die Arena in vier gleichgroße Bereiche. Das Viertel, in welchem sich die Fluchtbox befand, bezeichneten wir als Zielzone 1 („target zone 1“). Die weiteren Viertel wurden in Abhängigkeit von der Lage zur Zielzone 1 als Zone rechts- und links der Zielzone 1 („right zone“, „left zone“) sowie als Zone gegenüber der Zielzone 1 („opposite zone“) bezeichnet (Abb. 11). Die Fluchtbox selbst war eine eigene Zone („Fluchtboxposition“). Die Zielzone 1 wurde als kumulative Zone, bestehend aus Zielzone und Fluchtboxposition, ausgewertet.

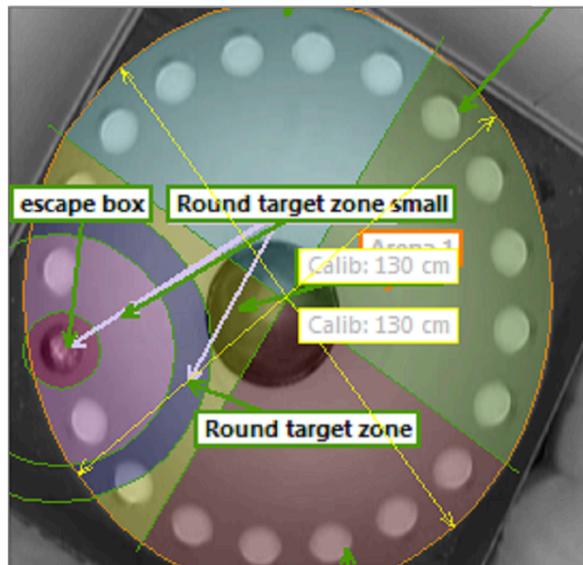


**Abb. 11** Arenaprofil: Einteilung der Barnes Maze Arena mithilfe der Computersoftware EthoVision. Das Barnes Maze wurde hierzu in vier gleichgroße Zonen eingeteilt. Die Zone, welche die Fluchtbox beherbergte, wurde als „target zone“ bezeichnet. Die weiteren Viertel wurden in Abhängigkeit von der Lage zur Zielzone als Zone rechts und links („right zone“, „left zone“) sowie als Zone gegenüber der Zielzone („opposite zone“) bezeichnet.

Da die Zielzone 1 recht groß ist und daher Betretungen möglicherweise zufällig erfolgten, etablierten wir die optimale Größe einer wirklich relevanten Zielzone. Dafür kreierten wir zunächst zwei weitere Zielzonen mit unterschiedlicher Größe rund um das Fluchtloch zur Fluchtbox:

- eine runde Zielzone 2 mit einem Durchmesser von 72 cm, in dessen Mitte sich die Fluchtbox befand
- und eine runde Zielzone 3 mit einem Durchmesser von 54 cm, in dessen Mitte sich die Fluchtbox befand

Alle in dieser Arbeit berichteten Ergebnisse zur „Zielzone“ beziehen sich fortan auf die Ergebnisse aus der Zielzone 2, welche in den Graphen somit die Bezeichnung „Zielzone“ trägt.



**Abb. 12** Um Verfälschungen der Ergebnisse durch eine möglicherweise zu große Zielzonenwahl zu verhindern kreierten wir insgesamt drei Zielzonen. Davon zwei runde Zielzonen mit unterschiedlichem Durchmesser um die Fluchtbox herum um die Ergebnisse später vergleichen zu können. Der Bereich „Round target zone“ entspricht der Zielzone 2. Der Bereich „Round target zone small“ entspricht der Zielzone 3.

Wie bereits oben erwähnt wurde die Fluchtboxposition am Testtag im vierten Durchgang geändert. Um untersuchen zu können, ob das Testtier die Fluchtbox in der ursprünglichen Position sucht, wurde der vierte Durchgang zweimal mit unterschiedlichen Arenaprofilen ausgewertet. Einmal mit dem neuen Arenaprofil, welches sich durch die neue Fluchtboxposition ergab. Das zweite Mal mit dem ursprünglichen Arenaprofil, welches sich aus der ursprünglichen Fluchtboxposition ergab. Die Zonen wurden hier entsprechend in „alte Zielzone 1“, „alte Zielzone“, „alte Zielzone 3“ und „alte Fluchtboxposition“ umbenannt.

Alle unten dargestellten Ergebnisse sind am Testtag entstanden. Wir führten die Gruppenvergleiche LIG – C und IUS – C innerhalb jedes der vier Durchgänge für die Parameter (Parameter 1) „Zurückgelegte Distanz“ (cm) in der gesamten Arena und nach wieviel Sekunden das Testtier in die Fluchtbox eintritt [Parameter 2: „Zeit bis zum Eintreten in die Fluchtbox“ (s)] durch. Zum visuellen Vergleich der zeitlichen Entwicklung, stellten wir die entsprechenden Graphen vom 1.-3. Durchgang nebeneinander im selben Graphen dar [Parameter 3: „Zeit bis zum Eintreten in die Fluchtbox Performance“]. Da im vierten Durchgang die Fluchtboxposition geändert wurde, wurde dieser im zuletzt erwähnten Graphen nicht mitberücksichtigt. In vorigen Arbeiten konnte auch im Sinne eines Habituationseffektes beobachtet werden, dass die Tiere bei mehreren Wiederholungen des Versuchs die Fluchtbox zwar finden, allerdings nicht eintreten, um die Umgebung weiter erkunden zu können.<sup>48</sup> Daher führten wir zusätzlich den Parameter (Parameter 4) „Zeit vom Finden bis zum Eintreten in die

Fluchtbox“ (s) ein. Innerhalb jedes Durchgangs wurden zunächst wieder die Gruppenvergleiche LIG – C und IUS – C ausgewertet. Auch hier stellten wir die entsprechenden Graphen von jedem Durchgang innerhalb desselben Geschlechts zum visuellen Vergleich im selben Graphen dar [Parameter 5: „Zeit vom Finden- bis zum Eintreten in die FB Performance“]. Des Weiteren untersuchten wir nach wieviel Sekunden das Testtier die Fluchtboxposition das erste Mal entdeckte [Parameter 6: „Zeit bis zum Finden der Fluchtbox“ (s)] und führten Gruppenvergleiche innerhalb der Durchgänge durch. Hier stellten wir ebenfalls die Zeiten vom 1.-4. Durchgang zum visuellen Vergleich innerhalb des selben Graphens dar, um einen möglichen Lernprozess und im Weiteren einen möglichen Habituationsprozess zu erkennen [Parameter 7: „Zeit bis zum Finden der Fluchtbox Performance“]. Im vierten Durchgang wurde hier das ursprüngliche Arenaprofil verwendet, damit der Lernprozess derselben Fluchtboxposition dargestellt werden kann.

In der Zielzone untersuchten wir in jedem Durchgang die Vergleiche LIG – C und IUS – C hinsichtlich der Parameter (Parameter 8) „verbrachte Zeit“ (s) und (Parameter 9) „Zurückgelegte Distanz“ (cm). Im vierten Durchgang untersuchten wir zusätzlich in der ursprünglichen Zielzone diese Parameter. Außerdem wurde die Zeit gemessen, die das Tier benötigte, bis es das erste Mal die ehemalige Zielzone betrat [Parameter 10: „Zeit bis zum Betreten der alten Zielzone“, (s)] und dafür die o.g. Gruppenvergleiche durchgeführt.

Es wurden noch weitere Parameter bestimmt, welche wir nach interner Diskussion der Ergebnisse für unsere Fragestellung jedoch als nicht relevant werteten. Sie werden in den Ergebnissen daher nicht mehr aufgeführt. Der Vollständigkeit halber werden sie hier erwähnt. Die jeweiligen Graphen wurden dem Anhang hinzugefügt. Es wurde noch der Parameter Geschwindigkeit in der gesamten Arena in allen vier Durchgängen untersucht (Geschwindigkeit (cm/s)). Die von uns für die Ergebnisse verwendete Zielzone sowie die ehemalige Zielzone im vierten Durchgang wurden zusätzlich in allen vier Durchgängen auf den Parameter „Frequenz“ untersucht. Zusätzlich wurde in der Zielzone der Parameter „Zeit bis zum Betreten der Zielzone“ untersucht. Die Zielzone 1 und im vierten Durchgang die ehemalige Zielzone 1 wurden auf den Parameter „verbrachte Zeit (s)“ untersucht. Die Zielzone 3 und im vierten Durchgang die ehemalige Zielzone 3 wurden auf die Parameter „verbrachte Zeit“, „zurückgelegte Distanz“, „Frequenz“ und „Zeit bis zum Betreten der Zone“ untersucht. Die Fluchtboxzone und im vierten Durchgang die ehemalige Fluchtboxzone wurden auf den Parameter „Frequenz“ untersucht.

### **3.5. Statistische Auswertung**

Die Ergebnisse wurden mithilfe der Computer-Software Graphpad Prism 7 illustriert und ausgewertet. Vor der statistischen Auswertung wurden zunächst Ausreißer mit dem Grubb's Test ausgeschlossen. Pro Datensatz wurde maximal ein Ausreißer ausgeschlossen. Zur Ermittlung von signifikanten Unterschieden zwischen den drei Gruppen (LIG – C, IUS – C pro Parameter) innerhalb des Geschlechts wurde zunächst der nichtparametrische Kruskal-Wallis Test (One-way ANOVA) und anschließend der Dunn's Test verwendet. Im Falle der Ermittlung eines signifikanten Unterschiedes wurde dieser mit dem Bonferroni-adjustierten Mann-Whitney-U-Tests kontrolliert. Bei Vergleichen unterschiedlicher Zeitpunkte wurde analog vorgegangen, jedoch wurden immer nur die Daten einer Gruppe mit derselben Gruppe zu einem anderen Zeitpunkt verglichen.

## **4. Ergebnisse**

### **4.1. Auswirkungen der verschiedenen Ursachen der IUGR auf den Phänotyp**

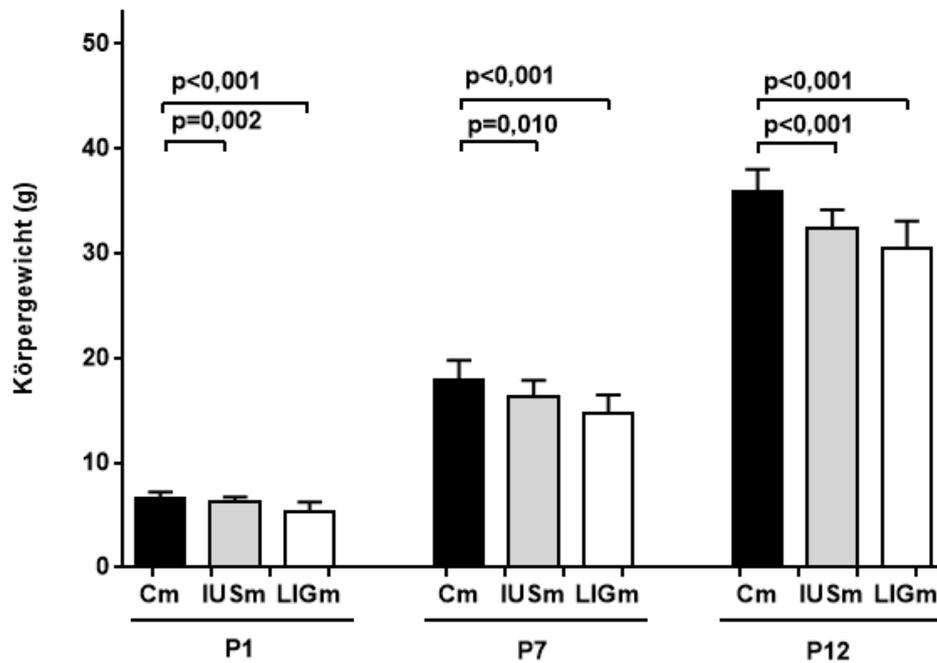
Im Rahmen des dieser Arbeit übergeordneten DFG-Projektes wurde das unter Material und Methoden dargestellte Tiermodell entsprechend in weiteren wissenschaftlichen Arbeiten aus unserer Arbeitsgruppe verwendet. Die Testtiere der Gesamtkohorte wurden an P1, P7 und P12 bezüglich des Körpergewichts, des Gehirngewichts sowie des Quotienten aus Gehirngewicht und Körpergewicht verglichen. Die Testtiere, mit welchen in dieser Arbeit gearbeitet wurde, wurden ebenfalls an P180 bezüglich des Körpergewichts, Gehirngewichts sowie des Quotienten aus Gehirngewicht und Körpergewicht verglichen. Die Ergebnisse werden hier aufgeführt. Die dargestellten Daten sind auch in den Dissertationen von Lisa Sprenger, Laura Oberholz, Mira J. Wingender und Charlotte S. Schömig enthalten.

#### **4.1.1. Auswirkungen auf das Körpergewicht an P1, P7, P12 und P180**

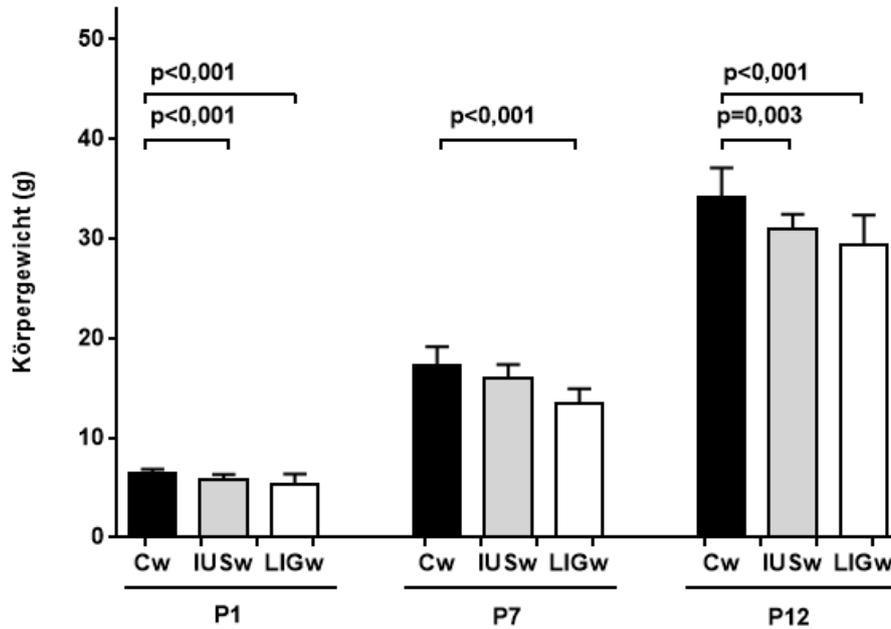
Um die Auswirkung der experimentell induzierten plazentaren Insuffizienz (LIG) sowie die Auswirkungen des induzierten intrauterinen Stresses (IUS) bezüglich des postnatalen Gewichtes sowie des Verlaufes des Gewichtes zu untersuchen, wurde das Gewicht der Nachkommen mit dem der Kontrollgruppe C an P1, P7 und P12 bestimmt und verglichen. Die männlichen Nachkommen beider Gruppen kommen im Vergleich zur Kontrollgruppe mit einem signifikant geringeren Körpergewicht zur Welt. Dieser signifikante Unterschied bleibt bis P12 bestehen, wobei die LIG-Männchen stärker von dem Gewichtsunterschied betroffen sind (Abb. 13: P1, LIG m  $p < 0,001$ , IUS m  $p < 0,002$ ; P7, LIG m  $p < 0,001$ , IUS m  $p < 0,01$ ; P12, LIG m  $p < 0,001$ , IUS m  $p < 0,001$ ). Auch die LIG-Weibchen kommen mit einem signifikant geringeren Körpergewicht zur Welt (Abb. 14: LIG w  $p < 0,001$ ). Diese Signifikanz bleibt auch hier bis P12

bestehen (Abb. 14: LIG w jeweils  $p < 0,001$ ) und ist stärker ausgeprägt als bei den IUS-Weibchen. Die IUS-Weibchen zeigen ebenfalls eine signifikante Wachstumsrestriktion an P1 und an P12 (Abb. 14: IUS w P1,  $p < 0,001$ ; P12, IUS w  $p < 0,003$ ). Sie ist an P12 jedoch abnehmend und an P7 gar nicht vorhanden.

Es kann somit nachgewiesen werden, dass die Nachkommen beider Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe postnatal eine signifikante Wachstumsrestriktion vorweisen. Die Nachkommen der LIG-Gruppe sind am stärksten von der Wachstumsrestriktion betroffen.

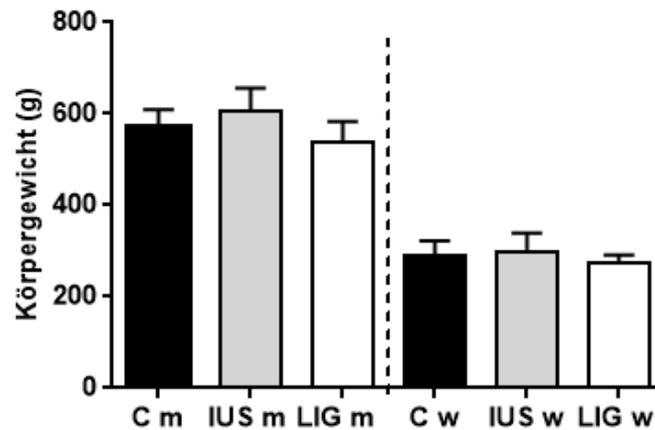


**Abb. 13** Körpergewicht (g) der Männchen (P1: C n=27, LIG n=22, IUS n=28; P7: C n=26, LIG n=14, IUS n=17; P12: C n=16, LIG n=13, IUS n=15) im Verlauf von P1 bis P12



**Abb. 14** Körpergewicht (g) der Weibchen (P1: C n=20, LIG n=19, IUS n=20; P7: C n=24, LIG n=16, IUS n=14; P12: C n=14, LIG n=14, IUS n=13) im Verlauf von P1 bis P12.

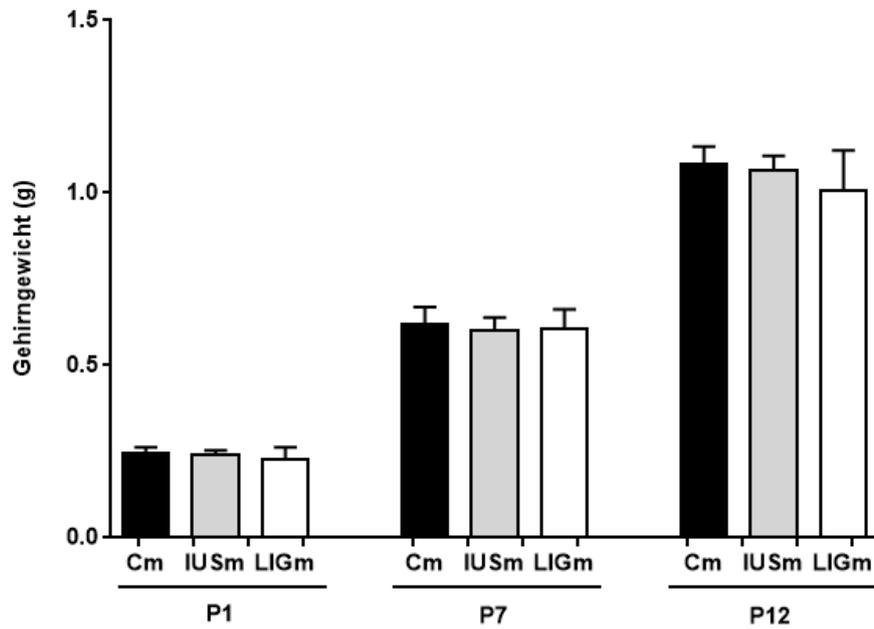
Um die Auswirkung der experimentell induzierten IUGR bezüglich des Körpergewichts im Verlauf einordnen zu können wurden alle männlichen und weiblichen Testtiere am 180. postnatalen Tag gewogen und das Körpergewicht zwischen den unterschiedlichen Gruppen, innerhalb des gleichen Geschlechts miteinander verglichen. Wie in Abb. 15 dargestellt, holten die Testtiere den initial bestehenden Gewichtsrückstand im Verlauf wieder auf. Man kann somit annehmen, dass es zu dem Zeitpunkt, an dem die Verhaltenstests durchgeführt wurden, keinen signifikanten Unterschied mehr bezüglich des Körpergewichts zwischen den unterschiedlichen Gruppen gab.



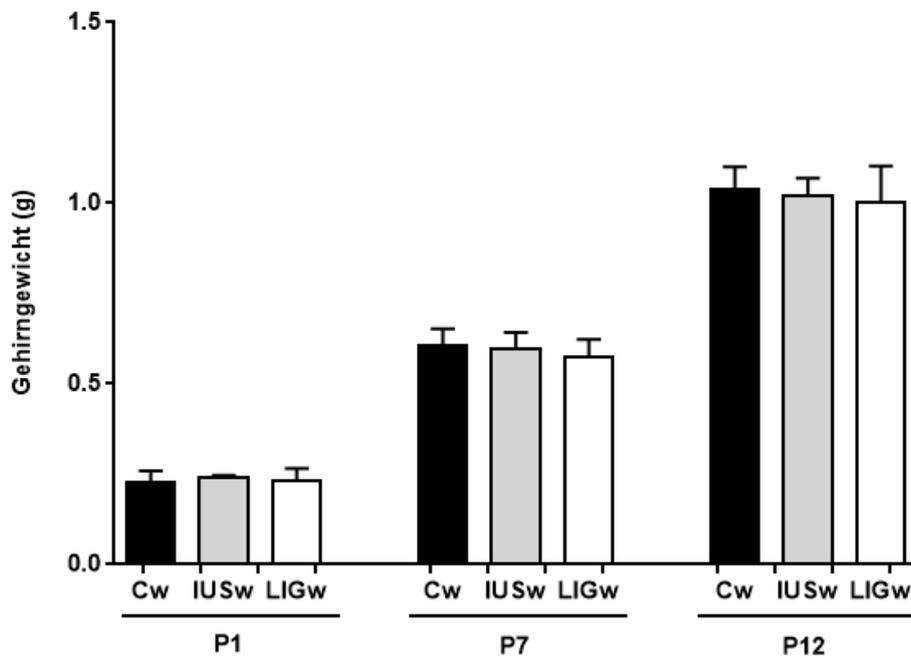
**Abb. 15** Körpergewicht (g) der Männchen (C n=6, IUS n=7, LIG n=6) und Weibchen (C n=10, IUS n=8, LIG n=10) an P180.

#### 4.1.2. Auswirkung der experimentell induzierten IUGR auf das Gehirngewicht

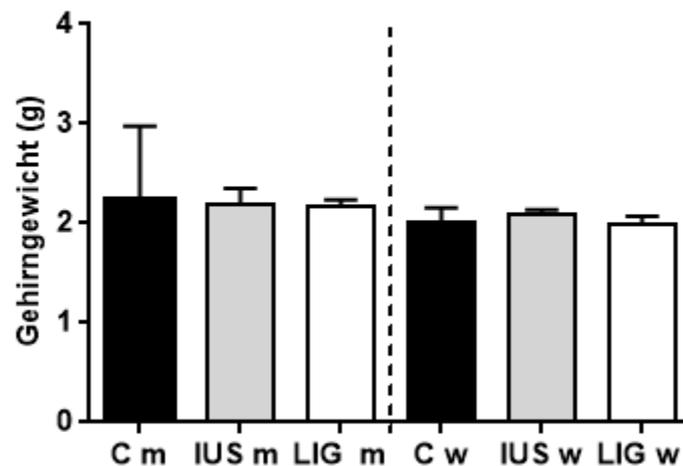
Um die Auswirkungen der experimentell induzierten IUGR auf das Gehirngewicht zu untersuchen, wurde das Gehirngewicht aller weiblichen und männlichen Testtiere an P1, P7, P12 und P180 gewogen und miteinander verglichen. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede innerhalb des Geschlechts zwischen den unterschiedlichen Gruppen (Abb. 16; Abb. 17; Abb. 18), obwohl das Körpergewicht der Testtiere wie oben aufgeführt an P1, P7 und P12 im Vergleich zur Kontrollgruppe noch signifikant vermindert war. IUGR scheint keinen Einfluss auf das Gehirngewicht zu haben.



**Abb. 16** Absolutes Gehirngewicht (g) der Männchen (P1: C n=27, LIG n=22, IUS n=28; P7: C n=26, LIG n=14, IUS n=17; P12: C n=16, LIG n=13, IUS n=15) im Verlauf von P1 bis P12.



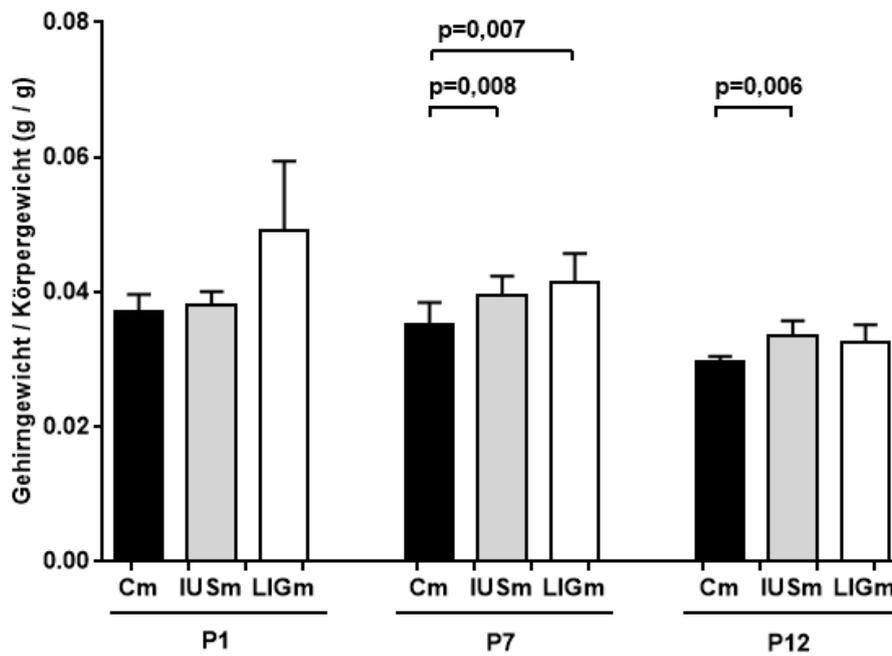
**Abb. 17** Absolutes Gehirngewicht (g) der Weibchen (P1: C n=20, LIG n=19, IUS n=20; P7: C n=24, LIG n=16, IUS n=14; P12: C n=14, LIG n=14, IUS n=13) im Verlauf von P1 bis P12.



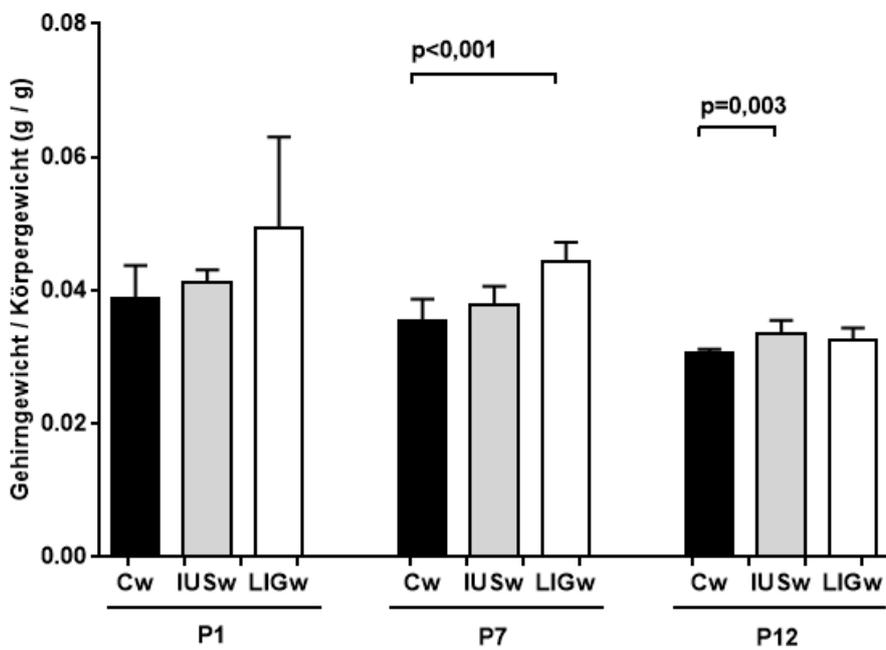
**Abb. 18** Absolutes Gehirngewicht (g) der Männchen (C n=6, LIG n=6, IUS n=7) und Weibchen (C n=10, LIG n=10, IUS n=8) an P180.

#### 4.1.3. Auswirkungen der experimentell induzierten IUGR auf das Verhältnis von Gehirngewicht zu Körpergewicht

Aufgrund des in der Literatur beschriebenen Effekts des *brain sparing*s setzten wir das ermittelte Gehirngewicht in Verhältnis zum jeweiligen Körpergewicht, um mögliche Unterschiede verdeutlichen zu können. Die Ratio Gehirngewicht/Körpergewicht war bei den Männchen und Weibchen der LIG-Gruppe an P7 erhöht (Abb. 19: P7, LIG m  $p < 0,007$ ; Abb. 20: P7, LIG w 0,001). In der IUS-Gruppe war die Ratio bei den Männchen an P7 und P12 erhöht (Abb. 19: P7, IUS m  $p < 0,008$ , P12,  $p < 0,006$ ). Bei den IUS-Weibchen zeigte sich ebenfalls eine erhöhte Ratio an P12 (Abb. 20: IUS w,  $p < 0,003$ ).

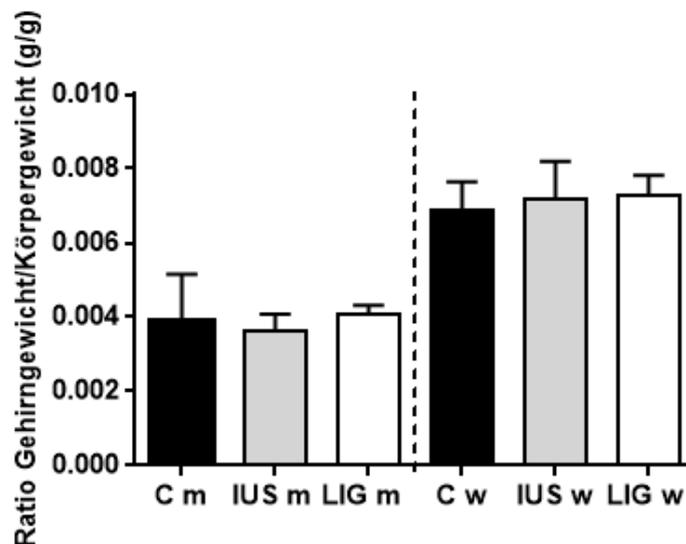


**Abb. 19** Relatives Gehirngewicht (g/gKG) der Männchen (P1: C n=27, LIG n=22, IUS n=28; P7: C n=26, LIG n=14, IUS n=17; P12: C n=16, LIG n=13, IUS n=15) im Verlauf von P1 bis P12.



**Abb. 20** Relatives Gehirngewicht (g/gKG) der Weibchen (P1: C n=27, LIG n=22, IUS n=28; P7: C n=26, LIG n=14, IUS n=17; P12: C n=16, LIG n=13, IUS n=15) im Verlauf von P1 bis P12.

Am 180. postnatalen Tag ergaben sich durch das angegliche Körpergewicht keine signifikanten Unterschiede mehr zwischen den Gruppen bezüglich der Ratio Gehirngewicht und Körpergewicht (Abb. 21).



**Abb. 21** Relatives Gehirngewicht (g/gKG) der Männchen (C n=6, IUS n=7) und Weibchen (C n=10, IUS n=8) an P180.

## 4.2. Ergebnisse der Verhaltenstests

Zur Überprüfung der Folgen von durch placentare Insuffizienz bzw. durch intrauterinen Stress verursachter IUGR auf die langfristige neurokognitive Entwicklung bei der Ratte führten wir Verhaltenstests durch. Wir konzentrierten uns auf Verhaltenstests welche sich in vorigen Studien als zuverlässig zur Überprüfung des explorativen Verhaltens (Open-Field), des Angstverhaltens (Elevated Zero Maze) sowie zur Überprüfung des Lernverhaltens und des räumlichen Arbeitsgedächtnisses (Barnes Maze) erwiesen haben.

### 4.2.1. Open-Field Test - Untersuchung des explorativen Verhaltens

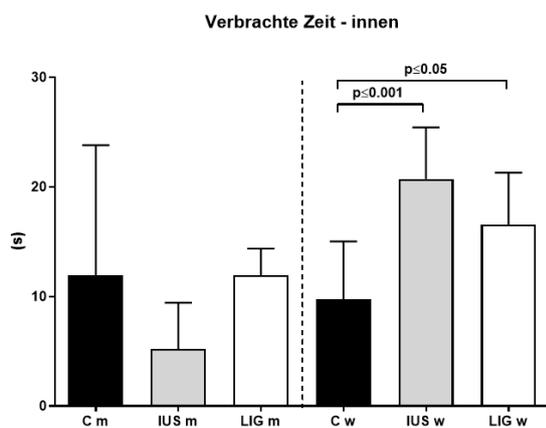
Der Test basiert auf der verhaltensbiologischen Beobachtung, dass Ratten offene Flächen meiden, da sie sich dort in der freien Natur nicht vor Raubtieren schützen können. Übertragen auf die Open-Field Apparatur bedeutet dies, dass sich die Ratten entlang der Wände geschützt fühlen. In vorigen Arbeiten konnte ein „Home Base“-Verhalten der Tiere nachgewiesen werden.<sup>47</sup> Unter einer Homebase versteht man einen Ort in einer neuen Umgebung in dem sich das Testtier bevorzugt aufhält und zu dem es immer wieder zurückkehrt. Für die Auswertung unterteilten wir die Arena in einen Bereich „außen“ entlang

der Wände, einen Bereich „innen“ sowie in die Ecken „-oben links“, „-oben rechts“, „-unten links“ und „-unten rechts“.

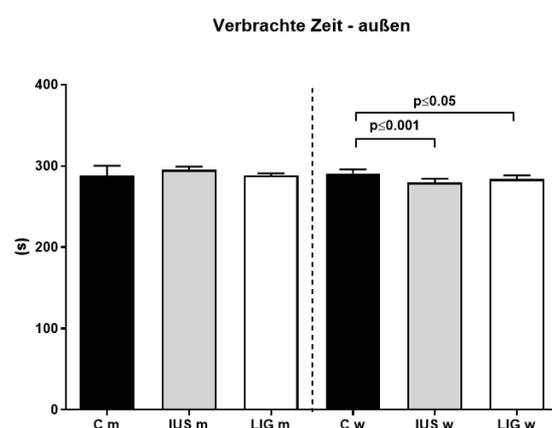
Ein vermehrtes Aufhalten der Tiere im äußeren Bereich der Arena sowie in den Ecken der Arena wird mit einem geringeren explorativen Verhalten assoziiert. Entsprechend wird ein häufiges Aufhalten im inneren Bereich der Arena als vermehrtes exploratives Verhalten gewertet.

Bezogen auf die Kontrolltiere konnte nachgewiesen werden, dass sich die weiblichen Testtiere der IUS- und IUS-Gruppen über einen signifikant längeren Zeitraum im inneren und somit ungeschützten Bereich der Apparatur aufhielten (Abb. 22 (rechte Seite): IUS w  $p < 0,05$ ; IUS w  $p < 0,001$ ), dazu passend eine signifikant kürzere Zeit im äußeren Bereich der Apparatur verbrachten (Abb. 23 (rechte Seite): IUS w  $p < 0,05$ ; IUS w  $p < 0,001$ ) und eine signifikant weitere Strecke im inneren Bereich der Apparatur zurücklegten (Abb. 24 (rechte Seite): IUS w  $p < 0,05$ ; IUS w  $p < 0,01$ ). Zusätzlich betraten die weiblichen IUS-Tiere auch signifikant häufiger den inneren Bereich der Apparatur (Abb. 25 (rechte Seite): IUS w  $p < 0,05$ ) und bewegten sich dort signifikant langsamer als die weiblichen Kontrolltiere (Abb. 26 (rechte Seite): IUS w  $p < 0,05$ ).

22)

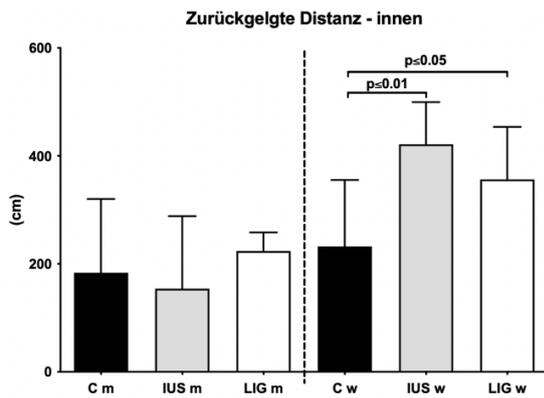


23)



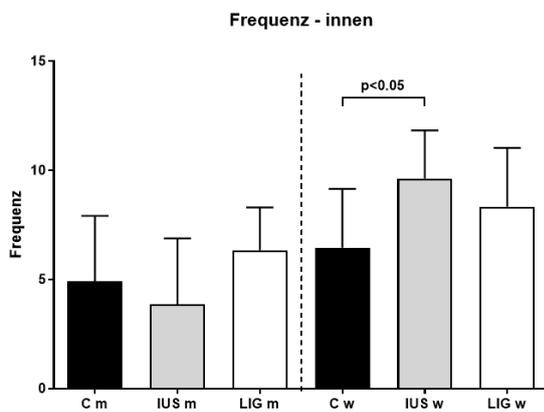
**Abb. 22** Verbrachte Zeit im „inneren“ Bereich der Open-Field Apparatur in Sekunden. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 23** Verbrachte Zeit im „äußeren“ Bereich der Open-Field Apparatur in Sekunden. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6.

24)

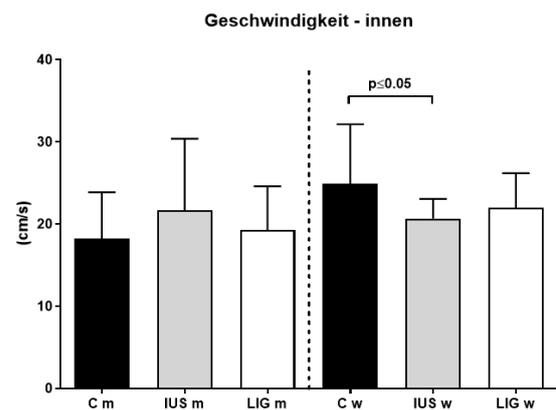


**Abb. 24** Durchschnittliche zurückgelegte Strecke in cm im inneren Bereich der Open-Field Arena. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

25)



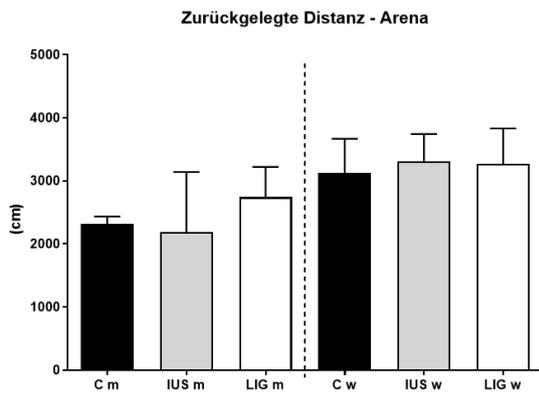
26)



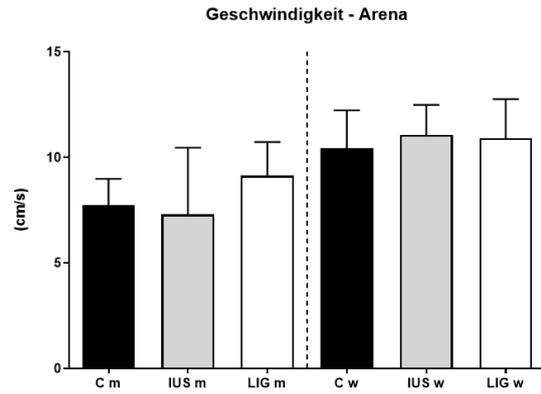
**Abb. 25** Die weiblichen Testtiere der Gruppe IUS betreten signifikant häufiger den inneren Bereich im Vergleich zu den weiblichen Kontrolltieren. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 26** Durchschnittliche Geschwindigkeit in cm/s der Testtiere im inneren Bereich der Arena. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

In der gesamten Arena sowie im Bereich „außen“ konnten bezüglich der Parameter „Zurückgelegte Distanz“ und „Geschwindigkeit“ keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen nachgewiesen werden (Abb. 27 - 30).

27)

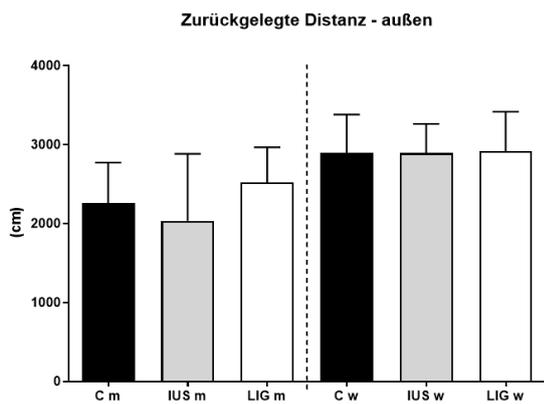


28)

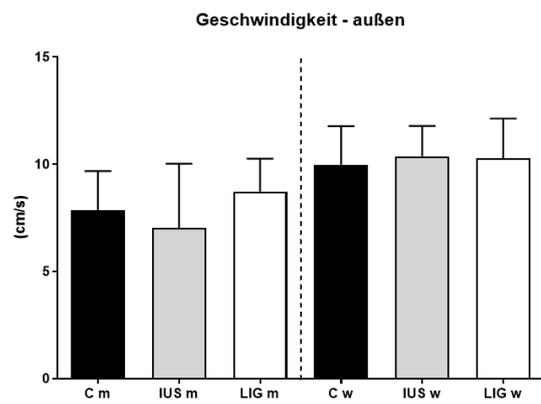


**Abb. 27** Zurückgelegte Distanz in cm in der gesamten Arena. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 28** Durchschnittliche Geschwindigkeit der Testtiere in cm/s in der gesamten Open-Field Arena. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

29)



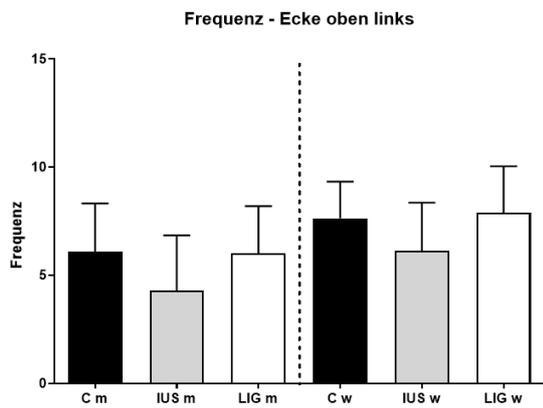
30)



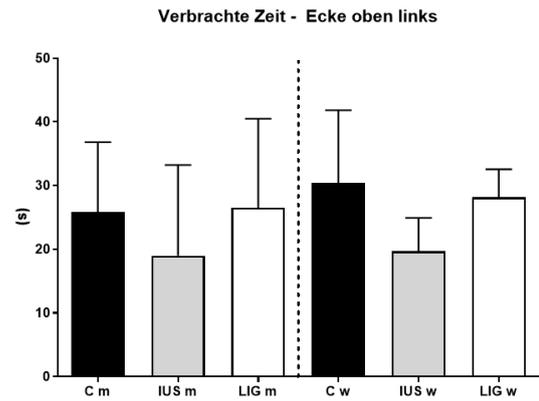
**Abb. 29** Zurückgelegte Distanz in cm in äußeren Bereich der Arena. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 30** Durchschnittliche Geschwindigkeit der Testtiere in cm/s im äußeren Bereich der Open-Field Arena. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

In den Ecken „-oben links“, „-oben rechts“, „-unten links“ und „-unten rechts“ ergaben sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede unter den jeweiligen Gruppen in den untersuchten Parametern „Frequenz“ und „Verbrachte Zeit“ (Abb. 31 – 38). Ein „Homebase“-Verhalten konnte somit nicht nachgewiesen werden.

31)

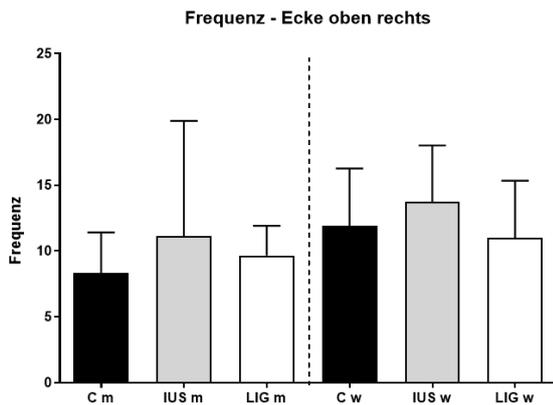


32)

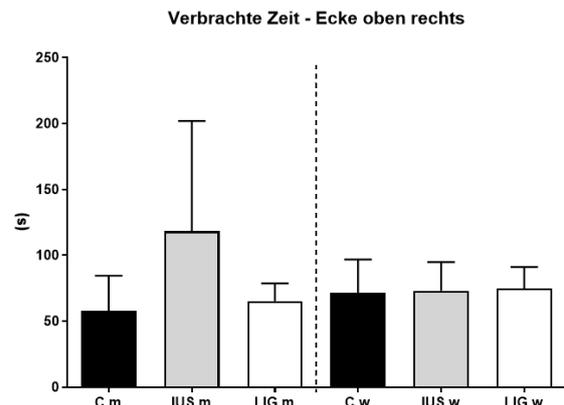


**Abb. 31** Parameter „Frequenz“ in dem Bereich „Ecke oben links“. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 32** Parameter „Verbrachte Zeit“ in der „Ecke oben links“. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

33)

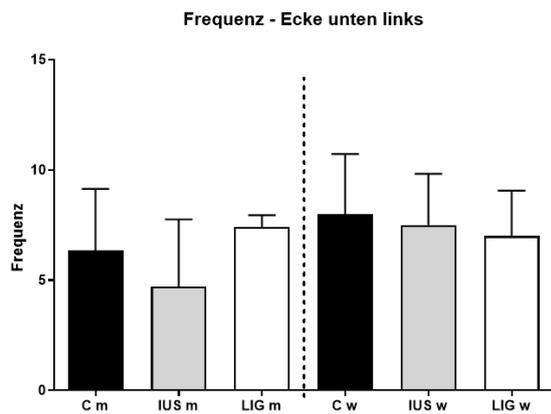


34)

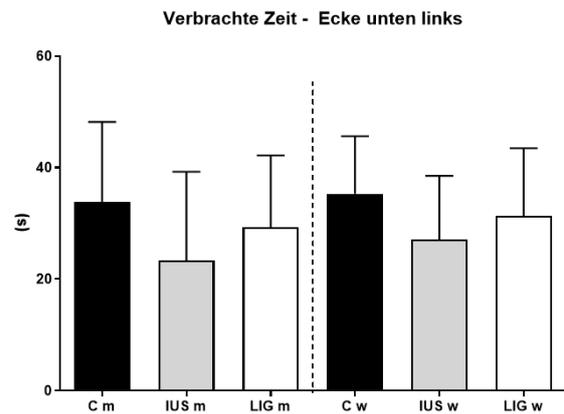


**Abb. 33** Untersucher Parameter „Frequenz“ in dem Bereich „Ecke oben rechts“. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 34** Untersucher Parameter „Verbrachte Zeit“ in der „Ecke oben rechts“. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

35)

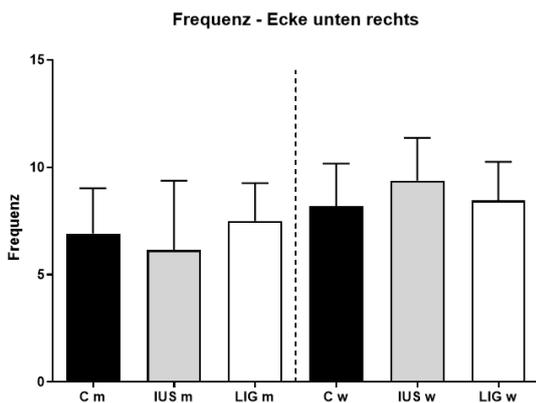


36)

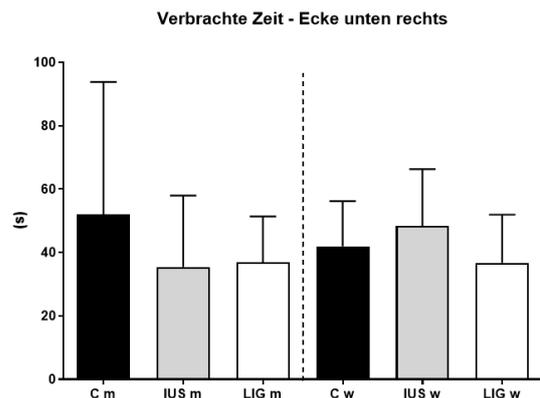


**Abb. 35** Untersucher Parameter „Frequenz“ in dem Bereich „Ecke unten links“. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 36** Untersucher Parameter „Verbrachte Zeit“ in der „Ecke unten links“. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

37)



38)



**Abb. 37** Untersucher Parameter „Frequenz“ in dem Bereich „Ecke unten rechts“. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 38** Untersucher Parameter „Verbrachte Zeit“ in dem Bereich „Ecke unten rechts“. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

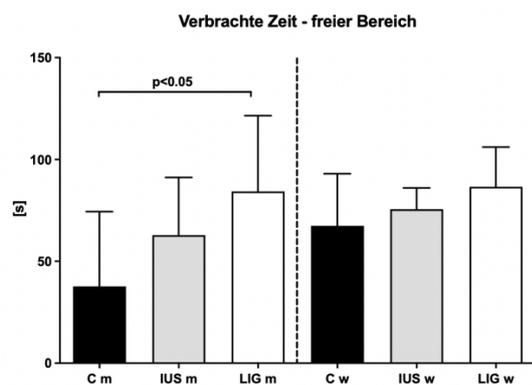
#### 4.2.2. Elevated Zero Maze – Untersuchung des Angstverhaltens

Am 157. postnatalen Tag führten wir zur Untersuchung des Angstverhaltens der Testtiere den Elevated Zero Maze Test durch. Das Elevated Zero Maze ist eine auf vier 70 cm hohen Beinen stehende kreisrunde Apparatur mit zwei offenen und zwei umwandeten, geschlossenen Bereichen. Wie beim Open-Field Test basiert auch dieser Test auf der verhaltensbiologischen Beobachtung, dass Ratten freie Flächen meiden. Ein vermehrtes Aufhalten in den beiden freien Bereichen der Apparatur wird als Indikator für ein erniedrigtes Angstverhalten gewertet. Umgekehrt wird ein vermehrtes Aufhalten im geschützten Bereich der Arena als vermehrtes

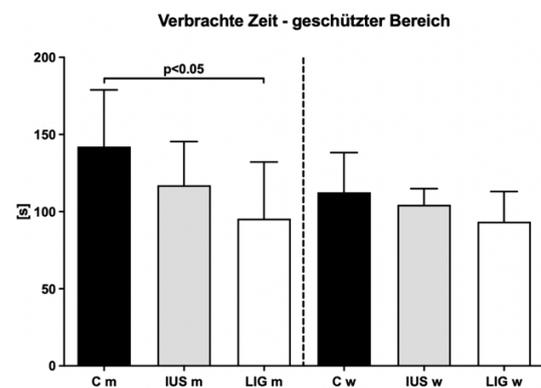
Angstverhalten gedeutet. Das Testtier durfte die Arena für insgesamt 10 Minuten erkunden. Es wurden die ersten drei sowie die ersten sechs Minuten des Tests ausgewertet

Bezogen auf die Kontrolltiere verbrachten die männlichen Versuchstiere der LIG-Gruppe eine signifikant längere Zeit im freien, ungeschützten Bereich und signifikant weniger Zeit im geschützten Bereich der Apparatur nach Auswertung der ersten drei Minuten (Abb. 39 und 40 (jeweils linke Seite): LIG m jeweils  $p < 0,05$ ). Nach Auswertung der ersten sechs Minuten blieb diese Signifikanz bestehen (Abb. 41 und 42 (jeweils linke Seite): LIG m jeweils  $p < 0,05$ ). Zusätzlich konnte nach sechs Minuten nachgewiesen werden, dass auch die Testtiere der weiblichen LIG-Gruppe sowie der männlichen IUS-Gruppe bezogen auf die Kontrolltiere eine signifikant längere Zeit im freien Bereich und eine signifikant kürzere Zeit im geschützten Bereich der Zero-Maze Apparatur verbrachten (Abb. 41 und 42: jeweils  $p < 0,05$ ).

39)

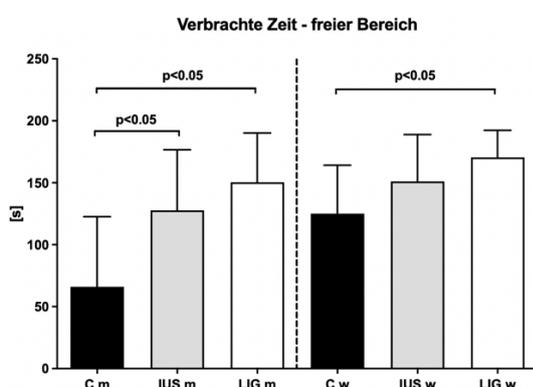


40)

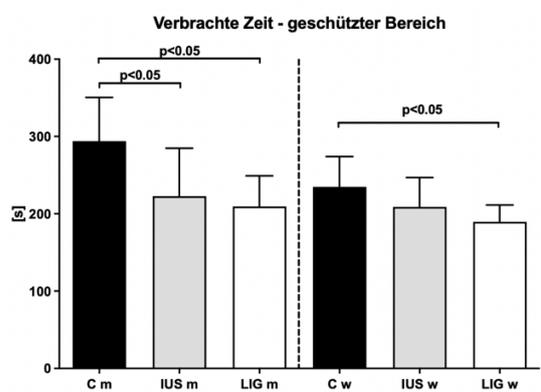


**Abb. 39** Verbrachte Zeit in Sekunden im freien, unbewandeten Bereich der Zero-Maze Apparatur nach 3 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 40** Durchschnittlich verbrachte Zeit im geschützten Bereich in Sekunden nach 3 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

41)



42)

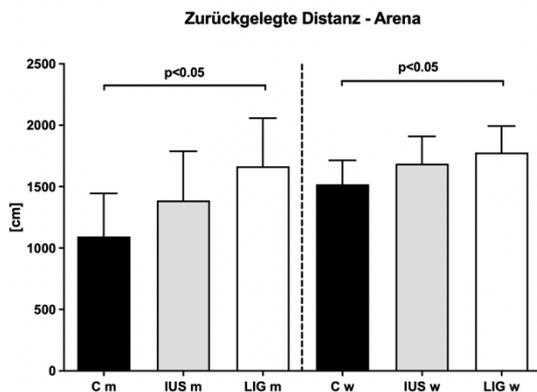


**Abb. 41** Verbrachte Zeit in Sekunden im freien, unbewandeten Bereich der Zero Maze Apparatur nach 6 Minuten in Sekunden. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 42** Durchschnittlich

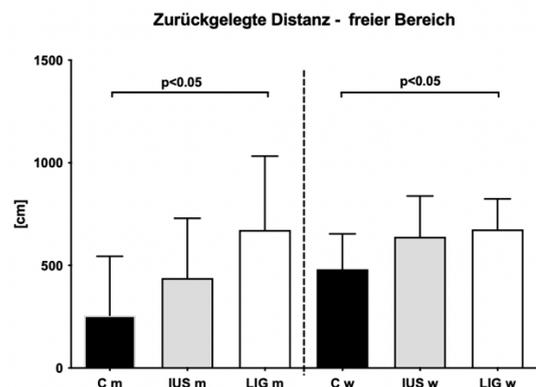
verbrachte Zeit im geschützten Bereich in Sekunden nach 6 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

Sowohl die weiblichen als auch die männlichen Testtiere der LIG-Gruppe legten, im Vergleich zu den Kontrolltieren, in der Auswertung der ersten drei Minuten eine signifikant weitere Strecke im freien Bereich sowie in der gesamten Arena zurück (Abb. 43 und 44: jeweils  $p < 0,05$ ). Nach Auswertung der ersten 6 Minuten blieb diese Signifikanz bestehen (Abb. 45 und 46: LIG m jeweils  $p < 0,05$ ; LIG w, Arena  $p < 0,01$ , freier Bereich  $p < 0,001$ ). Zusätzlich legten nun auch die Testtiere der weiblichen IUS-Gruppe, bezogen auf die Kontrolltiere, eine signifikant weitere Strecke im freien Bereich sowie in der gesamten Arena zurück (Abb. 45 und 46 (jeweils rechte Seite): IUS w, Arena  $p < 0,05$ ; freier Bereich  $p < 0,01$ )).

43)

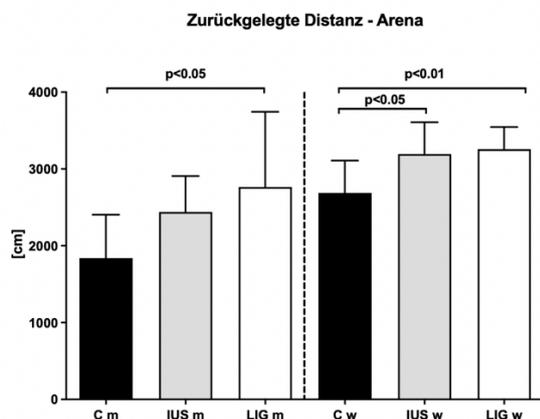


44)

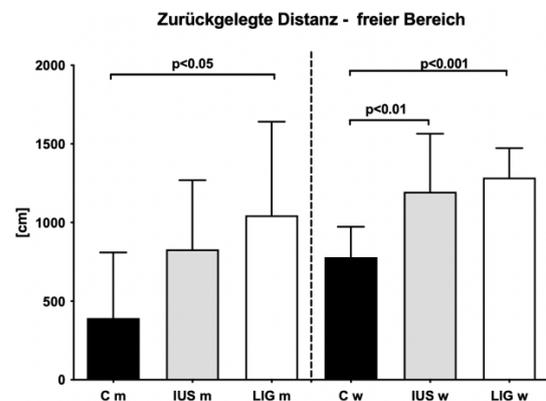


**Abb. 43** Zurückgelegte Strecke in der gesamten Arena in cm nach den ersten 3 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 44** Zurückgelegte Strecke in cm im freien, ungeschützten Bereich der Zero Maze Apparatur nach 3 Minuten in cm. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

45)



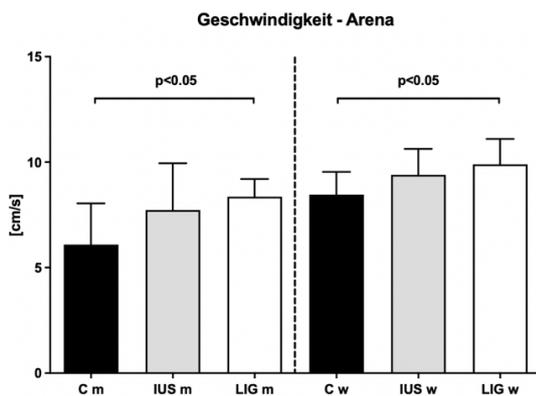
46)



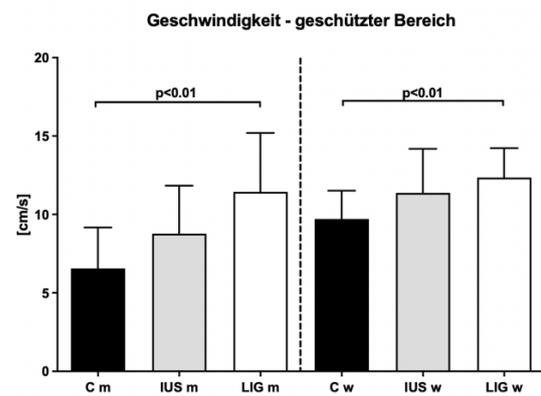
**Abb. 45** Zurückgelegte Strecke in der gesamten Arena in cm nach den ersten 6 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 46** Zurückgelegte Strecke in cm im freien, ungeschützten Bereich nach 6 Minuten in cm. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

Hinsichtlich der Geschwindigkeit zeigte sich nach Auswertung der ersten drei Minuten, dass sowohl die männlichen als auch die weiblichen Testtiere der LIG-Gruppe im geschützten Bereich sowie in der gesamten Arena eine durchschnittlich höhere Geschwindigkeit aufwiesen als die männlichen und weiblichen Kontrolltiere (Abb. 47: Arena jeweils  $p < 0,05$ ; Abb. 48: geschützter Bereich jeweils  $p < 0,01$ ). Im freien Bereich waren nach Auswertung der ersten drei Minuten nur die Testtiere der männlichen LIG-Gruppe signifikant schneller unterwegs als die männlichen Kontrolltiere (Abb. 49 (linke Seite): LIG m  $p < 0,05$ ).

47)

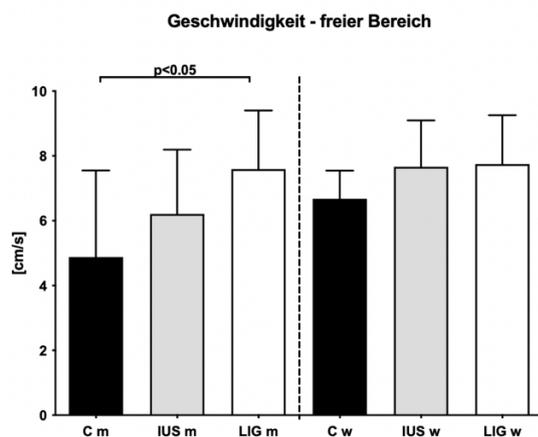


48)



**Abb. 47** Durchschnittliche Geschwindigkeit der Testtiere in cm/s in den ersten 3 Minuten in der gesamten Arena. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 48** Durchschnittliche Geschwindigkeit der Testtiere in cm/s im geschützten Bereich nach Auswertung der ersten 3 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

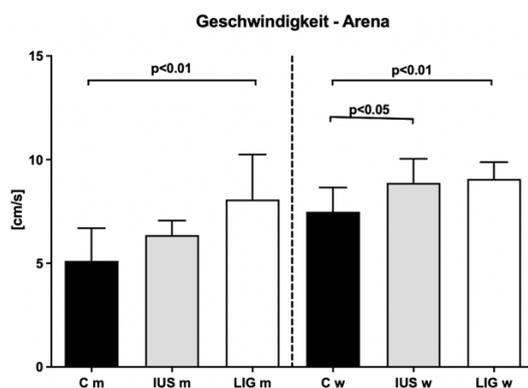
49)



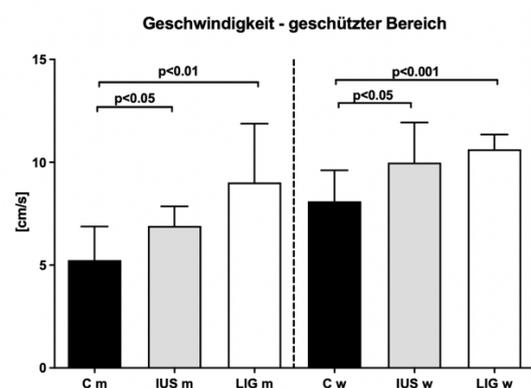
**Abb. 49** Durchschnittliche Geschwindigkeit der Testtiere in cm/s in den ersten 3 Minuten im freien Bereich. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

Auch nach Auswertung der ersten 6 Minuten zeigten die männlichen und weiblichen Testtiere der LIG-Gruppe eine signifikant höhere Geschwindigkeit in der gesamten Arena sowie im geschützten Bereich (Abb. 50: Arena jeweils  $p < 0,01$ ; Abb 51: geschützter Bereich LIG m  $p < 0,01$ , LIG w  $p < 0,001$ ). Im freien Bereich zeigten auch nur die LIG-Männchen eine signifikant höhere Geschwindigkeit (Abb. 52: LIG m  $p < 0,05$ ) als die Kontrolltiere. Die männlichen und weiblichen Testtiere der IUS-Gruppe zeigten nach 6 Minuten im Vergleich zu den Kontrolltieren nun auch eine durchschnittlich signifikant schnellere Bewegungsgeschwindigkeit im geschützten Bereich (Abb. 51: jeweils  $p < 0,05$ ). In der gesamten Arena zeigten nur die IUS-Weibchen eine signifikant schnellere Geschwindigkeit als die Weibchen der Kontrollgruppe (Abb. 50 (rechte Seite): IUS w  $p < 0,05$ ).

50)

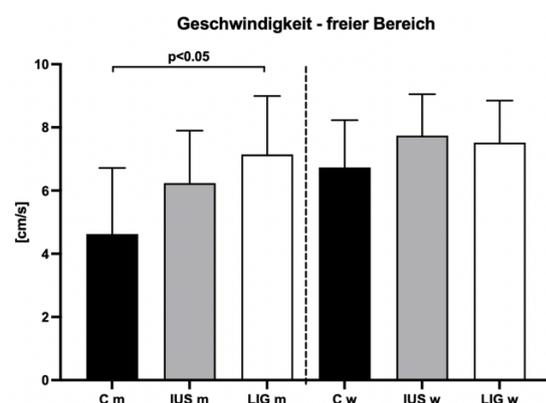


51)



**Abb. 50** Durchschnittliche Geschwindigkeit der Testtiere in cm/s in den ersten 6 Minuten in der gesamten Arena. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 51** Durchschnittliche Geschwindigkeit der Testtiere in cm/s im geschützten Bereich nach Auswertung der ersten 6 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

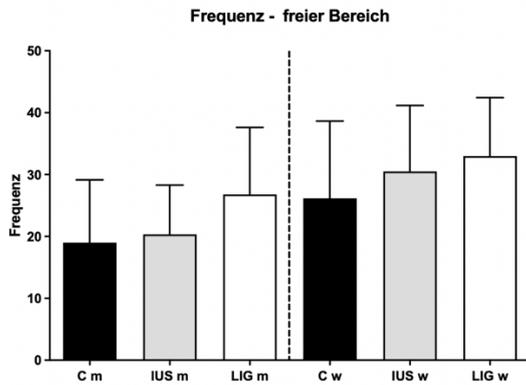
52)



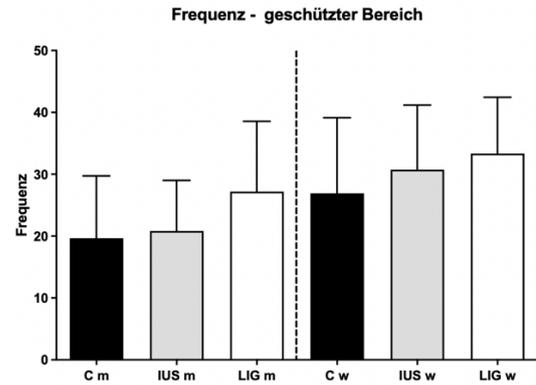
**Abb. 52** Durchschnittliche Geschwindigkeit der Testtiere in cm/s in den ersten 6 Minuten im freien Bereich. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

Des Weiteren untersuchten wir die Parameter „Zurückgelegte Distanz“ im geschützten Bereich sowie „Frequenz“ im freien Bereich und „Frequenz“ im geschützten Bereich. Hier ergaben sich weder nach Auswertung der ersten drei noch nach Auswertung der ersten sechs Minuten signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen (Abb. 53 – 58).

53)

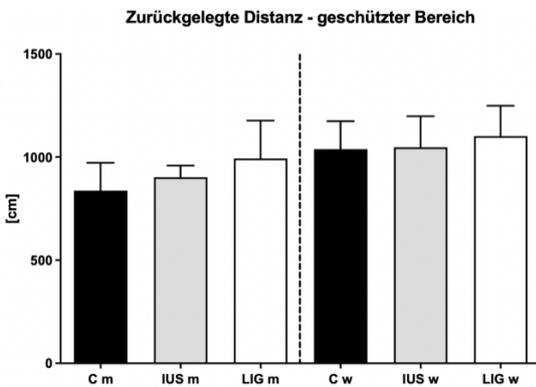


54)



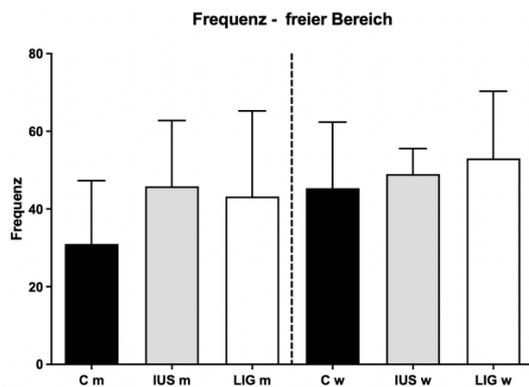
**Abb. 53** Dargestellt ist die durchschnittliche Frequenz, in welcher die Testtiere den freien Bereich der Apparatur in den ersten 3 Minuten betreten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 54** Dargestellt ist die durchschnittliche Frequenz, in welcher die Testtiere den geschützten Bereich der Apparatur in den ersten 3 Minuten betreten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

55)

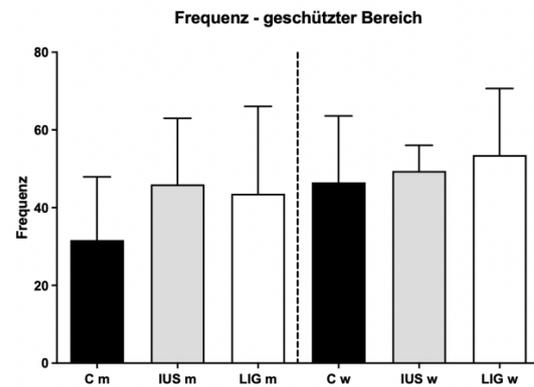


**Abb. 55** Zurückgelegte Strecke in cm im geschützten Bereich nach 3 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

56)

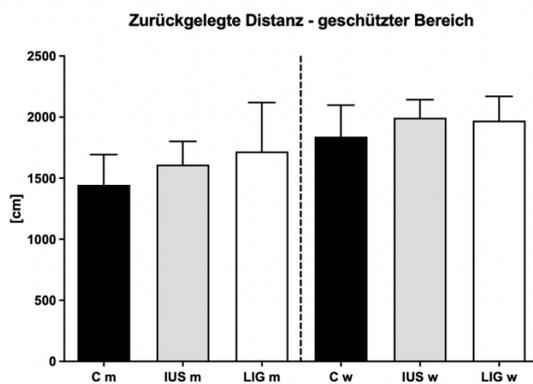


57)



**Abb. 56** Dargestellt ist die durchschnittliche Frequenz, in welcher die Testtiere den freien Bereich der Apparatur in den ersten 6 Minuten betreten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 57** Dargestellt ist die durchschnittliche Frequenz, in welcher die Testtiere den geschützten Bereich der Apparatur in den ersten 6 Minuten betreten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

58)



**Abb. 58** Zurückgelegte Strecke in cm im geschützten Bereich nach 6 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

#### 4.2.3. Barnes Maze Test – Überprüfung des räumlichen Arbeitsgedächtnisses und der Lernfähigkeit

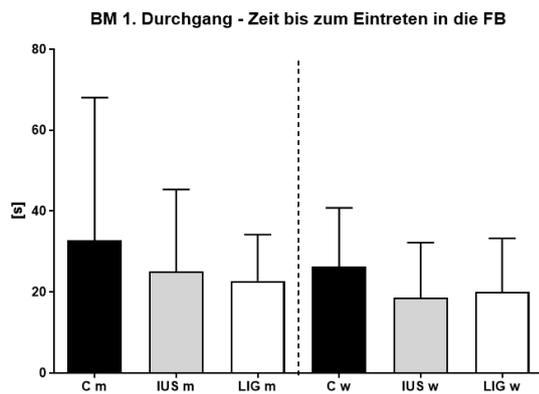
Zur Evaluierung möglicher kognitiver Defizite wurden die Testtiere im Hinblick auf ihre Gedächtnisleistung mithilfe des Barnes Maze geprüft. Das Barnes Maze ist eine kreisrunde Apparatur mit 20 in regelmäßigen Abständen eingelassenen Löchern am Rand des Maze. 19 dieser Löcher enden blind. In einem der Löcher versteckt sich die Fluchtbox, in welcher es dem Testtier möglich ist, das Maze zu verlassen. Der Test besteht darin sich die Fluchtboxposition zu merken, um das Maze verlassen zu können. Den Testtieren wurde an einem Habituationstag die Möglichkeit gegeben sich die Fluchtboxposition zu merken. Am Folgetag fand der eigentliche Testtag mit vier Durchgängen statt. Im vierten Durchgang wurde

die Fluchtboxposition geändert, um die Flexibilität des Tieres zu testen und um gleichzeitig zu untersuchen, ob es die Fluchtbox in der ehemaligen Position suchen wird.

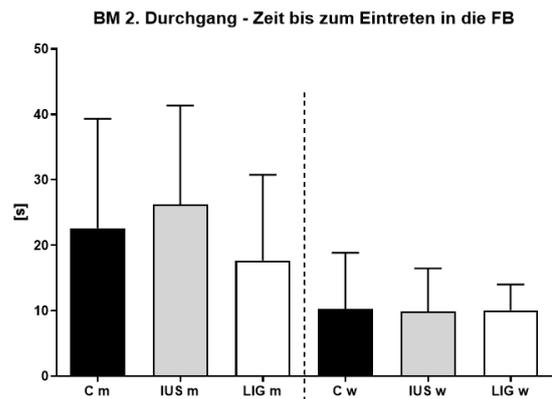
Es wurden unter anderem die Parameter „Zurückgelegte Distanz in der gesamten Arena“ und „Zeit bis zum Eintreten in die Fluchtbox“ ausgewertet. In vorigen Arbeiten wurde beobachtet, dass die Tiere häufig die Fluchtboxposition zwar finden, allerdings noch nicht eintreten, um zuvor die Umgebung weiter erkunden zu können.<sup>48</sup> Dieses explorative Verhalten kann zu einer Verlängerung der „Zeit bis zum Eintreten in die Fluchtbox“ und damit zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen. Um dies zu korrigieren, verwendeten wir den Parameter „Zeit bis zum Finden der Fluchtbox“, der die Zeit bis zum ersten Kontakt mit der Fluchtbox beschreibt, unabhängig davon, ob das Testtier anschließend in die Fluchtbox eintritt oder nicht. Zusätzlich führten wir den Parameter „Zeit vom Finden - bis zum Eintreten in die Fluchtbox“ ein. Die Parameter wurden in allen vier Durchgängen gemessen und miteinander verglichen, um einen Lernprozess zu erkennen. In der Zielzone werteten wir unter anderem die Parameter „Zurückgelegte Strecke“ und „Verbrachte Zeit“ aus.

Bei dem Parameter „Zeit bis zum Eintreten in die Fluchtbox“ (Parameter 2) konnte in allen vier Durchgängen kein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen nachgewiesen werden (Abb. 59 – 62). Abb. 63 und Abb. 64 dienen zur Visualisierung der Entwicklung der Tiere vom 1.-3. Durchgang (Parameter 3). Da die Fluchtboxposition im vierten Durchgang geändert wurde, wurde der vierte Durchgang hier nicht mitberücksichtigt. Auch in dem Parameter „Zurückgelegte Distanz“ in der Arena (Parameter 1) ergaben sich in keinem Durchgang signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen (Abb. 65 – 68).

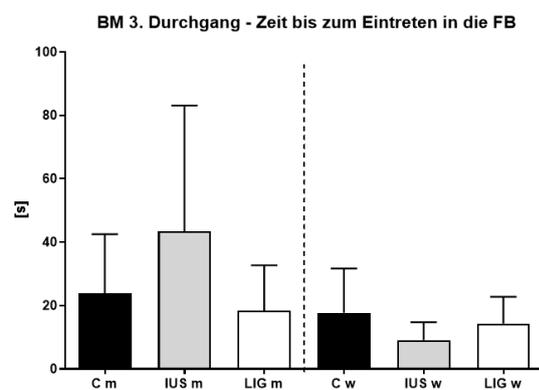
59)



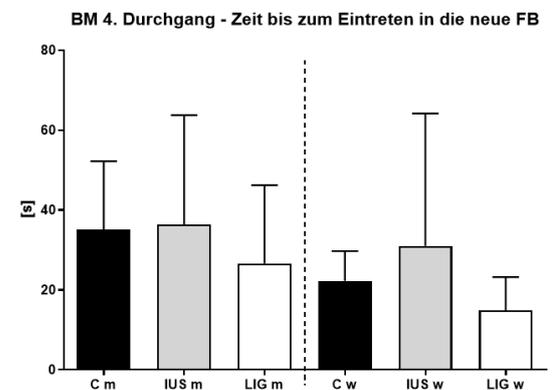
60)



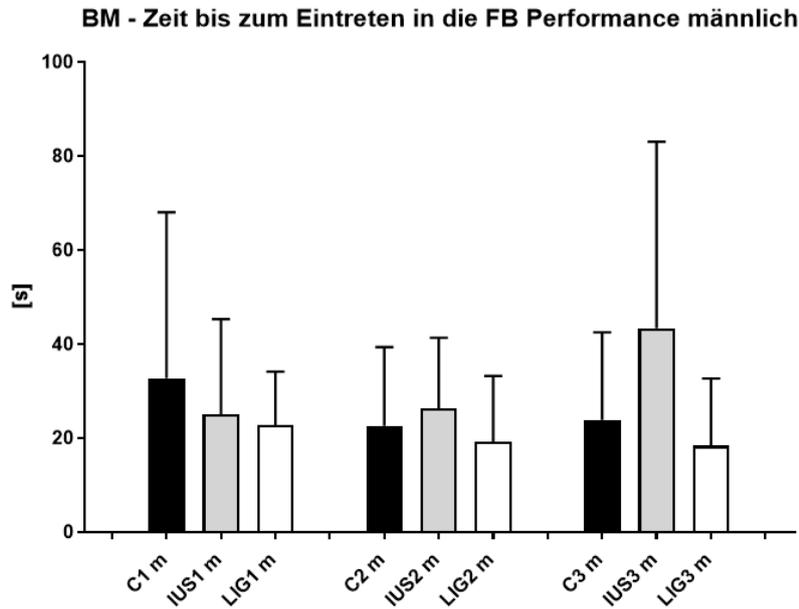
61)



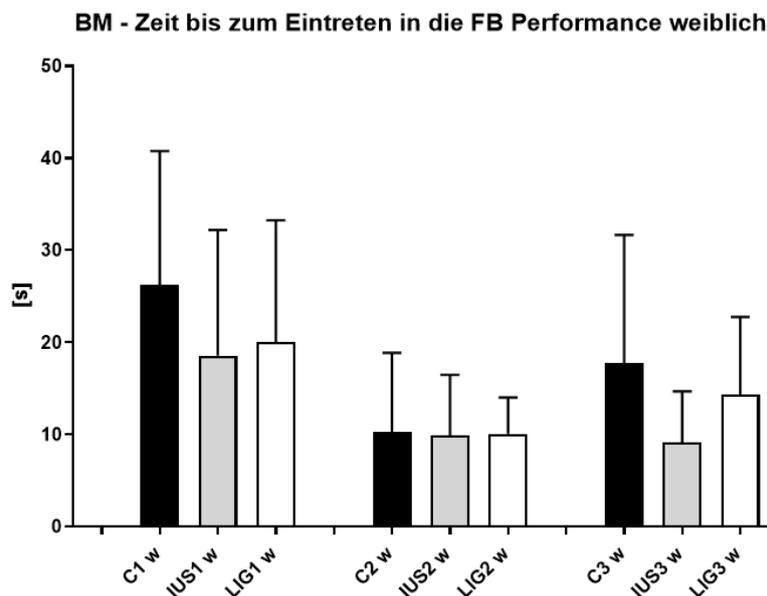
62)



**Abb. 59** In der Barnes Maze Arena verbrachte Zeit bis zum Eintreten in die Fluchtbox im ersten Durchgang in Sekunden (Parameter 2). C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 60** In der Barnes Maze Arena verbrachte Zeit bis zum Eintreten in die Fluchtbox im zweiten Durchgang in Sekunden. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 61** In der Barnes Maze Arena verbrachte Zeit bis zum Eintreten in die Fluchtbox im dritten Durchgang in Sekunden. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 62** In der Barnes Maze Arena verbrachte Zeit bis zum Eintreten in die neue Fluchtbox im vierten Durchgang in Sekunden. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

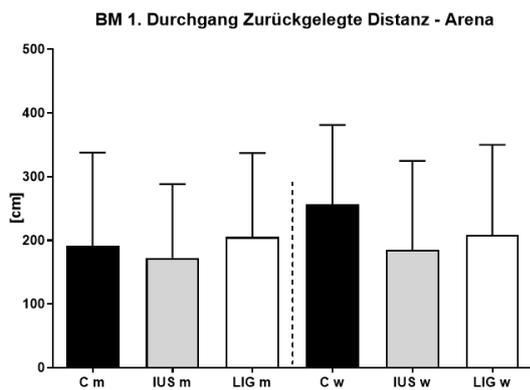


**Abb. 63** Es werden die Graphen der Daten „Zeit bis zum Eintreten in die Fluchtbox“ vom 1. – 3. Durchgang innerhalb jeder Gruppe, hier die männlichen Gruppen, nebeneinander dargestellt (Parameter 3). Da im vierten Durchgang die Fluchtboxposition geändert wird, wurde dieser im zuletzt erwähnten Vergleich nicht mitberücksichtigt. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

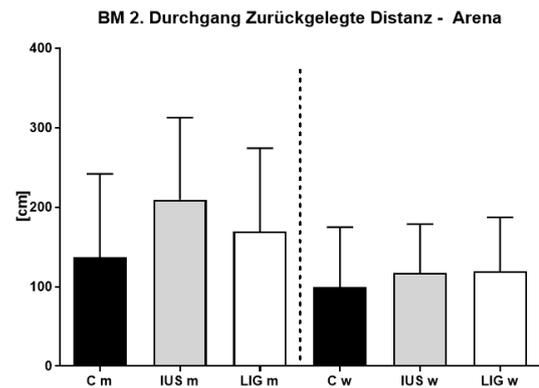


**Abb. 64** Es werden die Graphen der Daten „Zeit bis zum Eintreten in die Fluchtbox“ vom 1. – 3. Durchgang innerhalb jeder Gruppe, hier die weiblichen Gruppen, nebeneinander dargestellt (Parameter 3). Da im vierten Durchgang die Fluchtboxposition geändert wird, wurde dieser im zuletzt erwähnten Vergleich nicht mitberücksichtigt. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

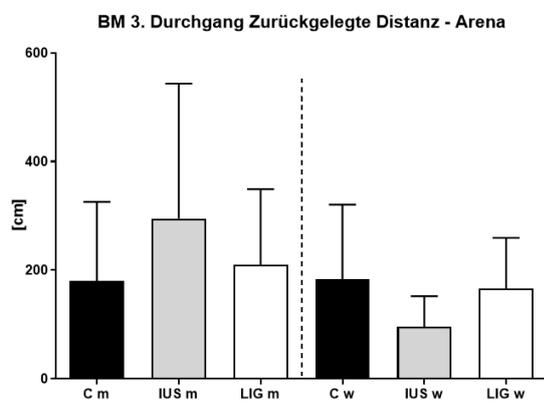
65)



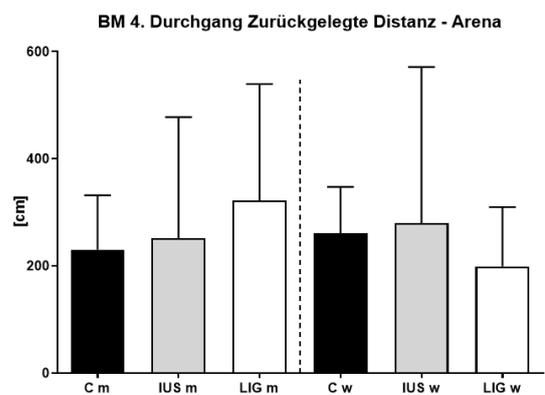
66)



67)



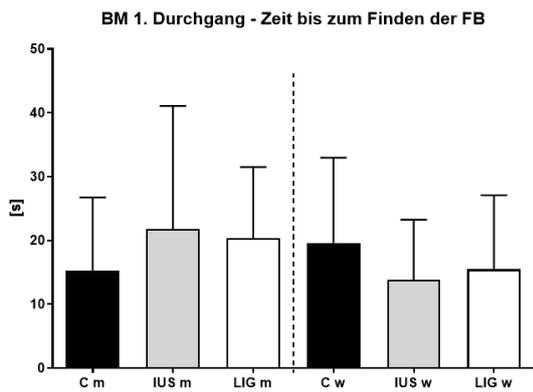
68)



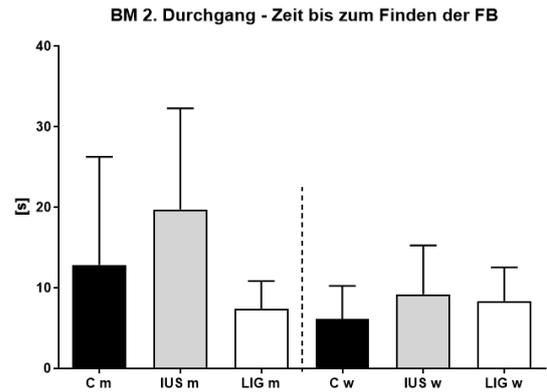
**Abb. 65** Zurückgelegte Distanz in der Arena in cm im ersten Durchgang (Parameter 1). C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 66** In der Arena zurückgelegte Distanz in cm im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 67** Zurückgelegte Distanz in der Arena cm im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 68** In der Arena zurückgelegte Distanz in cm im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

Bei dem Parameter „Zeit bis zum Finden der Fluchtbox“ (Parameter 6) konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den unterschiedlichen Gruppen in den ersten drei Durchgängen nachgewiesen werden (Abb. 69 – 71). Auch nach Änderung der Fluchtboxposition im vierten Durchgang ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den unterschiedlichen Gruppen bezüglich der „Zeit bis zum Finden der neuen Fluchtboxposition“ (Abb. 72) oder der „Zeit bis zum Finden der alten Fluchtboxposition“ (Abb. 73). Im vierten Durchgang wurde das ursprüngliche Arenaprofil verwendet, damit der Lernprozess derselben Fluchtboxposition dargestellt werden kann. Die Graphen Abb. 74 und Abb. 75 dienen zur Visualisierung der Entwicklung der Tiere vom ersten bis zum vierten Durchgang (Parameter 7).

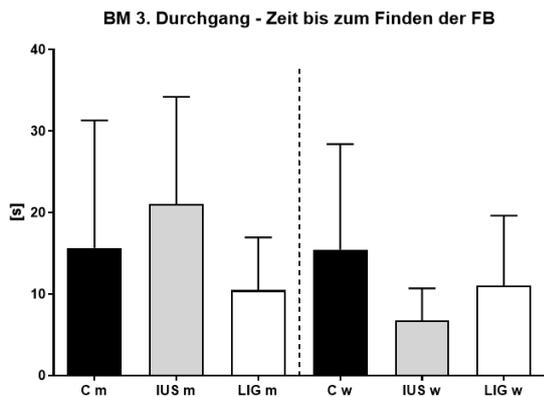
69)



70)

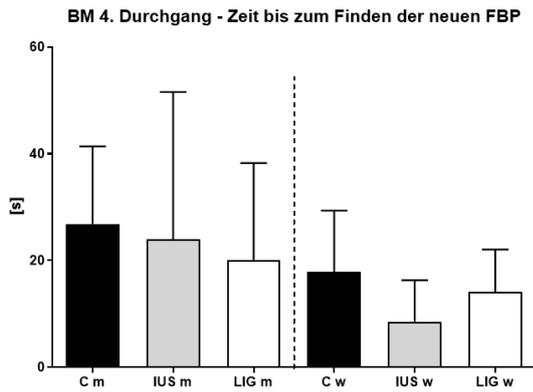


71)

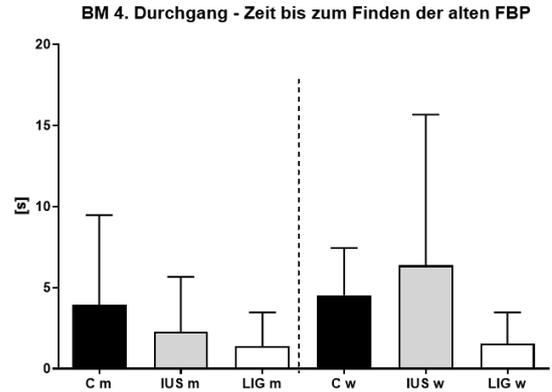


**Abb. 69** Zeit bis zum Finden der Fluchtbox in Sekunden (Parameter 6) im 1. Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6, **Abb. 70** Zeit bis zum Finden der Fluchtbox in Sekunden im 2. Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6, **Abb. 71** Zeit bis zum Finden der Fluchtbox in Sekunden im 3. Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

72)

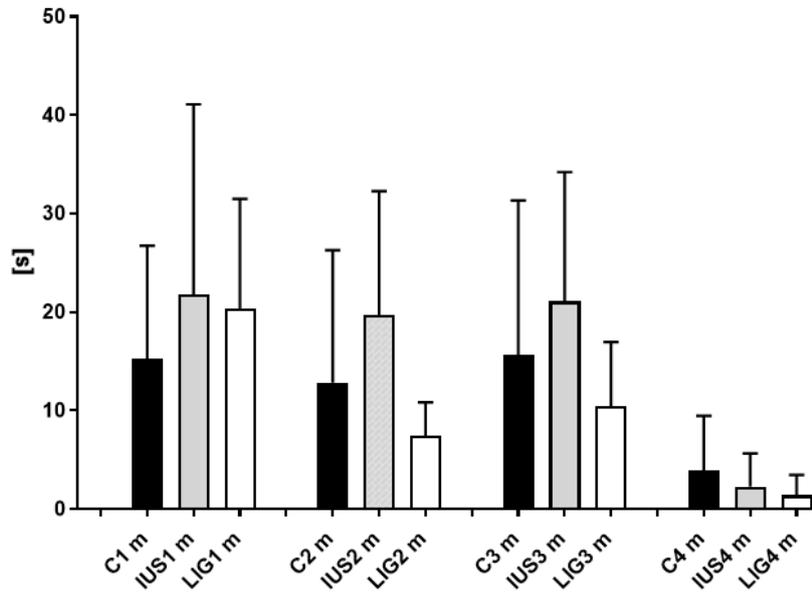


73)

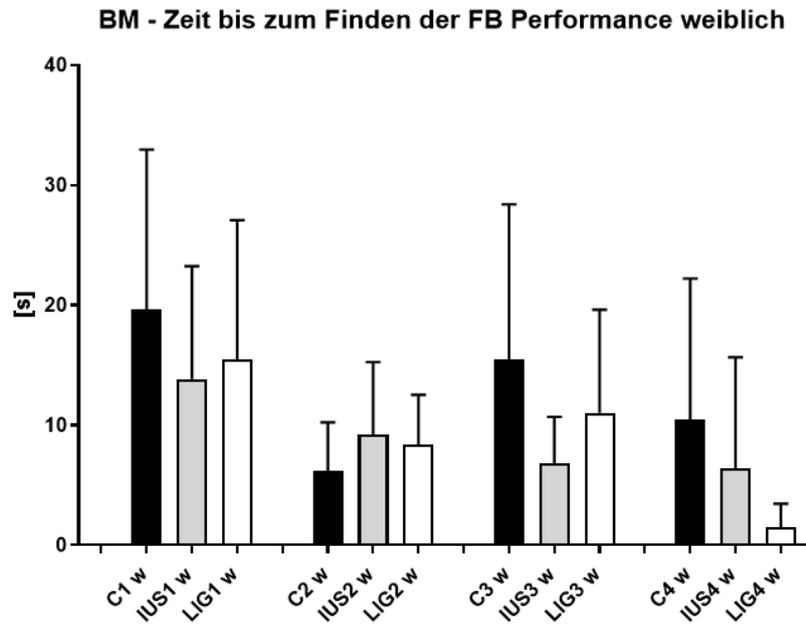


**Abb. 72** Zeit bis zum Finden der neuen Fluchtboxposition in Sekunden im vierten Durchgang (Parameter 6). C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 73** Zeit bis zum Finden der alten Fluchtboxposition in Sekunden im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

**BM - Zeit bis zum Finden der FB Performance männlich**



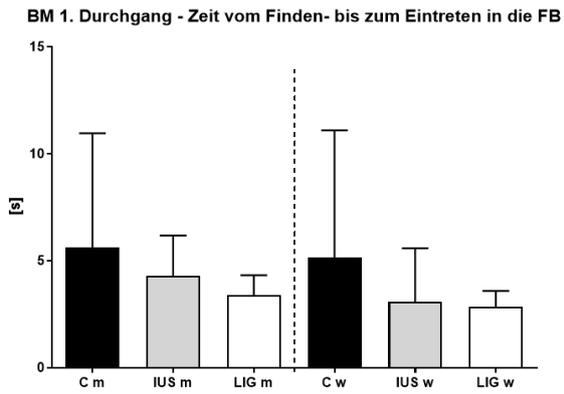
**Abb. 74** Es werden die Graphen der Daten „Zeit bis zum Finden der FB/FBP“ vom 1. – 4. Durchgang innerhalb des Geschlechts, hier männlich, miteinander verglichen (Parameter 7). Im vierten Durchgang wurde das ursprüngliche Arenaprofil verwendet, damit der Lernprozess derselben Fluchtboxposition dargestellt werden kann. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6



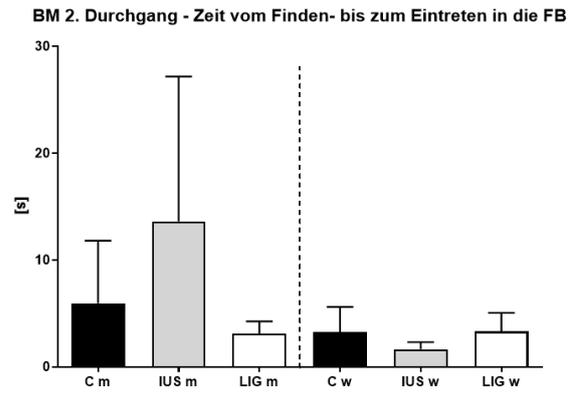
**Abb. 75** Es werden die Graphen der Daten „Zeit bis zum Finden der Fluchtbox//Fluchtboxposition“ vom 1. – 4. Durchgang innerhalb des Geschlechts, hier weiblich, miteinander verglichen (Parameter 7). Im vierten Durchgang wurde das ursprüngliche Arenaprofil verwendet, damit der Lernprozess derselben Fluchtboxposition dargestellt werden kann. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

Bei dem Parameter „Zeit vom Finden - bis zum Eintreten in die Fluchtbox“ (Parameter 4) konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen und der Kontrollgruppe ermittelt werden (Abb. 76 – 79). Da die ehemalige Fluchtboxposition nicht betreten werden kann, wurde dieser Parameter hier nicht berücksichtigt. Abb. 80 und Abb. 81 dienen zur Visualisierung der Entwicklung der Tiere vom ersten bis zum vierten Durchgang.

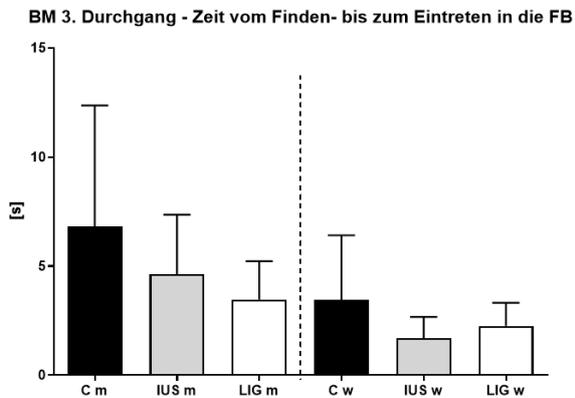
76)



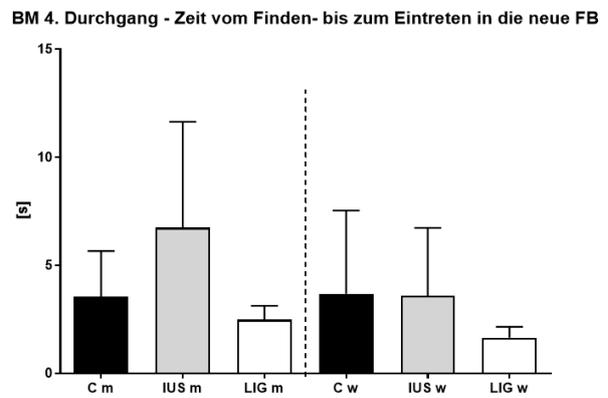
77)



78)

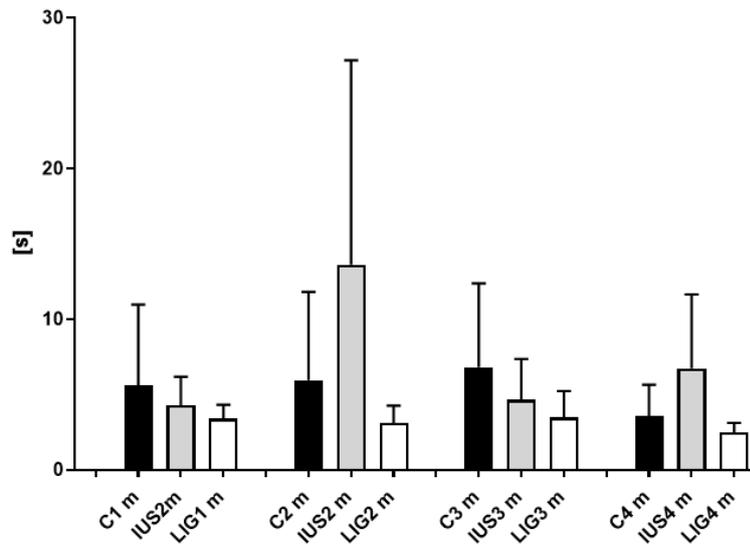


79)



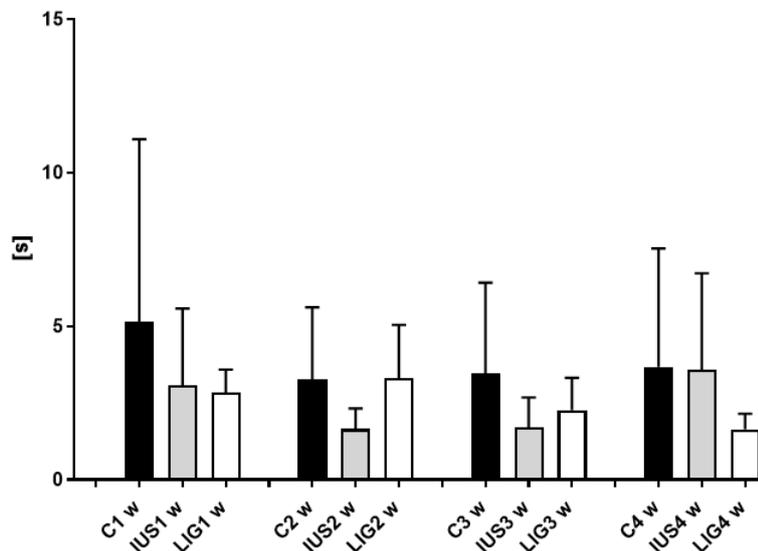
**Abb. 76** Zeit vom Finden- bis zum Eintreten in die Fluchtbox in Sekunden (Parameter 4) im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 77** Zeit vom Finden- bis zum Eintreten in die FB im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 78** Zeit vom Finden- bis zum Eintreten in die Fluchtbox in Sekunden im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 79** Zeit vom Finden- bis zum Eintreten in die neue FB in Sekunden im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

**BM - Zeit vom Finden- bis zum Eintreten in die FB Performance männlich**



**Abb. 80** Es werden die Graphen der Daten „Zeit vom Finden- bis zum Eintreten in die FB“ vom 1. – 4 Durchgang innerhalb des Geschlechts, hier männlich, nebeneinander dargestellt (Parameter 5). Im vierten Durchgang wurde hier das neue Arenaprofil verwendet, da das Testtier nicht in die alte Fluchtboxposition eintreten kann. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

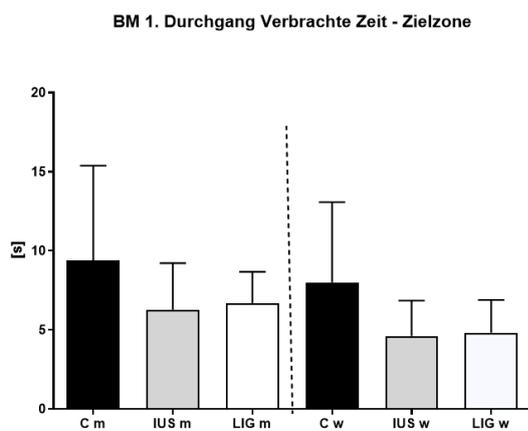
**BM - Zeit vom Finden- bis zum Eintreten in die FB Performance weiblich**



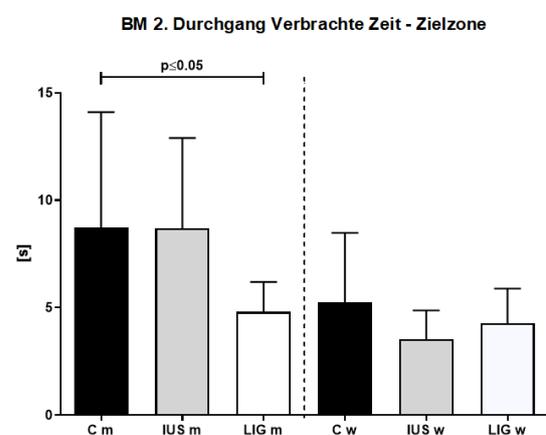
**Abb. 81** Es werden die Graphen der Daten „Zeit vom Finden- bis zum Eintreten in die FB“ vom 1. – 4 Durchgang innerhalb des Geschlechts, hier weiblich, nebeneinander dargestellt (Parameter 5). Im vierten Durchgang wurde hier das neue Arenaprofil verwendet, da das Testtier nicht in die alte Fluchtboxposition eintreten kann. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

In der Zielzone wurden die Parameter „verbrachte Zeit“ (Parameter 8) und „Zurückgelegte Distanz“ (Parameter 9) in allen vier Durchgängen untersucht. Bezogen auf die Kontrolltiere verbringen die männlichen Testtiere der LIG-Gruppe im zweiten und dritten Durchgang signifikant weniger Zeit in der Zielzone (Abb. 83 (linke Seite), Abb. 84 (linke Seite): LIG m jeweils  $p < 0,05$ ). Im vierten Durchgang verbringen die LIG-Weibchen signifikant weniger Zeit in der neuen Zielzone als die Kontrolltiere (Abb. 85 (rechte Seite): LIG w  $p < 0,05$ ). In der Auswertung der verbrachten Zeit in der alten Zielzone im vierten Durchgang konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Gruppen nachgewiesen werden (Abb. 86).

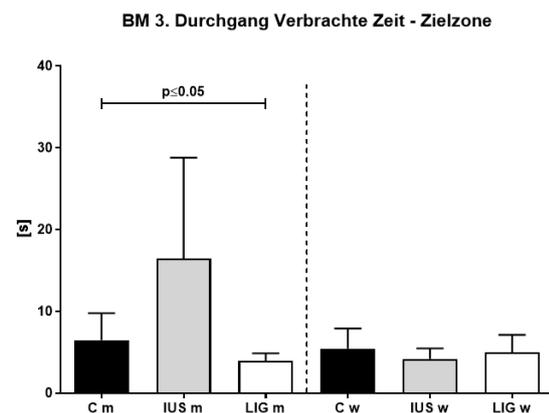
82)



83)

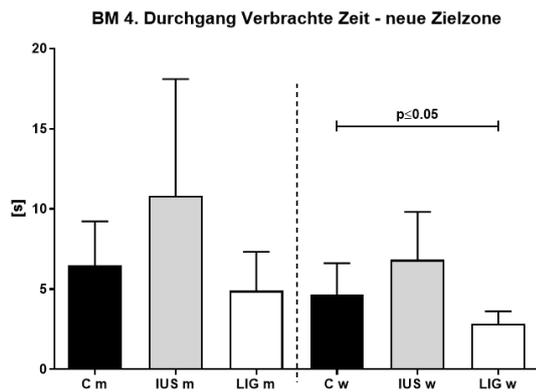


84)

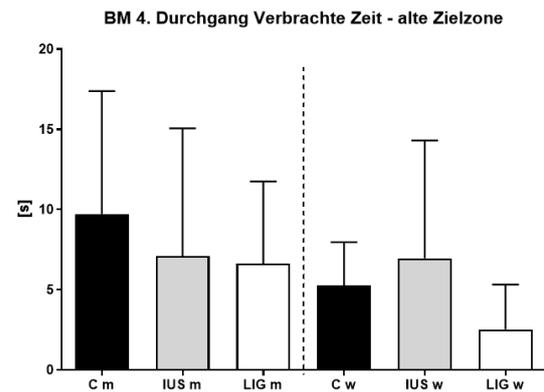


**Abb. 82** Verbrachte Zeit in der Zielzone in Sekunden im ersten Durchgang (Parameter 8). C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 83** Verbrachte Zeit in der Zielzone in Sekunden im zweiten Durchgang. Die Männchen der LIG-Gruppe hielten sich signifikant kürzer in der Zielzone auf als die Kontrollgruppe. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 84** Verbrachte Zeit in der Zielzone in Sekunden im dritten Durchgang. Die LIG-Männchen verbrachten signifikant weniger Zeit in der Zielzone als die Kontrollgruppe. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

85)



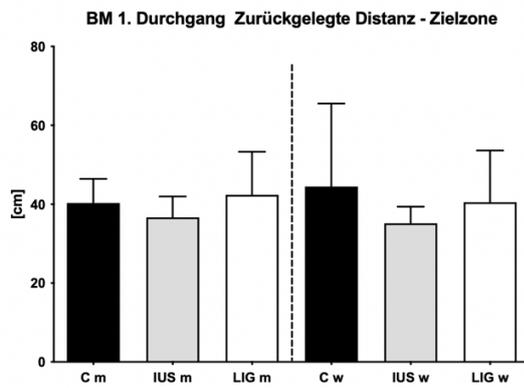
86)



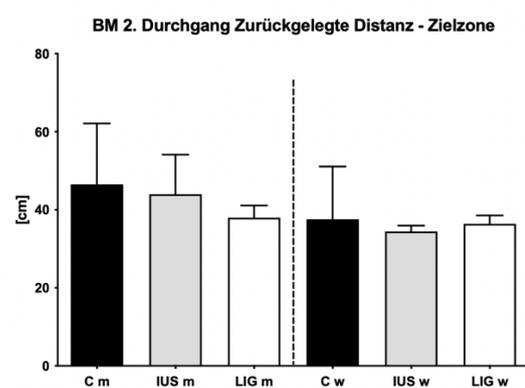
**Abb. 85** Verbrachte Zeit in der neuen Zielzone in Sekunden im vierten Durchgang (Parameter 8). Die LIG-Weibchen verbringen signifikant weniger Zeit in der neuen Zielzone als die Kontrolltiere. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6, **Abb. 86** Verbrachte Zeit in der alten Zielzone in Sekunden im 4. Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m

Bezogen auf die Kontrolltiere ist die zurückgelegte Distanz der LIG-Weibchen in der neuen Zielzone (Parameter 9) im vierten Durchgang signifikant kürzer (Abb. 90 (rechte Seite): LIG w  $p < 0,05$ ). In den anderen Durchgängen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen (Abb. 87 – 89; Abb. 91).

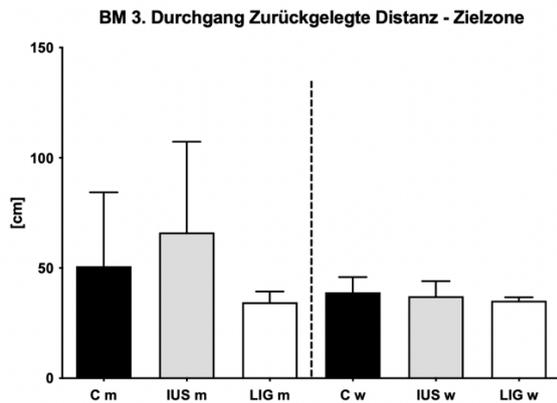
87)



88)

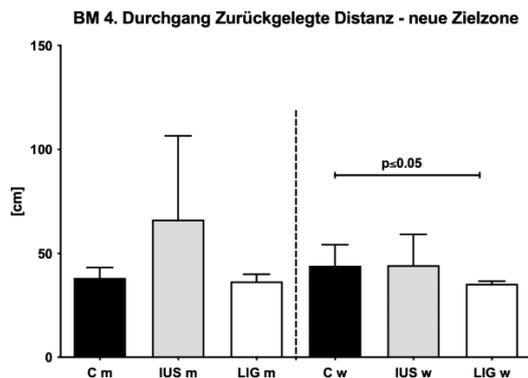


89)

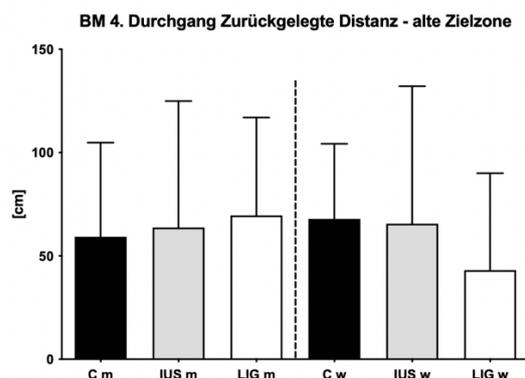


**Abb. 87** Zurückgelegte Distanz in cm im ersten Durchgang in der Zielzone (Parameter 9). C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 88** Zurückgelegte Distanz in cm im zweiten Durchgang der Zielzone. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 89** Zurückgelegte Distanz in cm im dritten Durchgang C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

90)



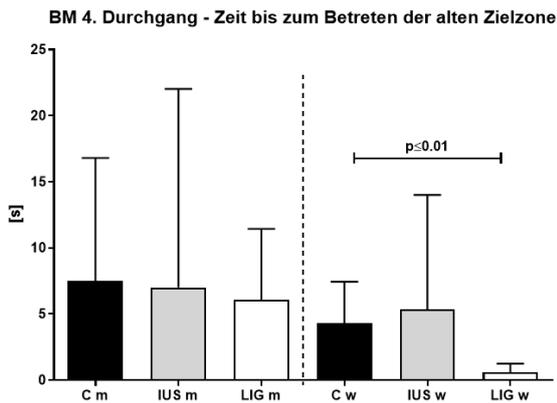
91)



**Abb. 90** Zurückgelegte Distanz in cm im vierten Durchgang in der neuen Zielzone C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 91** Zurückgelegte Distanz in cm im vierten Durchgang in der alten Zielzone. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

In der alten Zielzone im vierten Durchgang wurde untersucht nach wieviel Sekunden, das Testtier die alte Zielzone das erste Mal betrat („Zeit bis zum Betreten der alten Zielzone“). Verglichen mit den Kontrolltieren finden die Weibchen der LIG-Gruppe die alte Zielzone im vierten Durchgang (Parameter 10) signifikant schneller (Abb. 92 (rechte Seite): LIG w  $p < 0,01$ ).

92)



**Abb. 92** Zeit bis zum Betreten der alten Zielzone im vierten Durchgang (Parameter 10). C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m n= 12, IUS m: n=7, LIG m: n=6

#### 4.3. Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse

##### 4.3.1. Auswirkungen des Ligaturmodells (LIG) und des intrauterinen Stress-Modells (IUS) auf Körper- und Gehirngewicht

In der folgenden Tabelle sind die Auswirkungen, der in dieser Arbeit verwendeten Tiermodelle (LIG und IUS) auf das Körper- und Gehirngewicht an P1, P7, P12 und P180 zusammengefasst. Sowohl eine uteroplazentare Insuffizienz als auch intrauteriner Stress verursachen bei allen Nachkommen eine signifikante Wachstumsrestriktion bei Geburt. Bis P180 gleicht sich das Körpergewicht jedoch in beiden Gruppen dem Gewicht der Kontrolltiere an. Trotz des signifikant erniedrigten Geburtsgewichtes ist das Gehirngewicht von den intrauterinen Einflüssen unbeeinträchtigt, wodurch die Ratio von Gehirn- zu Körpergewicht zunächst in beiden Gruppen erhöht war. An P180 ist die Ratio von Gehirn- zu Körpergewicht durch das angegliche Körpergewicht nicht mehr erhöht.

Versuchsgruppe	Zeitpunkt	Körpergewicht	Gehirngewicht	Verhältnis Gehirngewicht/ Körpergewicht
LIG m	P1	↓ (p<0.001)	=	(↑)
	P7	↓ (p<0.001)	=	↑ (p=0.007)
	P12	↓ (p<0.001)	=	=
	P180	=	=	=
LIG w	P1	↓ (p<0.001)	=	(↑)
	P7	↓ (p<0.001)	=	↑ (p<0.001)
	P12	↓ (p<0.001)	=	=
	P180	=	=	=
IUS m	P1	↓ (p=0.002)	=	=
	P7	↓ (p=0.01)	=	↑ (p=0.008)
	P12	↓ (p<0.001)	=	↑ (p=0.006)
	P180	=	=	=
IUS w	P1	↓ (p<0.001)	=	=
	P7	=	=	=
	P12	↓ (p=0.003)	=	↑ (p=0.003)
	P180	=	=	=

**Tabelle 2** Tiermodell: Zusammenfassung der Auswirkungen auf das Körper- und Gehirngewicht, ↑/↓: Ergebnis weicht signifikant von dem Ergebnis der Kontrollgruppe ab bei einem Signifikanzniveau von  $p < 0,05$ ; (↑)/(↓): Ergebnis im Vergleich zur Kontrollgruppe tendenziell erhöht/ vermindert bei einem P-Wert bis  $p \leq 0,1$ ; =: Ergebnis weicht weder signifikant noch tendenziell von dem Ergebnis der Kontrollgruppe ab.

#### 4.3.2. Zusammenfassung – Open-Field

Im Open-Field Test konnte nachgewiesen werden, dass die weiblichen Testtiere der Gruppen LIG und IUS mehr Zeit im inneren Bereich der Apparatur verbrachten und weniger Zeit im äußeren Bereich der Apparatur verbrachten als die weiblichen Kontrolltiere. Auch legten die weiblichen Testtiere der LIG- und IUS-Gruppe eine signifikant weitere Strecke im inneren Bereich zurück als die weiblichen Kontrolltiere. Die Weibchen der IUS-Gruppe waren zudem signifikant häufiger im inneren Bereich (Frequenz) und waren dort mit einer geringeren Geschwindigkeit unterwegs im Vergleich zu den Kontrolltieren. In den weiteren Parametern konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den unterschiedlichen Gruppen ermittelt werden. Die Ergebnisse des Open-Field Tests sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

<b>OPEN-FIELD (5 MINUTEN)</b>	LIG m	IUS m	LIG w	IUS w
Verbrachte Zeit (innen)	-	-	↑*	↑****
Verbrachte Zeit (außen)	-	-	↓*	↓****
Zurückgelegte Distanz (innen)	-	-	↑*	↑**
Zurückgelegte Distanz (außen)	-	-	-	-
Zurückgelegte Distanz (Arena)	-	-	-	-
Frequenz (innen)	-	-	-	↑*
Geschwindigkeit (innen)	-	-	-	↓*
Geschwindigkeit (außen)	-	-	-	-
Geschwindigkeit (Arena)	-	-	-	-
Frequenz (Ecke oben links)	-	-	-	-
Verbrachte Zeit (Ecke oben links)	-	-	-	-
Frequenz (Ecke oben rechts)	-	-	-	-
Verbrachte Zeit (Ecke oben rechts)	-	-	-	-
Frequenz (Ecke unten links)	-	-	-	-
Verbrachte Zeit (Ecke unten links)	-	-	-	-
Frequenz (Ecke unten rechts)	-	-	-	-
Verbrachte Zeit (Ecke unten rechts)	-	-	-	-

**Tabelle 3** Tabellarische Zusammenfassung der Open-Field Ergebnisse ↑/↓: Ergebnis weicht signifikant von dem Ergebnis der Kontrollgruppe. (LIG m = Ligatur-Männchen, IUS m = intrauteriner Stress-Männlich, LIG w = Ligatur-Weibchen, IUS w = intrauteriner Stress-Weibchen, \*/\*\*/\*\* = signifikant im Mann-Whitney-U-Test ( $p < 0,05$  /  $p < 0,01$  /  $p < 0,001$ ).

### **4.3.3. Zusammenfassung – Elevated Zero Maze**

Da die Auswertung der ersten sechs Minuten die ermittelten Signifikanzen der ersten drei Minuten beinhaltet, fassen wir der übersichtshalber die Ergebnisse nach Auswertung der ersten sechs Minuten zusammen.

Bezogen auf die Kontrolltiere, konnte nachgewiesen werden, dass sich die weiblichen und männlichen LIG-Tiere sowie die männlichen IUS-Tiere eine signifikant längere Zeit im freien, ungeschützten Bereich aufhielten und entsprechend eine kürzere Zeit im geschützten Bereich verbrachten. Des Weiteren legten die weiblichen und männlichen Testtiere der LIG-Gruppe sowie die weiblichen Testtiere der IUS-Gruppe eine signifikant weitere Strecke in der gesamten Arena und im freien Bereich der Arena zurück. Auch konnte nachgewiesen werden, dass die weiblichen und männlichen Testtiere der LIG- sowie die IUS-Weibchen eine schnellere Geschwindigkeit in der gesamten Arena aufwiesen. Im geschützten Bereich kann, bezogen auf die Kontrolltiere eine erhöhte Geschwindigkeit von allen Tieren der LIG- und IUS-Gruppe nachgewiesen werden. Im freien Bereich sind nur die LIG-Männchen signifikant schneller als die Kontrolltiere. In den weiteren Parametern konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den unterschiedlichen Gruppen ermittelt werden. Die Ergebnisse des Elevated Zero Maze Tests sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

<b>Elevated Zero Maze (6 Minuten)</b>	LIG m	IUS m	LIG w	IUS w
Verbrachte Zeit (freier Ber.)	↑*	↑*	↑*	-
Verbrachte Zeit (gesch. Ber.)	↓*	↓*	↓*	-
Zurückgelegte Distanz (freier Ber.)	↑*	-	↑***	↑**
Zurückgelegte Distanz (gesch. Ber.)	-	-	-	-
Zurückgelegte Distanz (Arena)	↑*	-	↑**	↑*
Frequenz (freier Ber.)	-	-	-	-
Frequenz (gesch. Ber.)	-	-	-	-
Geschwindigkeit (freier Ber.)	↑*	-	-	-
Geschwindigkeit (gesch. Ber.)	↑**	↑*	↑***	↑*
Geschwindigkeit (Arena)	↑**	-	↑**	↑*

**Tabelle 4** Tabellarische Zusammenfassung der Elevated Zero Maze Ergebnisse ↑/↓: Ergebnis weicht signifikant von dem Ergebnis der Kontrollgruppe. (LIG m = Ligatur-Männchen, IUS m = intrauteriner Stress-Männlich, LIG w = Ligatur-Weibchen, IUS w = intrauteriner Stress-Weibchen, \*/\*\*/\*\* = signifikant im Mann-Whitney-U-Test ( $p < 0,05$  /  $p < 0,01$  /  $p < 0,001$ ).

#### 4.3.4. Zusammenfassung – Barnes Maze

In der Auswertung der Barnes Maze Ergebnisse kann nachgewiesen werden, dass die Männchen der LIG-Gruppe im zweiten und dritten Durchgang signifikant weniger Zeit in der Zielzone verbringen als die Kontrolltiere. Im vierten Durchgang verbringen die LIG-Weibchen bezogen auf die Kontrolltiere signifikant weniger Zeit in der „neuen Zielzone“. Auch legen die LIG-Weibchen eine signifikant kürzere Strecke in der „neuen Zielzone“ zurück im Vergleich zu den Kontrolltieren. In den weiteren Parametern konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen nachgewiesen werden.

<b>BARNES MAZE</b>	Durchgang	LIG m	IUS m	LIG w	IUS w
Zurückgelegte Distanz Arena Parameter 1	1. Durchgang	-	-	-	-
	2. Durchgang	-	-	-	-
	3. Durchgang	-	-	-	-

<b>BARNES MAZE</b>	Durchgang	LIG m	IUS m	LIG w	IUS w
Zurück- gelegte Distanz Arena Parameter 1	4. Durchgang (alte FBP)	-	-	-	-
	4. Durchgang (neue FBP)	-	-	-	-
Zeit bis zum Eintreten in die Fluchtbox Parameter 2	1. Durchgang	-	-	-	-
	2. Durchgang	-	-	-	-
	3. Durchgang	-	-	-	-
	4. Durchgang (neue FBP)	-	-	-	-
Zeit vom Finden- bis zum Eintreten in die FB Parameter 4	1. Durchgang	-	-	-	-
	2. Durchgang	-	-	-	-
	3. Durchgang	-	-	-	-
	4. Durchgang (neue FBP)	-	-	-	-
Zeit bis zum Finden der Fluchtbox Parameter 6	1. Durchgang	-	-	-	-
	2. Durchgang	-	-	-	-
	3. Durchgang	-	-	-	-

<b>BARNES MAZE</b>		LIG m	IUS m	LIG w	IUS w
Zeit bis zum Finden der Fluchtbox Parameter 6	4. Durchgang (alte FBP)	-	-	-	-
	4. Durchgang (neue FBP)	-	-	-	-
Verbrachte Zeit Zielzone Parameter 8	1. Durchgang	-	-	-	-
	2. Durchgang	↓*	-	-	-
	3. Durchgang	↓*	-	-	-
	4. Durchgang (alte Zielzone)	-	-	-	-
	4. Durchgang (neue Zielzone)	-	-	↓*	-
Zurückgelegte Distanz Zielzone Parameter 9	1. Durchgang	-	-	-	-
	2. Durchgang	-	-	-	-
	3. Durchgang	-	-	-	-
	4. Durchgang (alte Zielzone)	-	-	-	-
	4. Durchgang (neue Zielzone)	-	-	↓*	-
Zeit bis zu Betreten der alten Zielzone Parameter 10	4. Durchgang (alte Zielzone)	-	-	↓**	-

**Tabelle 5** Tabellarische Zusammenfassung der Barnes Maze Ergebnisse ↑/↓: Ergebnis weicht signifikant von dem Ergebnis der Kontrollgruppe. (LIG m = Ligatur-Männchen, IUS m = intrauteriner Stress-Männlich, LIG w = Ligatur-Weibchen, IUS w = intrauteriner Stress-Weibchen, \*/\*\*/\*\* = signifikant im Mann-Whitney-U-Test ( $p < 0,05$  /  $p < 0,01$  /  $p < 0,001$ ).

## **5. Diskussion**

### **5.1. IUGR-Phänotyp**

#### **5.1.1. Auswirkungen der experimentellen IUGR auf das Körpergewicht an P1, P2, P7 und P12**

Die in unserer Arbeit durch eine bilaterale Ligatur der Aa. uterinae verursachte experimentelle Plazentainsuffizienz führt zu einem IUGR-Phänotyp mit einem signifikant geringeren Körpergewicht verglichen mit der Kontrollgruppe. Passend zu den Ergebnissen von vorherigen Studien konnte in dieser Arbeit bestätigt werden, dass auch intrauteriner Stress, verursacht durch das Modell der Scheinoperation, zu einem IUGR-Phänotyp mit einem signifikant geringeren Geburtsgewicht verglichen mit der Kontrollgruppe führt. Die Nachkommen der LIG-Gruppe weisen jedoch einen deutlicheren Wachstumsrestriktions-Phänotyp auf als die der IUS-Gruppe. Das signifikant verminderte Körpergewicht bleibt bei den Männchen und Weibchen der LIG-Gruppe bis P12 durchgehend bestehen, wohingegen bei den Weibchen der IUS-Gruppe an P7 verglichen mit der Kontrollgruppe kein signifikant vermindertes Körpergewicht nachgewiesen werden kann. Es kann somit dargestellt werden, dass unterschiedliche Ursachen einer IUGR zu unterschiedlichen Phänotypen mit spezifischem anschließenden Aufholwachstum führen. Dieses Wissen lässt vermuten, dass die in 2.1. erläuterte intrauterine Programmierung ursachenspezifisch ist und zu vielfältigen neurokognitiven Folgen führen kann. In vorangegangenen Studien spiegelte sich dies unter anderem im neurologischen Outcome wider. So konnten Ruff und Kollegen mithilfe eines Rattenmodells zeigen, dass das Ausmaß der intrauterinen Wachstumsrestriktion mit dem Ausmaß der neuronalen Schädigung korreliert.<sup>49</sup> In einem weiteren Tiermodell konnte nachgewiesen werden, dass neurologische Folgeschäden in der Gruppe mit experimenteller Plazentainsuffizienz ausgeprägter waren als in der Gruppe mit maternaler Mangelernährung.<sup>32</sup> Es konnte beobachtet werden, dass die neuropathologischen Folgen vor allem abhängig von der Schwere und dem Zeitpunkt der intrauterinen Minderversorgung sind.<sup>28, 29</sup>

#### **5.1.2. Auswirkungen der experimentellen IUGR auf das Körpergewicht an P180**

Am späten Zeitpunkt P180 konnten keine signifikanten Gewichtsunterschiede zwischen den Gruppen mehr nachgewiesen werden. Das Gewicht hatte sich sowohl in der LIG-Gruppe als auch in der IUS-Gruppe, dem der Kontrollgruppe angeglichen. Dies passt zum Phänomen des Aufholwachstums (*catch up growth*), das auch bei Menschen bekannt ist.<sup>50, 51</sup> In der Literatur wird kontrovers diskutiert, ob das niedrige Geburtsgewicht oder das anschließende Aufholwachstum für die Langzeitfolgen von IUGR von größerer Bedeutung ist.<sup>52</sup> Einerseits ist ein niedriges Gewicht bei Säuglingen mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität assoziiert,

andererseits konnten verschiedene Studien darstellen, dass ein schnelles Aufholwachstum negative metabolische Folgen zu haben scheint.<sup>53</sup> Kelishadi und Kollegen konnten darstellen, dass das schnelle Aufholwachstum von Säuglingen mit einem geringen Geburtsgewicht ein wichtigerer Faktor für das anschließend erhöhte kardiovaskuläre Risiko zu sein scheint als das niedrige Geburtsgewicht an sich.<sup>54</sup> In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass ein geringes Geburtsgewicht mit anschließendem schnellem Aufholwachstum das Risiko für die Entwicklung einer gestörten Glukosetoleranz sowie für Adipositas erhöht.<sup>55, 56</sup> Bezüglich der neurokognitiven Entwicklung scheint ein schnelles Aufholwachstum jedoch einen eher positiven Einfluss zu haben. So konnten Fattal-Valevski und Kollegen in einer prospektiven epidemiologischen Studie mit 136 Kindern nachweisen, dass sich ein schnelles Aufholwachstum positiv auf die neurokognitive Entwicklung auswirkt.<sup>57</sup> Diese Beobachtung konnte in experimentellen Tiermodellen bestätigt werden. In einem Tiermodell von Fernandez-Feijoo und Kollegen zeigten von IUGR betroffene Mäuse ohne Aufholwachstum Lerndefizite, wohingegen von IUGR betroffene Mäusen mit Aufholwachstum eine ähnliche Lernkurve wie die Kontrollgruppe hatten.<sup>58</sup> In einem weiteren Tiermodell konnte gezeigt werden, dass von IUGR betroffene Ratten mit schnellem Aufholwachstum einen erhöhten pulmonal-arteriellen Mitteldruck sowie eine veränderte pulmonale Vaskularisation im Vergleich zu IUGR-Ratten ohne Aufholwachstum zeigten. Weiter konnte in derselben Studie dargestellt werden, dass von IUGR betroffene Ratten ohne Aufholwachstum ein schlechteres neurokognitives Outcome sowie eine geringere Expression des für die Gedächtnisentwicklung wichtigen Gens *zif268* im Hippocampus zeigten.<sup>59</sup> Es scheint, dass der Organismus unter IUGR die negativen metabolischen Folgen zu Gunsten einer besseren neurokognitiven Entwicklung in Kauf nehmen muss.<sup>52</sup> Weitere Studien sind erforderlich, um ein besseres Verständnis des Einflusses von Aufholwachstum bei IUGR auf die neurokognitive Entwicklung zu ermöglichen.

### **5.1.3. Auswirkungen von IUGR auf das Gehirngewicht und die Ratio von Gehirn- zu Körpergewicht**

Das absolute Gehirngewicht war bei beiden experimentellen Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe an allen Messdaten nicht vermindert. Entsprechend war das Verhältnis von Gehirn- zu Körpergewicht erhöht. Dass die experimentell induzierte IUGR keine Auswirkung auf das absolute Gehirngewicht in beiden Gruppen hat, lässt sich mit dem *brain sparing* Effekt erklären. Der genaue Mechanismus des *brain sparing* Effekts ist noch nicht ausreichend erforscht. Es konnte nachgewiesen werden, dass der Fetus auf den intrauterinen Mangelzustand mit einer neuroendokrinen Anpassung reagiert, welche die somatische Wachstumsrate zu Gunsten einer ausreichenden zerebralen Versorgung verlangsamt.<sup>60</sup> Des Weiteren findet eine Anpassung des Blutkreislaufes statt, ebenfalls mit dem Ziel, vor allem das Gehirn mit Sauerstoff und Nährstoffen versorgen zu können.<sup>61</sup> Hieraus folgt, wie bei unserem

Tiermodell, die Entwicklung einer asymmetrischen IUGR mit einer erhöhten Ratio von Gehirn- zu Körpergewicht. *Brain sparing* ist zwar ein Versuch des Fetus, trotz der intrauterinen Mangelversorgung, eine möglichst normale Entwicklung des Gehirns zu ermöglichen, doch konnte in Studien mit von asymmetrischer IUGR betroffenen Kindern eine Beeinträchtigung der neurokognitiven Entwicklung beobachtet werden.<sup>62-63-18</sup> Die Gehirnentwicklung wird trotz *brain sparing* durch die Minderversorgung beeinträchtigt. In weiteren investigativen Studien konnte sowohl per Bildgebung bei von IUGR betroffenen Kindern als auch in experimentellen Tiermodellen eine Veränderung der Hirnmorphologie nach IUGR nachgewiesen werden.<sup>64-65-66-67</sup> Hier wurde eine besondere Vulnerabilität der grauen Substanz, insbesondere des Hippocampus, beschrieben.<sup>64-65-66</sup> In Tiermodellen konnte eine Veränderung der Zellzusammensetzung im Hippocampus nach IUGR nachgewiesen werden.<sup>44</sup> Diese Beobachtung konnte in den histologischen Untersuchungen des Hippocampus, im Rahmen des übergeordneten DFG-Projektes, bestätigt werden. In den Doktorarbeiten von Laura Oberholz, Mira Joanna Wingender und Charlotte Sophie Schömig führten die verschiedenen pathophysiologischen Ursachen der asymmetrischen IUGR zu einer spezifisch veränderten Zellzusammensetzungen im Hippocampus.<sup>68-69-70</sup> Die oben genannten Befunde liefern mögliche Erklärungsansätze für die Entwicklung von neurokognitiven Defiziten bei Kindern mit einer asymmetrischen IUGR.

## **5.2. Verhaltenstests**

### **5.2.1. Open-Field – IUGR führt zu einem erhöhten Aktivitätslevel**

Knight und Kollegen wiesen in einem experimentellen Tiermodell mit Wistar-Ratten nach, dass bei dieser Spezies eine physiologisch erhöhte Aktivität der Weibchen im Vergleich zu den Männchen vorliegt.<sup>71</sup> Diese resultierte darin, dass die weiblichen Wistar-Ratten im Open-Field Test mehr Zeit im inneren Bereich der Apparatur verbrachten und den inneren Bereich häufiger betraten als die Wistar-Männchen. Im Elevated Plus Maze Test verbrachten die Wistar-Weibchen verglichen mit den Wistar-Männchen mehr Zeit in den ungeschützten Bereichen der Apparatur und besuchten diese mit einer häufigeren Frequenz im Vergleich zu den Männchen.<sup>71</sup> In der vorliegenden Arbeit kann diese Beobachtung in der Auswertung des Open-Field Verhaltenstests bestätigt werden. Wir werten die ausschließlich bei den weiblichen Versuchstieren beobachteten Signifikanzen so, dass sich die Verhaltensunterschiede zwischen den Gruppen durch die erhöhte Aktivität der weiblichen Wistar-Ratten bei diesen deutlicher herauskristallisieren als bei den männlichen Wistar-Ratten. In der dieser Arbeit zugehörigen Auswertung des Open-Field Tests kann dargestellt werden, dass die LIG-Weibchen sowie die IUS-Weibchen verglichen mit den Weibchen der Kontrollgruppe signifikant mehr Zeit im inneren Bereich und weniger Zeit im äußeren Bereich der Apparatur

verbringen. Des Weiteren legen die Weibchen beider Gruppen verglichen mit der Kontrollgruppe eine signifikant längere Strecke im inneren Bereich der Apparatur zurück. Die IUS-Weibchen betreten den inneren Bereich der Apparatur signifikant häufiger als die weiblichen Kontrolltiere. Dieses Verhalten kann verglichen mit den weiblichen Kontrolltieren auf ein erhöhtes Aktivitätsniveau der LIG- und der IUS-Weibchen hinweisen. In klinischen Studien mit von IUGR betroffenen Kindern konnte mehrfach nachgewiesen werden, dass IUGR zu einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von Aufmerksamkeits-Defizits-Hyperaktivitäts-Störung (ADHS) führt.<sup>72-73-24-74-23</sup> Delcour und Kollegen kamen in einem experimentellen IUGR-Rattenmodell zu einem dieser Arbeit ähnlichem Ergebnis. Auch hier zeigten die Ratten, welche durch eine maternale unilaterale Ligatur der A. uterina eine pränatale cerebrale Hypoxie erlitten, ein erhöhtes exploratives Verhalten sowie eine motorische Hyperaktivität im Open-Field Test. Andere experimentelle IUGR Tiermodelle kamen jedoch zu einem anderen Ergebnis. So zogen die IUGR Versuchstiere von Rains und Kollegen den äußeren Bereich der Open-Field Apparatur vor und legten eine kürzere Strecke zurück, was von Rains und seiner Arbeitsgruppe als erhöhtes ängstliches und vermindertes exploratives Verhalten gedeutet wurde.<sup>75</sup> Ein möglicher Erklärungsansatz für die Diskrepanz der Ergebnisse könnten die Unterschiede im Zeitpunkt-, der Ursache sowie der Schwere der fetalen Minderversorgung liegen.<sup>28, 29</sup> Durch das Anbringen eines Clips an der kaudalen Aorta über der Bifurkation an E14 wurde von Rains und seinen Kollegen eine uterine Minderperfusion verursacht, welche zu einem IUGR-Phänotyp bei den Nachkommen führte.<sup>75</sup> Delcour und Kollegen verursachten eine IUGR bei den Nachkommen durch eine unilaterale Ligatur der A. uterina an E17.<sup>76</sup> Hyperaktivität tritt vor allem in einer späten Störung der zerebralen Entwicklung auf.<sup>77</sup> Hirnareale, welche von einer späten Störung der Gehirnentwicklung betroffen sind, sind insbesondere der Hippocampus.<sup>77</sup> Shen et al. beschrieben bereits 1991, dass eine Schädigung des Hippocampus zu Hyperaktivität bei den Betroffenen führt.<sup>77</sup> Im Rahmen des dieser Arbeit übergeordneten DFG-Projektes wurden die Gehirne der Versuchstiere unseres Tiermodells im Rahmen der Doktorarbeiten von Mira Joanna Wingender und Laura Oberholz untersucht. Tatsächlich konnte eine veränderte Zellzusammensetzung im Hippocampus der LIG- und IUS-Tiere nachgewiesen werden.<sup>69, 68</sup>

### **5.2.2. Elevated Zero Maze – IUGR scheint zu einem reduzierten Angstverhalten zu führen**

Im Elevated Zero Maze Test verbrachten die Versuchstiere der LIG-Gruppe sowie die Männchen der IUS-Gruppe verglichen mit den Kontrolltieren signifikant mehr Zeit im freien ungeschützten Bereich der Zero Maze Apparatur und weniger Zeit im geschützten Bereich. Das Ergebnis deutet auf ein reduziertes Angstverhalten der Versuchstiere hin, zumal beim Elevated Zero Maze eine reale Gefahr bestand von den unbewandeten und somit

ungeschützten Bereichen des Laufstegs abzurutschen und auf den Boden zu fallen. Tatsächlich rutschten 17% der LIG-Männchen, 10% der LIG-Weibchen und 43% der IUS-Männchen von der Testapparatur ab und fielen zu Boden. Das Ergebnis weicht von der aktuellen Studienlage ab. In epidemiologischen Studien konnte mehrfach nachgewiesen werden, dass IUGR zu einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von Angststörungen führt.<sup>78-20-21-79</sup> Auch tierexperimentell konnte dieser Zusammenhang bestätigt werden.<sup>75, 80</sup> In einer Arbeit von Illa und Kollegen zeigten von IUGR betroffene Kaninchen ein erhöhtes Angstverhalten im Vergleich zu den Kontrolltieren.<sup>80</sup> Andererseits verbrachten in einer weiteren Arbeit von Fan und Kollegen Ratten, welche an P4 eine zerebrale Hypoxie durch eine bilaterale Okklusion der Aa. carotis erlitten, im Elevated Plus Maze mehr Zeit im ungeschützten Bereich als die Kontrolltiere, was als eine Verminderung des Angstverhaltens gedeutet wurde. Fan und Kollegen schlossen daraus, dass eine frühe postnatale zerebrale Hypoxie zu einem verminderten Angstverhalten führen könnte.<sup>81</sup> Ein Zeitfenster für eine besondere Vulnerabilität des Gehirns, welche in der späten pränatalen und frühen postnatalen Periode zu ähnlichen zerebralen Schäden führt, ist möglich, bedarf jedoch weiterer Forschung. IUGR führt zur Anpassung und somit zur Veränderung der Hypothalamischen-Hypophysen-Achse.<sup>82</sup> Es konnte nachgewiesen werden, dass sich Veränderungen in der Hypothalamischen-Hypophysen-Achse auf das Angstverhalten auswirken.<sup>83</sup> Ob das in dieser Arbeit beobachtete verminderte Angstverhalten der Versuchstiere durch eine Veränderung der Hypothalamischen-Hypophysen-Achse bedingt ist, bedarf weiterer Forschung. Eine weitere Deutungsmöglichkeit des Ergebnisses ist, dass das bereits im Open-Field Test aufgefallenen erhöhte Aktivitätsniveau der Versuchstiere zum vermehrten Betreten der ungeschützten Fläche führt und nicht ein vermindertes Angstverhalten per se. Dafür würde auch sprechen, dass die Versuchstiere eine signifikant weitere Strecke im Elevated Zero Maze zurücklegten und signifikant schneller unterwegs waren als die Kontrolltiere. Das erhöhte Aktivitätsniveau könnte zu fehlender Vorsicht und unüberlegtem Handeln der Testtiere geführt haben, was bei den oben genannten Testtieren zum Abrutschen von der Testapparatur geführt haben könnte.

### **5.2.3. Barnes Maze – IUGR führt zu keiner Beeinträchtigung der räumlichen Orientierung oder der Lernfähigkeit**

In epidemiologischen Studien mit von IUGR betroffenen Kindern stellte sich heraus, dass diese an einer schlechteren räumlichen Orientierung sowie an einer Beeinträchtigung des Kurzzeitgedächtnisses leiden.<sup>12, 18</sup> Des Weiteren wurden Lernschwierigkeiten beschrieben, die, verglichen mit Kindern mit einem normalen Geburtsgewicht, in schlechtere akademische Leistungen resultierten.<sup>14, 13</sup> In dieser Arbeit konnte keine Beeinträchtigung der räumlichen Orientierung oder der Lernfähigkeit durch IUGR nachgewiesen werden. Es konnte nachgewiesen werden, dass die LIG-Weibchen, verglichen mit den Kontrolltieren, im vierten

Durchgang signifikant schneller die alte Zielzone wiederfanden. Dies könnte ein Hinweis auf eine bessere Lernfähigkeit der LIG-Weibchen sein. Es könnte jedoch auch mit dem zuvor im Open-Field Test nachgewiesenem erhöhten Aktivitätsniveau der LIG-Weibchen erklärbar sein. Diese Deutungsmöglichkeit scheint wahrscheinlicher, da sich keine weiteren Signifikanzen hinweisend auf eine bessere Lernfähigkeit der LIG-Weibchen ergaben. Die Lernerfolge der LIG- und IUS-Gruppen unterschieden sich nicht signifikant von denen der Kontrollgruppe. In vorangegangenen Studien konnte mithilfe von experimentellen Tiermodellen eine Beeinträchtigung des Kurzzeitgedächtnisses unter IUGR nachgewiesen werden.<sup>75-80-84</sup> In einer Studie von Camprubi und Kollegen zeigten von IUGR betroffene Ratten im Vergleich zu den Kontrolltieren langsamere Lernfortschritte im Moris Water Maze Test.<sup>85</sup> Die Diskrepanz der o.g. Studienergebnisse zu unserem Ergebnis könnte darin begründet liegen, dass in den o.g. Experimenten die Verhaltenstests bei deutlich jüngeren Testtieren durchgeführt wurden und sich das geringe Körpergewicht bei Geburt womöglich im Sinne des catch-up-growth noch nicht angepasst hatte. Wie in Kapitel 5.1.2 beschrieben, konnte nachgewiesen werden, dass das Aufholwachstum bei IUGR einen positiven Einfluss auf die neurokognitive Entwicklung und das Lernverhalten hat. Diese Beobachtung konnte im experimentellen Tiermodell bestätigt werden.<sup>58</sup> Wir führten die Verhaltenstests an P164 durch. Zu diesem Zeitpunkt hatte sich das initial im Vergleich zur Kontrollgruppe geringe Körpergewicht der Testtiere wahrscheinlich dem der Kontrolltiere wieder angepasst. An P180 konnten keine signifikanten Unterschiede mehr bezüglich des Körpergewichts zwischen den unterschiedlichen Gruppen nachgewiesen werden. In der Studie von Delcour und Kollegen konnten im „object-recognition task“ und im „object-location task“ Einschränkungen im Kurz- und Langzeitgedächtnis bei von IUGR betroffenen Ratten nachgewiesen werden. In derselben Studie zeigten sich im Moris Water Maze Test jedoch keine Einschränkung des Erinnerungsvermögens bzw. der Lernfähigkeit.<sup>84</sup> Die Inkonsistenz in den Ergebnissen könnte darin begründet liegen, dass in den unterschiedlichen Verhaltenstests unterschiedliche Gedächtnisleistungen überprüft werden. Auch können Unterschiede in den Ergebnissen durch die Unterschiede in der Länge der Übungszeit und des Pausenintervalls zwischen Lern- und Testphase den Lernprozess und somit das Ergebnis maßgeblich beeinflussen. In der vorliegenden Arbeit hatten die Ratten im Barnes Maze Test einen Habituationstag und einen Testtag mit jeweils vier Durchläufen pro Tag. Camprubi und Kollegen erwähnen in ihrer Arbeit keinen Habituationstag und untersuchten die Zeit bis zum Erreichen der Plattform an 10 aufeinanderfolgenden Tagen mit jeweils vier Durchläufen pro Tag. Das Erreichen der Plattform im Moris Water Maze Test entspricht dem Eintreten in die Fluchtbox im Barnes Maze Test.

### **5.3. Geschlechtsspezifische Unterschiede**

Einige epidemiologische Studien konnten eine spezifische neurologische und psychiatrische Vulnerabilität des männlichen Geschlechts nach IUGR nachweisen.<sup>42–24–86</sup> Wie bereits unter 2.4. erläutert, konnten mithilfe von Tierexperimenten geschlechtsspezifische molekulare, zelluläre und epigenetische Veränderungen im Hippocampus nach IUGR nachgewiesen werden, welche als mögliche Erklärungsansätze für die klinisch beobachteten geschlechtsspezifischen Unterschiede dienen.<sup>44–45–46</sup> Im Rahmen des dieser Arbeit übergeordneten DFG-Projektes wurden die Gehirne, insbesondere der Hippocampus, im Rahmen der Doktorarbeiten von Laura Oberholz, Mira Joanna Wingender und Charlotte Sophie Schömig histologisch und morphologisch untersucht. Auch hier konnten geschlechtsspezifische Veränderungen nachgewiesen werden.<sup>68–69–70</sup> In Verhaltenstests mit IUGR-Tiermodellen ist man zu unterschiedlichen Ergebnissen gekommen. In einem IUGR-Tiermodell durch die bilaterale Ligatur der Aa. uterinae fielen Tashima und seinen Kollegen am postnatalen Tag 49 Verhaltensauffälligkeiten nur bei den männlichen Nachkommen im Vergleich zur Kontrollgruppe auf.<sup>43</sup> In anderen Verhaltenstests mit IUGR-Tiermodellen konnten hingegen keine Verhaltensunterschiede zwischen den unterschiedlichen Geschlechtern nachgewiesen werden.<sup>85, 34</sup> In dieser Arbeit zeigen sich im Open-Field Test ausschließlich bei den Weibchen der LIG- und IUS-Gruppe Verhaltensauffälligkeiten. Dies könnte auf eine erhöhte Vulnerabilität der weiblichen Ratte für ADHS nach IUGR hinweisen. Da in einer Übersichtsarbeit von Knight und Kollegen jedoch eine physiologisch erhöhte Aktivität der weiblichen Wistar-Ratte beschrieben wird, ist es wahrscheinlicher, dass sich die Verhaltensunterschiede zwischen den Testgruppen und der Kontrollgruppe bei den Weibchen deutlicher herauskristallisieren als bei den physiologisch weniger aktiven Männchen.<sup>71</sup> Im Elevated Zero Maze Test sowie im Barnes Maze Test können keine geschlechtsspezifischen Verhaltensunterschiede beobachtet werden. In dieser Arbeit können somit keine Verhaltensunterschiede zwischen den unterschiedlichen Geschlechtern nachgewiesen werden.

### **5.4. Vorteile und Limitationen der verwendeten Methoden**

Das in dieser Arbeit verwendete Tiermodell bietet den Vorteil, dass die beiden Ursachen einer IUGR, late-onset Plazentainsuffizienz und intrauteriner Stress, separat untersucht werden können. Aufgrund des meist retrospektiven Charakters klinischer Studien ist dies beim Menschen nicht möglich. Es muss jedoch kritisiert werden, dass der Übertragbarkeit auf den Menschen Grenzen gesetzt sind. Dies ist zum einen durch die biologischen Unterschiede zwischen Mensch und Ratte begründet. So ist unter anderem die Gehirnentwicklung bei der Ratte und beim Menschen nicht identisch.<sup>87</sup> Zum anderen wird eine IUGR beim Menschen

nicht durch eine plötzliche Ligatur der uterinen Gefäße verursacht, sondern hat einen anderen Pathomechanismus, der wiederum andere neuropathologische Mechanismen zur Folge haben könnte als in unserem Tiermodell. Fleiss und Kollegen forderten in einer Übersichtsarbeit, mehr Tiermodelle zu wählen, in welchen eine Plazentainsuffizienz bereits zu Beginn der Schwangerschaft präsent ist.<sup>88</sup> Auch schlagen sie vor, eine Plazentainsuffizienz im Tiermodell wie in der klinischen Praxis beim Menschen mittels sonographischer Untersuchung der uterinen Gefäße zu validieren.<sup>88</sup> Dies könnte zu einer besseren Übertragbarkeit des Tiermodells auf den Menschen beitragen. Kein Tiermodell schafft es alle multifaktoriellen Ursachen und Konsequenzen einer IUGR in sich zu vereinen, aber unser Tiermodell gibt uns die Möglichkeit, ein besseres Verständnis für die neuropathologischen Folgen einer IUGR, bedingt durch Plazentainsuffizienz oder intrauterinen Stress, zu entwickeln.

Die Ergebnisse des Barnes Maze Tests weichen von der aktuellen Studienlage ab. Hier könnte das Ergebnis durch die Streu, welche vom ersten bis zum dritten Durchgang am Testtag in der Fluchtbox belassen wurde, beeinflusst worden sein. Es besteht die Möglichkeit, den Ratten einen olfaktorischen Hinweis gegeben zu haben. Es wäre somit interessant zu wissen, ob sich das Ergebnis ändern würde, wenn man die Streu in der Fluchtbox am Testtag wegließe. Des Weiteren wurden in der Literatur den Testtieren im Barnes Maze Test häufig mehr Habituationstage gegeben.<sup>89</sup> Es besteht die Möglichkeit, dass sich die Signifikanzen eher herauskristallisieren, wenn man den Testtieren mehr Zeit zum Erlernen der Fluchtboxposition gegeben hätte. Interessant wäre auch, die Testtiere an verschiedenen Zeitpunkten zu testen, um die Dynamik der neurokognitiven Entwicklung nach IUGR untersuchen zu können.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Gardosi J. Intrauterine growth restriction: new standards for assessing adverse outcome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2009; **23**(6): 741-9.
2. Sharma D, Shastri S, Farahbakhsh N, Sharma P. Intrauterine growth restriction - part 1. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2016; **29**(24): 3977-87.
3. Broere-Brown ZA, Schalekamp-Timmermans S, Jaddoe VWV, Steegers EAP. Deceleration of fetal growth rate as alternative predictor for childhood outcomes: a birth cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth* 2019; **19**(1): 216.
4. Aditya I, Tat V, Sawana A, Mohamed A, Tuffner R, Mondal T. Use of Doppler velocimetry in diagnosis and prognosis of intrauterine growth restriction (IUGR): A Review. *J Neonatal Perinatal Med* 2016; **9**(2): 117-26.
5. Baschat AA, Hecher K. Fetal growth restriction due to placental disease. *Semin Perinatol* 2004; **28**(1): 67-80.
6. Scott A, Moar V, Ounsted M. The relative contribution of different maternal factors in large-for-gestational-age pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1982; **13**(5): 269-77.
7. Barker DJ, Osmond C, Golding J, Kuh D, Wadsworth ME. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *Bmj* 1989; **298**(6673): 564-7.
8. Varvarigou AA. Intrauterine growth restriction as a potential risk factor for disease onset in adulthood. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2010; **23**(3): 215-24.
9. Dötsch J, Plank C, Amann K. Fetal programming of renal function. *Pediatr Nephrol* 2012; **27**(4): 513-20.
10. Dötsch J, Plank C, Amann K, Ingelfinger J. The implications of fetal programming of glomerular number and renal function. *J Mol Med (Berl)* 2009; **87**(9): 841-8.
11. Berle J, Mykletun A, Daltveit AK, Rasmussen S, Dahl AA. Outcomes in adulthood for children with foetal growth retardation. A linkage study from the Nord-Trøndelag Health Study (HUNT) and the Medical Birth Registry of Norway. *Acta Psychiatr Scand* 2006; **113**(6): 501-9.
12. Leitner Y, Heldman D, Harel S, Pick CG. Deficits in spatial orientation of children with intrauterine growth retardation. *Brain Res Bull* 2005; **67**(1-2): 13-8.

13. Geva R, Eshel R, Leitner Y, Valevski AF, Harel S. Neuropsychological outcome of children with intrauterine growth restriction: a 9-year prospective study. *Pediatrics* 2006; **118**(1): 91-100.
14. Leitner Y, Fattal-Valevski A, Geva R, et al. Neurodevelopmental outcome of children with intrauterine growth retardation: a longitudinal, 10-year prospective study. *J Child Neurol* 2007; **22**(5): 580-7.
15. Tosun A, Gürbüz-Özgür B, Aksu H, Kaynak-Türkmen M. The long-term neurodevelopmental outcomes of infants born full-term with low birth weight. *Turk J Pediatr* 2017; **59**(2): 169-76.
16. Sacchi C, Marino C, Nosarti C, Vieno A, Visentin S, Simonelli A. Association of Intrauterine Growth Restriction and Small for Gestational Age Status With Childhood Cognitive Outcomes: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Pediatr* 2020; **174**(8): 772-81.
17. Levine TA, Grunau RE, McAuliffe FM, Pinnamaneni R, Foran A, Alderdice FA. Early childhood neurodevelopment after intrauterine growth restriction: a systematic review. *Pediatrics* 2015; **135**(1): 126-41.
18. Geva R, Eshel R, Leitner Y, Fattal-Valevski A, Harel S. Memory functions of children born with asymmetric intrauterine growth restriction. *Brain Res* 2006; **1117**(1): 186-94.
19. Partanen L, Korkalainen N, Mäkikallio K, Olsén P, Laukkanen-Nevala P, Yliherva A. Foetal growth restriction is associated with poor reading and spelling skills at eight years to 10 years of age. *Acta Paediatr* 2018; **107**(1): 79-85.
20. Lahti M, Eriksson JG, Heinonen K, et al. Late preterm birth, post-term birth, and abnormal fetal growth as risk factors for severe mental disorders from early to late adulthood. *Psychol Med* 2015; **45**(5): 985-99.
21. Boyle MH, Miskovic V, Van Lieshout R, et al. Psychopathology in young adults born at extremely low birth weight. *Psychol Med* 2011; **41**(8): 1763-74.
22. Shariat M, Gharaee J, Dalili H, Mohammadzadeh Y, Ansari S, Farahani Z. Association between small for gestational age and low birth weight with attention deficit and impaired executive functions in 3-6 years old children. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2019; **32**(9): 1474-7.

23. Aarnoudse-Moens CS, Weisglas-Kuperus N, van Goudoever JB, Oosterlaan J. Meta-analysis of neurobehavioral outcomes in very preterm and/or very low birth weight children. *Pediatrics* 2009; **124**(2): 717-28.
24. Lahti J, Räikkönen K, Kajantie E, et al. Small body size at birth and behavioural symptoms of ADHD in children aged five to six years. *J Child Psychol Psychiatry* 2006; **47**(11): 1167-74.
25. Soothill PW, Nicolaides KH, Campbell S. Prenatal asphyxia, hyperlacticaemia, hypoglycaemia, and erythroblastosis in growth retarded fetuses. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1987; **294**(6579): 1051-3.
26. Poudel R, McMillen IC, Dunn SL, Zhang S, Morrison JL. Impact of chronic hypoxemia on blood flow to the brain, heart, and adrenal gland in the late-gestation IUGR sheep fetus. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2015; **308**(3): R151-62.
27. Cohen E, Baerts W, van Bel F. Brain-Sparing in Intrauterine Growth Restriction: Considerations for the Neonatologist. *Neonatology* 2015; **108**(4): 269-76.
28. Baschat AA. Neurodevelopment after fetal growth restriction. *Fetal Diagn Ther* 2014; **36**(2): 136-42.
29. Ferguson KK, Sammallahti S, Rosen E, et al. Fetal Growth Trajectories Among Small for Gestational Age Babies and Child Neurodevelopment. *Epidemiology* 2021; **32**(5): 664-71.
30. Miller SL, Huppi PS, Mallard C. The consequences of fetal growth restriction on brain structure and neurodevelopmental outcome. *J Physiol* 2016; **594**(4): 807-23.
31. Nüsken KD, Schneider H, Plank C, et al. Fetal programming of gene expression in growth-restricted rats depends on the cause of low birth weight. *Endocrinology* 2011; **152**(4): 1327-35.
32. Illa M, Eixarch E, Muñoz-Moreno E, et al. Neurodevelopmental Effects of Undernutrition and Placental Underperfusion in Fetal Growth Restriction Rabbit Models. *Fetal Diagn Ther* 2017; **42**(3): 189-97.
33. van Marthens E, Harel S, Zamenshof S. Experimental intrauterine growth retardation. *Biol Neonate* 1975; **26**(3-4): 221-31.

34. Gilchrist CP, Cumberland AL, Kondos-Devic D, et al. Hippocampal neurogenesis and memory in adolescence following intrauterine growth restriction. *Hippocampus* 2021; **31**(3): 321-34.
35. Liu JP, Baker J, Perkins AS, Robertson EJ, Efstratiadis A. Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (Igf-1) and type 1 IGF receptor (Igf1r). *Cell* 1993; **75**(1): 59-72.
36. Morrison JL. Sheep models of intrauterine growth restriction: fetal adaptations and consequences. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008; **35**(7): 730-43.
37. Cumberland AL, Palliser HK, Rani P, Walker DW, Hirst JJ. Effects of combined IUGR and prenatal stress on the development of the hippocampus in a fetal guinea pig model. *J Dev Orig Health Dis* 2017; **8**(5): 584-96.
38. Camprubí M, Ortega A, Balaguer A, et al. Cauterization of meso-ovarian vessels, a new model of intrauterine growth restriction in rats. *Placenta* 2009; **30**(9): 761-6.
39. Powell-Braxton L, Hollingshead P, Warburton C, et al. IGF-I is required for normal embryonic growth in mice. *Genes Dev* 1993; **7**(12b): 2609-17.
40. Wigglesworth JS. Experimental Growth Retardation in the Foetal Rat. *J Pathol Bacteriol* 1964; **88**: 1-13.
41. Nüsken KD, Dötsch J, Rauh M, Rascher W, Schneider H. Uteroplacental insufficiency after bilateral uterine artery ligation in the rat: impact on postnatal glucose and lipid metabolism and evidence for metabolic programming of the offspring by sham operation. *Endocrinology* 2008; **149**(3): 1056-63.
42. Jarvis S, Glinianaia SV, Arnaud C, et al. Case gender and severity in cerebral palsy varies with intrauterine growth. *Arch Dis Child* 2005; **90**(5): 474-9.
43. Tashima L, Nakata M, Anno K, Sugino N, Kato H. Prenatal influence of ischemia-hypoxia-induced intrauterine growth retardation on brain development and behavioral activity in rats. *Biol Neonate* 2001; **80**(1): 81-7.
44. Fung C, Ke X, Brown AS, Yu X, McKnight RA, Lane RH. Uteroplacental insufficiency alters rat hippocampal cellular phenotype in conjunction with ErbB receptor expression. *Pediatr Res* 2012; **72**(1): 2-9.

45. O'Grady SP, Caprau D, Ke XR, et al. Intrauterine growth restriction alters hippocampal expression and chromatin structure of Cyp19a1 variants. *Syst Biol Reprod Med* 2010; **56**(4): 292-302.
46. Numpang B, Ke X, Yu X, et al. Fetal growth restriction alters hippocampal 17-beta estradiol and estrogen receptor alpha levels in the newborn male rat. *Syst Biol Reprod Med* 2013; **59**(4): 184-90.
47. Eilam D, Golani I. Home base behavior of rats (*Rattus norvegicus*) exploring a novel environment. *Behav Brain Res* 1989; **34**(3): 199-211.
48. Rosenfeld CS, Ferguson SA. Barnes maze testing strategies with small and large rodent models. *J Vis Exp* 2014; (84): e51194.
49. Ruff CA, Faulkner SD, Rumajogee P, et al. The extent of intrauterine growth restriction determines the severity of cerebral injury and neurobehavioural deficits in rodents. *PLoS One* 2017; **12**(9): e0184653.
50. Albertsson-Wikland K, Wennergren G, Wennergren M, Vilbergsson G, Rosberg S. Longitudinal follow-up of growth in children born small for gestational age. *Acta Paediatr* 1993; **82**(5): 438-43.
51. Tenovuo A, Kero P, Piekkala P, Korvenranta H, Sillanpää M, Erkkola R. Growth of 519 small for gestational age infants during the first two years of life. *Acta Paediatr Scand* 1987; **76**(4): 636-46.
52. Schömig CS. Einfluss verschiedener Ursachen der intrauterinen Wachstumsretardierung auf den mTOR-Signalweg im Hippocampus der Ratte. 2021. p. 69-71.
53. Victora CG, Barros FC. Commentary: The catch-up dilemma--relevance of Leitch's 'low-high' pig to child growth in developing countries. *Int J Epidemiol* 2001; **30**(2): 217-20.
54. Kelishadi R, Haghdoost AA, Jamshidi F, Aliramezany M, Moosazadeh M. Low birthweight or rapid catch-up growth: which is more associated with cardiovascular disease and its risk factors in later life? A systematic review and cryptanalysis. *Paediatr Int Child Health* 2015; **35**(2): 110-23.
55. Crowther NJ, Cameron N, Trusler J, Gray IP. Association between poor glucose tolerance and rapid post natal weight gain in seven-year-old children. *Diabetologia* 1998; **41**(10): 1163-7.

56. Ong KK, Loos RJ. Rapid infancy weight gain and subsequent obesity: systematic reviews and hopeful suggestions. *Acta Paediatr* 2006; **95**(8): 904-8.
57. Fattal-Valevski A, Toledano-Alhadeef H, Leitner Y, Geva R, Eshel R, Harel S. Growth patterns in children with intrauterine growth retardation and their correlation to neurocognitive development. *J Child Neurol* 2009; **24**(7): 846-51.
58. Duran Fernandez-Feijoo C, Carrasco Carrasco C, Villalanzo Francisco N, et al. Influence of catch up growth on spatial learning and memory in a mouse model of intrauterine growth restriction. *PLoS One* 2017; **12**(5): e0177468.
59. Yan L, Wang Y, Zhang Z, et al. Postnatal delayed growth impacts cognition but rescues programmed impaired pulmonary vascular development in an IUGR rat model. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2019; **29**(12): 1418-28.
60. Lumbers ER, Yu ZY, Gibson KJ. The selfish brain and the barker hypothesis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2001; **28**(11): 942-7.
61. Pearce W. Hypoxic regulation of the fetal cerebral circulation. *J Appl Physiol (1985)* 2006; **100**(2): 731-8.
62. Eixarch E, Meler E, Iraola A, et al. Neurodevelopmental outcome in 2-year-old infants who were small-for-gestational age term fetuses with cerebral blood flow redistribution. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; **32**(7): 894-9.
63. Scherjon S, Briët J, Oosting H, Kok J. The discrepancy between maturation of visual-evoked potentials and cognitive outcome at five years in very preterm infants with and without hemodynamic signs of fetal brain-sparing. *Pediatrics* 2000; **105**(2): 385-91.
64. Tolsa CB, Zimine S, Warfield SK, et al. Early alteration of structural and functional brain development in premature infants born with intrauterine growth restriction. *Pediatr Res* 2004; **56**(1): 132-8.
65. Padilla N, Falcón C, Sanz-Cortés M, et al. Differential effects of intrauterine growth restriction on brain structure and development in preterm infants: a magnetic resonance imaging study. *Brain Res* 2011; **1382**: 98-108.
66. Lodygensky GA, Seghier ML, Warfield SK, et al. Intrauterine growth restriction affects the preterm infant's hippocampus. *Pediatr Res* 2008; **63**(4): 438-43.

67. Rees S, Bocking AD, Harding R. Structure of the fetal sheep brain in experimental growth retardation. *J Dev Physiol* 1988; **10**(3): 211-25.
68. Oberholz L. Einfluss unterschiedlicher Ursachen der intrauterinen Wachstumsretardierung auf die frühe neuronale Entwicklung im Hippocampus der männlichen Ratte; 2017.
69. Wingender MJ. Einfluss unterschiedlicher Ursachen einer intrauterinen Wachstumsretardierung auf die Entwicklung im Hippocampus der weiblichen Ratte am postnatalen Tag 1 und 7 ; 2019.
70. Schömig CS. Einfluss verschiedener Ursachen der intrauterinen Wachstumsretardierung auf den mTOR-Signalweg im Hippocampus der Ratte; 2021.
71. Knight P, Chellian R, Wilson R, Behnood-Rod A, Panunzio S, Bruijnzeel AW. Sex differences in the elevated plus-maze test and large open field test in adult Wistar rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2021; **204**: 173168.
72. Serati M, Barkin JL, Orsenigo G, Altamura AC, Buoli M. Research Review: The role of obstetric and neonatal complications in childhood attention deficit and hyperactivity disorder - a systematic review. *J Child Psychol Psychiatry* 2017; **58**(12): 1290-300.
73. Pettersson E, Sjölander A, Almqvist C, et al. Birth weight as an independent predictor of ADHD symptoms: a within-twin pair analysis. *J Child Psychol Psychiatry* 2015; **56**(4): 453-9.
74. Strang-Karlsson S, Räikkönen K, Pesonen AK, et al. Very low birth weight and behavioral symptoms of attention deficit hyperactivity disorder in young adulthood: the Helsinki study of very-low-birth-weight adults. *Am J Psychiatry* 2008; **165**(10): 1345-53.
75. Rains ME, Muncie CB, Pang Y, Fan LW, Tien LT, Ojeda NB. Oxidative Stress and Neurodevelopmental Outcomes in Rat Offspring with Intrauterine Growth Restriction Induced by Reduced Uterine Perfusion. *Brain Sci* 2021; **11**(1).
76. Delcour M, Olivier P, Chambon C, et al. Neuroanatomical, sensorimotor and cognitive deficits in adult rats with white matter injury following prenatal ischemia. *Brain Pathol* 2012; **22**(1): 1-16.
77. Shen Y, Isaacson RL, Smotherman WP. The behavioral and anatomical effects of prenatal umbilical cord clamping in the rat and their alteration by the prior maternal administration of nimodipine. *Restor Neurol Neurosci* 1991; **3**(1): 11-22.

78. Ståhlberg T, Upadhyaya S, Khanal P, et al. Preterm birth, poor foetal growth and anxiety disorders in a Finnish nationwide register sample. *Acta Paediatr* 2022; **111**(8): 1556-65.
79. Vasiliadis HM, Buka SL, Martin LT, Gilman SE. Fetal growth and the lifetime risk of generalized anxiety disorder. *Depress Anxiety* 2010; **27**(11): 1066-72.
80. Illa M, Eixarch E, Batalle D, et al. Long-term functional outcomes and correlation with regional brain connectivity by MRI diffusion tractography metrics in a near-term rabbit model of intrauterine growth restriction. *PLoS One* 2013; **8**(10): e76453.
81. Fan LW, Lin S, Pang Y, et al. Hypoxia-ischemia induced neurological dysfunction and brain injury in the neonatal rat. *Behav Brain Res* 2005; **165**(1): 80-90.
82. Fattal-Valevski A, Toledano-Alhadeif H, Golander A, Leitner Y, Harel S. Endocrine profile of children with intrauterine growth retardation. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2005; **18**(7): 671-6.
83. Dieleman GC, Huizink AC, Tulen JH, et al. Alterations in HPA-axis and autonomic nervous system functioning in childhood anxiety disorders point to a chronic stress hypothesis. *Psychoneuroendocrinology* 2015; **51**: 135-50.
84. Delcour M, Russier M, Amin M, et al. Impact of prenatal ischemia on behavior, cognitive abilities and neuroanatomy in adult rats with white matter damage. *Behav Brain Res* 2012; **232**(1): 233-44.
85. Camprubí Camprubí M, Balada Caballé R, Ortega Cano JA, et al. Learning and memory disabilities in IUGR babies: Functional and molecular analysis in a rat model. *Brain Behav* 2017; **7**(3): e00631.
86. Monfils Gustafsson W, Josefsson A, Ekholm Selling K, Sydsjö G. Preterm birth or foetal growth impairment and psychiatric hospitalization in adolescence and early adulthood in a Swedish population-based birth cohort. *Acta Psychiatr Scand* 2009; **119**(1): 54-61.
87. Dobbing J, Sands J. Comparative aspects of the brain growth spurt. *Early Hum Dev* 1979; **3**(1): 79-83.
88. Fleiss B, Wong F, Brownfoot F, et al. Knowledge Gaps and Emerging Research Areas in Intrauterine Growth Restriction-Associated Brain Injury. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2019; **10**: 188.

89. Sadeghian A, Fathollahi Y, Javan M, et al. Spatial Learning and Memory in Barnes Maze Test and Synaptic Potentiation in Schaffer Collateral-CA1 Synapses of Dorsal Hippocampus in Freely Moving Rats. *Basic Clin Neurosci* 2019; **10**(5): 461-8.

## 7. Anhang

### 7.1. Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1** Phänotyp der Nachkommen aus unserem experimentellen Tiermodell: Ligatur der Aa. uterinae (links), intrauteriner Stress (Mitte) und der Kontrollgruppe ohne Eingriff (rechts) am postnatalen Tag 1 (Foto: K.-D. Nüsken, 2007; publiziert in Alejandre Alcazar et al., 2016). . 15
- Abb. 2** Intraoperativ freigelegter Uterus während der Ligatur der Aa. und Vv. uterinae. Die gelbe Linie stellt die Lokalisatin der Ligatur dar. (Quelle: Dr. Kai Nüsken, aufgenommen während der Ligaturoperationen im Rahmen des dieser Arbeit übergeordneten DFG-Projektes) ..... 18
- Abb. 3** Zeitlicher Ablauf des Experiments OF= Open-Field Test, EZM = Elevated Zero Maze Test, BM = Barnes Maze Test..... 20
- Abb. 4** Unterteilung der Open-Field Arena mithilfe der Computer-Software Ethovision in einen inneren und einen äußeren Bereich..... 21
- Abb. 5** Die Open-Field Arena durfte für 10 Minuten frei exploriert werden. Der Test ist in der Soziologie ein gut etablierter Test um das Angstverhalten sowie das explorative Verhalten der Tiere unter denselben Standardbedingungen zu untersuchen. .... 22
- Abb. 6** Einteilung der Open-Field Arena in die Bereiche „innen“, „Ecke oben links“, „Ecke oben rechts“, „Ecke unten links“ und „Ecke unten rechts“ für die weitere Auswertung. .... 23
- Abb. 7** Elevated Zero Maze von oben fotografiert. Das Elevated Zero Maze ist eine auf vier Beinen aufgestellte kreisrunde Apparatur mit zwei bewandeten und zwei unbewandeten Vierteln. .... 24
- Abb. 8** Die Unterteilung der Arena mithilfe der Computer-Software Etho-Vision. In der Abbildung bezeichnen die Zonen „closed zone 1“ und „closed zone 2“ den geschützten Bereich und die beiden Zonen „open zone 1“ und „open zone 2“ den freien Bereich. .... 24
- Abb. 9** Schematische Darstellung des Barnes Maze. Dargestellt ist die obere kreisrunde Platte mit einem Durchmesser von 120 cm. Am Rand der oberen Platte sind in regelmäßigen Abständen 20 Löcher mit einem Durchmesser von 10 cm und einer Tiefe von 6 cm eingelassen. .... 25
- Abb. 10** Acht unterschiedliche Symbole, welche rund um die Barnes Maze Apparatur angebracht waren. Die Symbole markierten die acht verschiedenen Fluchtboxpositionen und dienten der Ratte zur visuellen Orientierung. .... 25
- Abb. 11** Arenaprofil: Einteilung der Barnes Maze Arena mithilfe der Computersoftware EthoVision. Das Barnes Maze wurde hierzu in vier gleichgroße Zonen eingeteilt. Die Zone, welche die Fluchtbox beherbergte, wurde als „target zone“ bezeichnet. Die weiteren Viertel wurden in Abhängigkeit von der Lage zur Zielzone als Zone rechts und links („right zone“, „left zone“) sowie als Zone gegenüber der Zielzone („opposite zone“) bezeichnet. .... 27

<b>Abb. 12</b> Um Verfälschungen der Ergebnisse durch eine möglicherweise zu große Zielzonenwahl zu verhindern kreierten wir insgesamt drei Zielzonen. Davon zwei runde Zielzonen mit unterschiedlichem Durchmesser um die Fluchtbox herum um die Ergebnisse später vergleichen zu können. Der Bereich „Round target zone“ entspricht der Zielzone 2. Der Bereich „Round target zone small“ entspricht der Zielzone 3. ....	28
<b>Abb. 13</b> Körpergewicht (g) der Männchen (P1: C n=27, LIG n=22, IUS n=28; P7: C n=26, LIG n=14, IUS n=17; P12: C n=16, LIG n=13, IUS n=15) im Verlauf von P1 bis P12 .....	31
<b>Abb. 14</b> Körpergewicht (g) der Weibchen (P1: C n=20, LIG n=19, IUS n=20; P7: C n=24, LIG n=16, IUS n=14; P12: C n=14, LIG n=14, IUS n=13) im Verlauf von P1 bis P12. ....	32
<b>Abb. 15</b> Körpergewicht (g) der Männchen (C n=6, LIG n=6, IUS n=7) und Weibchen (C n=10, LIG n=10, IUS n=8) an P180.....	33
<b>Abb. 16</b> Absolutes Gehirngewicht (g) der Männchen (P1: C n=27, LIG n=22, IUS n=28; P7: C n=26, LIG n=14, IUS n=17; P12: C n=16, LIG n=13, IUS n=15) im Verlauf von P1 bis P12. ....	34
<b>Abb. 17</b> Absolutes Gehirngewicht (g) der Weibchen (P1: C n=20, LIG n=19, IUS n=20; P7: C n=24, LIG n=16, IUS n=14; P12: C n=14, LIG n=14, IUS n=13) im Verlauf von P1 bis P12. ....	34
<b>Abb. 18</b> Absolutes Gehirngewicht (g) der Männchen (C n=6, LIG n=6, IUS n=7) und Weibchen (C n=10, LIG n=10, IUS n=8) an P180.....	35
<b>Abb. 19</b> Relatives Gehirngewicht (g/gKG) der Männchen (P1: C n=27, LIG n=22, IUS n=28; P7: C n=26, LIG n=14, IUS n=17; P12: C n=16, LIG n=13, IUS n=15) im Verlauf von P1 bis P12.....	36
<b>Abb. 20</b> Relatives Gehirngewicht (g/gKG) der Weibchen (P1: C n=27, LIG n=22, IUS n=28; P7: C n=26, LIG n=14, IUS n=17; P12: C n=16, LIG n=13, IUS n=15) im Verlauf von P1 bis P12.....	36
<b>Abb. 21</b> Relatives Gehirngewicht (g/gKG) der Männchen (C n=6, LIG n=6, IUS n=7) und Weibchen (C n=10, LIG n=10, IUS n=8) an P180.....	37
<b>Abb. 22</b> Verbrachte Zeit im „inneren“ Bereich der Open-Field Apparatur in Sekunden. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 <b>Abb. 23</b> Verbrachte Zeit im „äußeren“ Bereich der Open-Field Apparatur in Sekunden. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6.....	38
<b>Abb. 24</b> Durchschnittliche zurückgelegte Strecke in cm im inneren Bereich der Open-Field Arena. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 .....	39
<b>Abb. 25</b> Die weiblichen Testtiere der Gruppe IUS betreten signifikant häufiger den inneren Bereich im Vergleich zu den weiblichen Kontrolltieren. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 <b>Abb. 26</b> Durchschnittliche Geschwindigkeit in cm/s der Testtiere im inneren Bereich der Arena. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 .....	39

<b>Abb. 27</b> Zurückgelegte Distanz in cm in der gesamten Arena. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 28</b> Durchschnittliche Geschwindigkeit der Testtiere in cm/s in der gesamten Open-Field Arena. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	40
<b>Abb. 29</b> Zurückgelegte Distanz in cm in äußeren Bereich der Arena. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 30</b> Durchschnittliche Geschwindigkeit der Testtiere in cm/s im äußeren Bereich der Open-Field Arena. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	40
<b>Abb. 31</b> Parameter „Frequenz“ in dem Bereich „Ecke oben links“. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 32</b> Parameter „Verbrachte Zeit“ in der „Ecke oben links“. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	41
<b>Abb. 33</b> Untersucher Parameter „Frequenz“ in dem Bereich „Ecke oben rechts“. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 34</b> Untersucher Parameter „Verbrachte Zeit“ in der „Ecke oben rechts“. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	41
<b>Abb. 35</b> Untersucher Parameter „Frequenz“ in dem Bereich „Ecke unten links“. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 36</b> Untersucher Parameter „Verbrachte Zeit“ in der „Ecke unten links“. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	42
<b>Abb. 37</b> Untersucher Parameter „Frequenz“ in dem Bereich „Ecke unten rechts“. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 38</b> Untersucher Parameter „Verbrachte Zeit“ in dem Bereich „Ecke unten rechts“. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	42
<b>Abb. 39</b> Verbrachte Zeit in Sekunden im freien, unbewandeten Bereich der Zero-Maze Apparatur nach 3 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 40</b> Durchschnittlich verbrachte Zeit im geschützten Bereich in Sekunden nach 3 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	43
<b>Abb. 41</b> Verbrachte Zeit in Sekunden im freien, unbewandeten Bereich der Zero Maze Apparatur nach 6 Minuten in Sekunden. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 42</b> Durchschnittlich verbrachte Zeit im geschützten Bereich in Sekunden nach 6 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	43
<b>Abb. 43</b> Zurückgelegte Strecke in der gesamten Arena in cm nach den ersten 3 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 44</b> Zurückgelegte Strecke in cm im freien, ungeschützten Bereich der Zero Maze Apparatur nach 3 Minuten in cm. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	44

**Abb. 45** Zurückgelegte Strecke in der gesamten Arena in cm nach den ersten 6 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 46** Zurückgelegte Strecke in cm im freien, ungeschützten Bereich nach 6 Minuten in cm. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 44

**Abb. 47** Durchschnittliche Geschwindigkeit der Testtiere in cm/s in den ersten 3 Minuten in der gesamten Arena. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 48** Durchschnittliche Geschwindigkeit der Testtiere in cm/s im geschützten Bereich nach Auswertung der ersten 3 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 45

**Abb. 49** Durchschnittliche Geschwindigkeit der Testtiere in cm/s in den ersten 3 Minuten im freien Bereich. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 45

**Abb. 50** Durchschnittliche Geschwindigkeit der Testtiere in cm/s in den ersten 6 Minuten in der gesamten Arena. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 51** Durchschnittliche Geschwindigkeit der Testtiere in cm/s im geschützten Bereich nach Auswertung der ersten 6 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 46

**Abb. 52** Durchschnittliche Geschwindigkeit der Testtiere in cm/s in den ersten 6 Minuten im freien Bereich. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 46

**Abb. 53** Dargestellt ist die durchschnittliche Frequenz, in welcher die Testtiere den freien Bereich der Apparatur in den ersten 3 Minuten betraten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 54** Dargestellt ist die durchschnittliche Frequenz, in welcher die Testtiere den geschützten Bereich der Apparatur in den ersten 3 Minuten betraten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6..... 47

**Abb. 55** Zurückgelegte Strecke in cm im geschützten Bereich nach 3 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 47

**Abb. 56** Dargestellt ist die durchschnittliche Frequenz, in welcher die Testtiere den freien Bereich der Apparatur in den ersten 6 Minuten betreten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 57** Dargestellt ist die durchschnittliche Frequenz, in welcher die Testtiere den geschützten Bereich der Apparatur in den ersten 6 Minuten betreten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6..... 48

**Abb. 58** Zurückgelegte Strecke in cm im geschützten Bereich nach 6 Minuten. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 48

**Abb. 59** In der Barnes Maze Arena verbrachte Zeit bis zum Eintreten in die Fluchtbox im ersten Durchgang in Sekunden (Parameter 2). C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 60** In der Barnes Maze Arena verbrachte Zeit bis zum Eintreten in die Fluchtbox im zweiten Durchgang in Sekunden. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 61** In der Barnes Maze Arena verbrachte Zeit bis zum

Eintreten in die Fluchtbox im dritten Durchgang in Sekunden. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 62** In der Barnes Maze Arena verbrachte Zeit bis zum Eintreten in die neue Fluchtbox im vierten Durchgang in Sekunden. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 50

**Abb. 63** Es werden die Graphen der Daten „Zeit bis zum Eintreten in die Fluchtbox“ vom 1. – 3. Durchgang innerhalb jeder Gruppe, hier die männlichen Gruppen, nebeneinander dargestellt (Parameter 3). Da im vierten Durchgang die Fluchtboxposition geändert wird, wurde dieser im zuletzt erwähnten Vergleich nicht mitberücksichtigt. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6..... 51

**Abb. 64** Es werden die Graphen der Daten „Zeit bis zum Eintreten in die Fluchtbox“ vom 1. – 3. Durchgang innerhalb jeder Gruppe, hier die weiblichen Gruppen, nebeneinander dargestellt (Parameter 3). Da im vierten Durchgang die Fluchtboxposition geändert wird, wurde dieser im zuletzt erwähnten Vergleich nicht mitberücksichtigt. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 51

**Abb. 65** Zurückgelegte Distanz in der Arena in cm im ersten Durchgang (Parameter 1). C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 66** In der Arena zurückgelegte Distanz in cm im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 67** Zurückgelegte Distanz in der Arena cm im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 68** In der Arena zurückgelegte Distanz in cm im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 52

**Abb. 69** Zeit bis zum Finden der Fluchtbox in Sekunden (Parameter 6) im 1. Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6, **Abb. 70** Zeit bis zum Finden der Fluchtbox in Sekunden im 2. Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6, **Abb. 71** Zeit bis zum Finden der Fluchtbox in Sekunden im 3. Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 53

**Abb. 72** Zeit bis zum Finden der neuen Fluchtboxposition in Sekunden im vierten Durchgang (Parameter 6). C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

**Abb. 73** Zeit bis zum Finden der alten Fluchtboxposition in Sekunden im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 54

**Abb. 74** Es werden die Graphen der Daten „Zeit bis zum Finden der FB/FBP“ vom 1. – 4. Durchgang innerhalb des Geschlechts, hier männlich, miteinander verglichen (Parameter 7). Im vierten Durchgang wurde das ursprüngliche Arenaprofil verwendet, damit der Lernprozess derselben Fluchtboxposition dargestellt werden kann. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 54



**Abb. 87** Zurückgelegte Distanz in cm im ersten Durchgang in der Zielzone (Parameter 9). C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 88** Zurückgelegte Distanz in cm im zweiten Durchgang der Zielzone. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 89** Zurückgelegte Distanz in cm im dritten Durchgang C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6..... 60

**Abb. 90** Zurückgelegte Distanz in cm im vierten Durchgang in der neuen Zielzone C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 91** Zurückgelegte Distanz in cm im vierten Durchgang in der alten Zielzone. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 60

**Abb. 92** Zeit bis zum Betreten der alten Zielzone im vierten Durchgang (Parameter 10). C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m n= 12, IUS m: n=7, LIG m: n=6 ..... 61

**Abb. 93** Durchschnittliche Geschwindigkeit in cm/s in der gesamten Barnes Maze Arena im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n **Abb. 94** Durchschnittliche Geschwindigkeit in cm/s in der gesamten Barnes Maze Arena im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n **Abb. 95** Durchschnittliche Geschwindigkeit in cm/s in der gesamten Barnes Maze Arena im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n **Abb. 96** Durchschnittliche Geschwindigkeit in cm/s in der gesamten Barnes Maze Arena im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n ..... 96

**Abb. 97** Verbrachte Zeit in der Zielzone 1 im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n **Abb. 98** Verbrachte Zeit in der Zielzone 1 im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n **Abb. 99** Verbrachte Zeit in der Zielzone 1 im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n ..... 97

**Abb. 100** Verbrachte Zeit in der neuen Zielzone 1 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n **Abb. 101** Verbrachte Zeit in der alten Zielzone 1 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n ..... 97

**Abb. 102** Frequenz an der Fluchtbox im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n **Abb. 103** Frequenz an der Fluchtbox im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n **Abb. 104** Frequenz an der Fluchtbox im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n ..... 98

**Abb. 105** Frequenz an der neuen Fluchtboxposition im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 106** Frequenz an der alten

Fluchtboxposition im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 .....	98
<b>Abb. 107</b> Frequenz in der Zielzone im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 108</b> Frequenz in der Zielzone im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 109</b> Frequenz in der Zielzone im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 .....	99
<b>Abb. 110</b> Frequenz an der neuen Zielzone im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 111</b> Frequenz an der alten Zielzone im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 .....	99
<b>Abb. 112</b> Zeit bis zum Betreten der Zielzone in Sekunden im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 113</b> Zeit bis zum Betreten der Zielzone in Sekunden im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 114</b> Zeit bis zum Betreten der Zielzone in Sekunden im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 115</b> Zeit bis zum Betreten der neuen Zielzone in Sekunden im vierten Durchlauf. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 .....	100
<b>Abb. 116</b> Es werden die Graphen der Daten „Zeit bis zum Finden der Zielzone“ vom 1. – 4. Durchgang innerhalb des Geschlechts, hier männlich, miteinander verglichen. Im vierten Durchgang wurde hier das alte Arenaprofil verwendet, damit der Lernprozess derselben Zielzonenposition dargestellt werden kann. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 .....	101
<b>Abb. 117</b> Es werden die Graphen der Daten „Zeit bis zum Finden der Zielzone“ vom 1. – 4. Durchgang innerhalb des Geschlechts, hier weiblich, miteinander verglichen. Im vierten Durchgang wurde hier das alte Arenaprofil verwendet, damit der Lernprozess derselben Zielzonenposition dargestellt werden kann. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 .....	101
<b>Abb. 118</b> Frequenz in der Zielzone 3 im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 119</b> Frequenz in der Zielzone 3 im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 120</b> Frequenz in der Zielzone 3 im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 .....	102
<b>Abb. 121</b> Frequenz in der neuen Zielzone 3 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6	
<b>Abb. 122</b> Frequenz in der alten Zielzone 3 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 .....	102

**Abb. 123** Verbrachte Zeit in Sekunden in der Zielzone 3 im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 124** Verbrachte Zeit in Sekunden in der Zielzone 3 im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 125** Verbrachte Zeit in Sekunden in der Zielzone 3 im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 103

**Abb. 126** Verbrachte Zeit in Sekunden in der neuen Zielzone 3 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 127** Verbrachte Zeit in Sekunden in der alten Zielzone 3 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6..... 104

**Abb. 128** Zurückgelegte Distanz in cm in der Zielzone 3 im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 129** Zurückgelegte Distanz in cm in der Zielzone 3 im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 130** Zurückgelegte Distanz in cm in der Zielzone 3 im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 .. 104

**Abb. 131** Zurückgelegte Distanz im Bereich der neuen Zielzone 3 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 132** Zurückgelegte Distanz im Bereich der neuen Zielzone 3 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 105

**Abb. 133** Zeit in Sekunden bis zum Betreten der Zielzone 3 im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 134** Zeit in Sekunden bis zum Betreten der Zielzone 3 im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 135** Zeit in Sekunden bis zum Betreten der Zielzone 3 im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 105

**Abb. 136** Zeit in Sekunden bis zum Betreten der neuen Zielzone 3 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 137** Zeit in Sekunden bis zum Betreten der alten Zielzone 3 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 106

**Abb. 138** Es werden die Graphen der Daten „Zeit bis zum Betreten der Zielzone 3“ vom 1. – 4. Durchgang innerhalb des Geschlechts, hier männlich, miteinander verglichen. Im vierten Durchgang wurde das ursprüngliche Arenaprofil verwendet, damit der Lernprozess derselben Zielzonenposition dargestellt werden kann. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 106

**Abb. 139** Es werden die Graphen der Daten „Zeit bis zum Betreten der Zielzone 3“ vom 1. – 4. Durchgang innerhalb des Geschlechts, hier männlich, miteinander verglichen. Im vierten Durchgang wurde das ursprüngliche Arenaprofil verwendet, damit der Lernprozess derselben

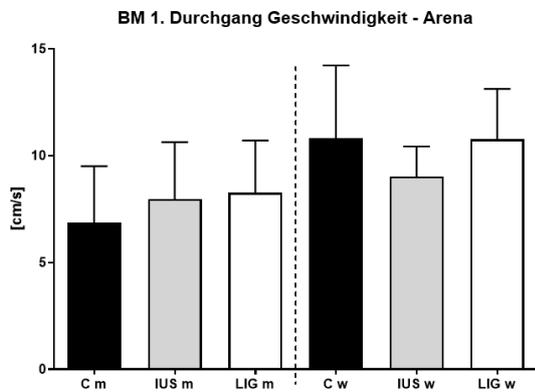
Zielzonenposition dargestellt werden kann. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 ..... 107

## 7.2. Tabellenverzeichnis

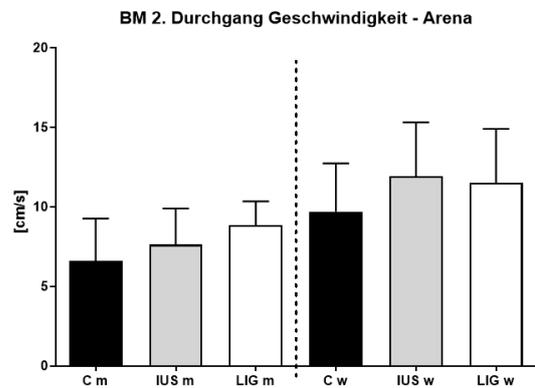
<b>Tabelle 1</b> Anzahl der männlichen und weiblichen Tiere pro Versuchsgruppe.....	19
<b>Tabelle 2</b> Tiermodell: Zusammenfassung der Auswirkungen auf das Körper- und Gehirngewicht, ↑/↓: Ergebnis weicht signifikant von dem Ergebnis der Kontrollgruppe ab bei einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ ; (↑)/(↓): Ergebnis im Vergleich zur Kontrollgruppe tendenziell erhöht/ vermindert bei einem P-Wert bis $p \leq 0,1$ ; =: Ergebnis weicht weder signifikant noch tendenziell von dem Ergebnis der Kontrollgruppe ab.....	63
<b>Tabelle 3</b> Tabellarische Zusammenfassung der Open-Field Ergebnisse ↑/↓: Ergebnis weicht signifikant von dem Ergebnis der Kontrollgruppe. (LIG m = Ligatur-Männchen, IUS m = intrauteriner Stress-Männlich, LIG w = Ligatur-Weibchen, IUS w = intrauteriner Stress-Weibchen, */**/** = signifikant im Mann-Whitney-U-Test ( $p < 0,05$ / $p < 0,01$ / $p < 0,001$ ). .....	64
<b>Tabelle 4</b> Tabellarische Zusammenfassung der Elevated Zero Maze Ergebnisse ↑/↓: Ergebnis weicht signifikant von dem Ergebnis der Kontrollgruppe. (LIG m = Ligatur-Männchen, IUS m = intrauteriner Stress-Männlich, LIG w = Ligatur-Weibchen, IUS w = intrauteriner Stress-Weibchen, */**/** = signifikant im Mann-Whitney-U-Test ( $p < 0,05$ / $p < 0,01$ / $p < 0,001$ ). .....	65
<b>Tabelle 5</b> Tabellarische Zusammenfassung der Barnes Maze Ergebnisse ↑/↓: Ergebnis weicht signifikant von dem Ergebnis der Kontrollgruppe. (LIG m = Ligatur-Männchen, IUS m = intrauteriner Stress-Männlich, LIG w = Ligatur-Weibchen, IUS w = intrauteriner Stress-Weibchen, */**/** = signifikant im Mann-Whitney-U-Test ( $p < 0,05$ / $p < 0,01$ / $p < 0,001$ ). .....	68

### 7.3. Barnes Maze – weitere Graphen

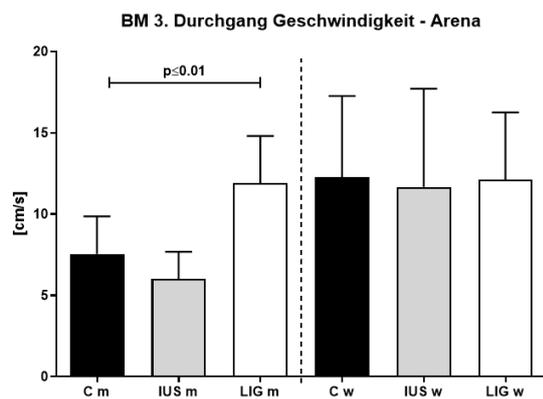
93)



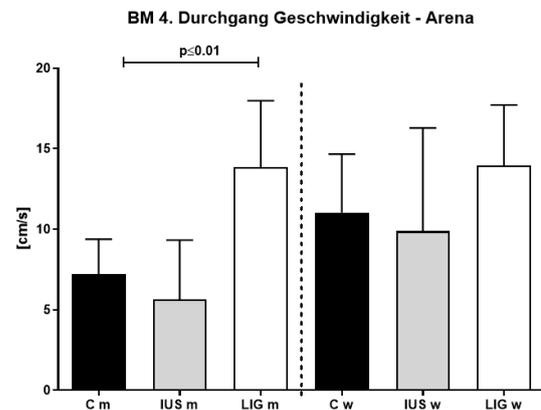
94)



95)

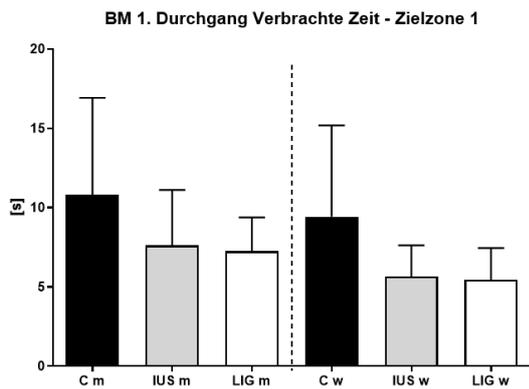


96)

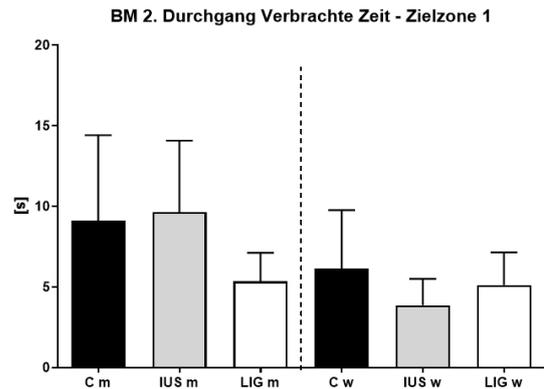


**Abb. 93** Durchschnittliche Geschwindigkeit in cm/s in der gesamten Barnes Maze Arena im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n **Abb. 94** Durchschnittliche Geschwindigkeit in cm/s in der gesamten Barnes Maze Arena im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n **Abb. 95** Durchschnittliche Geschwindigkeit in cm/s in der gesamten Barnes Maze Arena im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n **Abb. 96** Durchschnittliche Geschwindigkeit in cm/s in der gesamten Barnes Maze Arena im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n

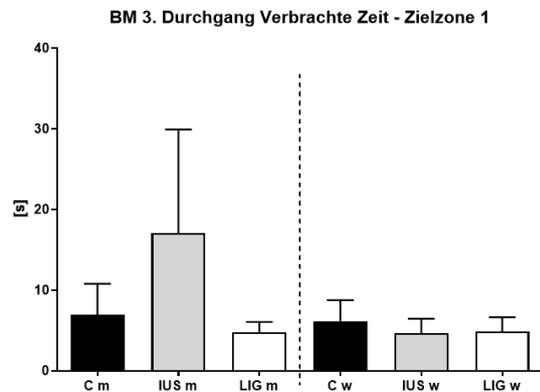
97)



98)

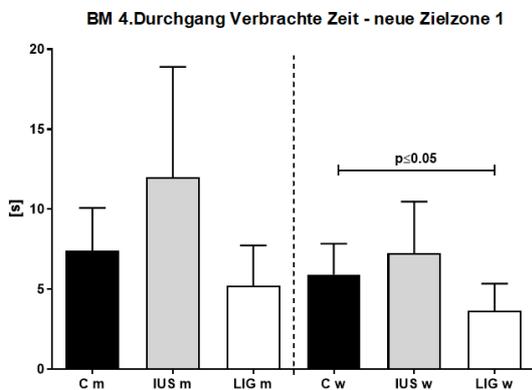


99)

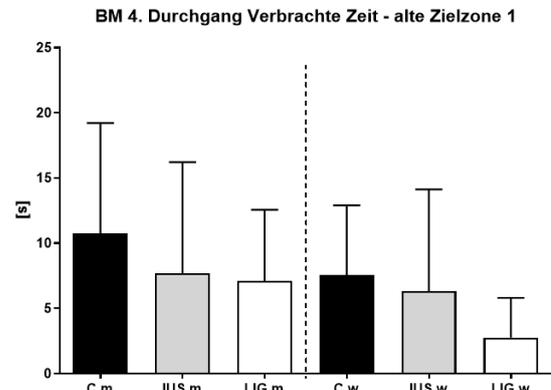


**Abb. 97** Verbrachte Zeit in der Zielzone 1 im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n **Abb. 98** Verbrachte Zeit in der Zielzone 1 im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n **Abb. 99** Verbrachte Zeit in der Zielzone 1 im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n

100)

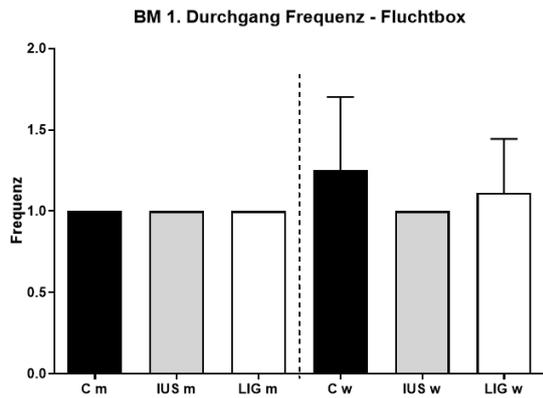


101)

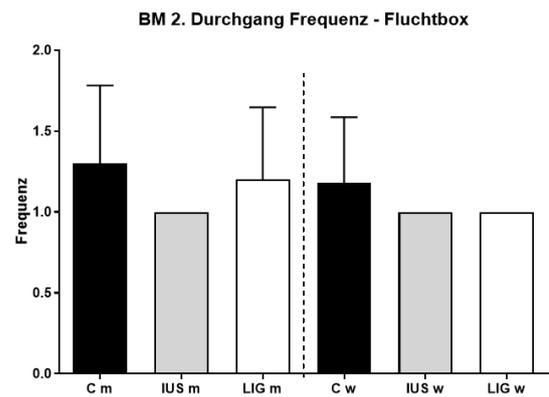


**Abb. 100** Verbrachte Zeit in der neuen Zielzone 1 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n **Abb. 101** Verbrachte Zeit in der alten Zielzone 1 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n

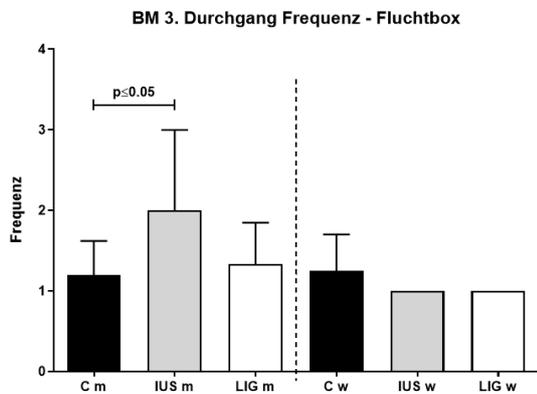
102)



103)

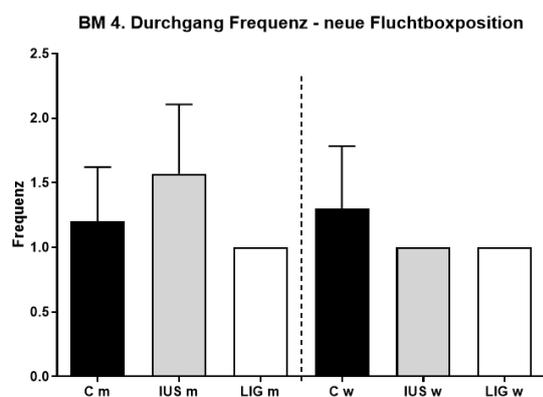


104)

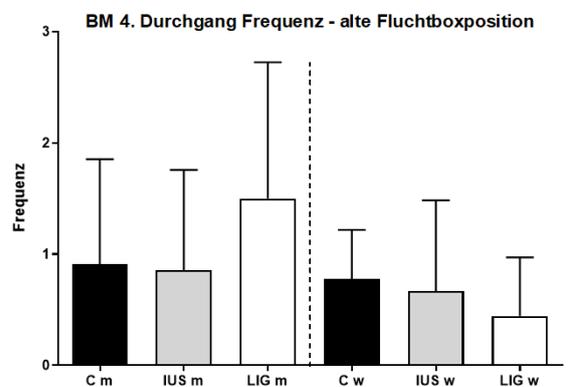


**Abb. 102** Frequenz an der Fluchtbox im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n **Abb. 103** Frequenz an der Fluchtbox im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n **Abb. 104** Frequenz an der Fluchtbox im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6n

105)

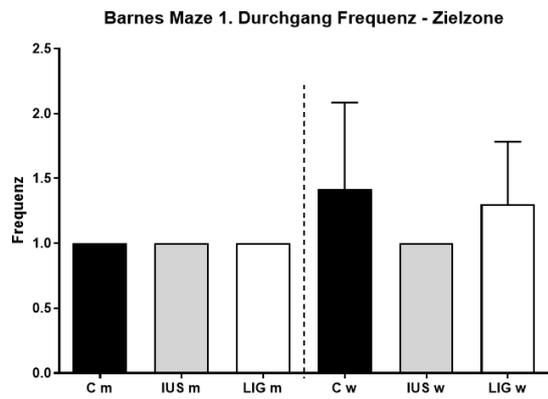


106)

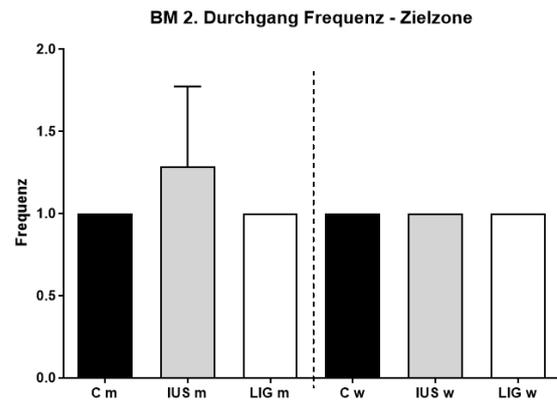


**Abb. 105** Frequenz an der neuen Fluchtboxposition im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 106** Frequenz an der alten Fluchtboxposition im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

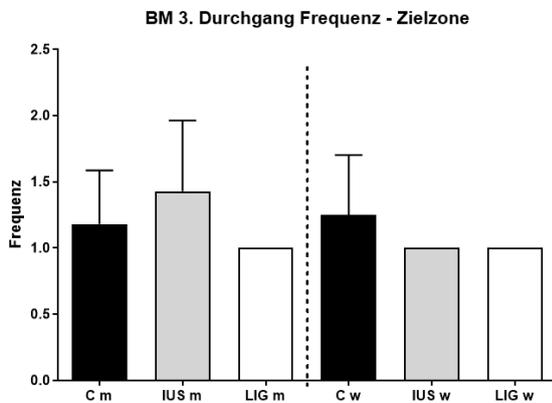
107)



108)

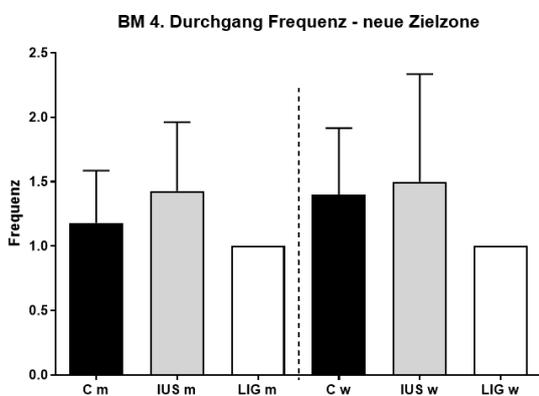


109)

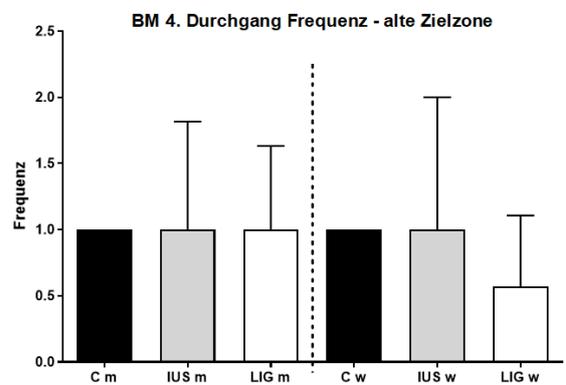


**Abb. 107** Frequenz in der Zielzone im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 108** Frequenz in der Zielzone im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 109** Frequenz in der Zielzone im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

110)

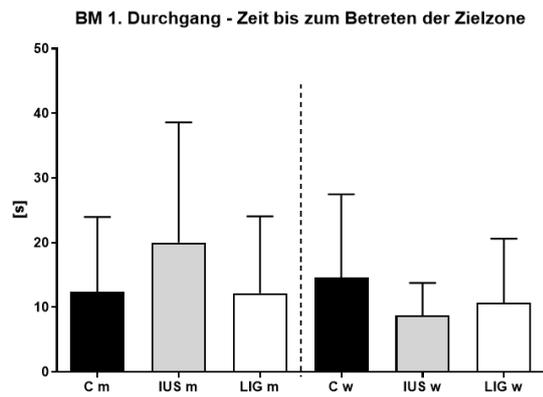


111)

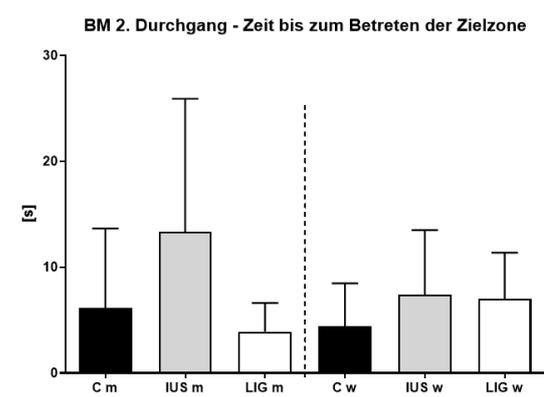


**Abb. 110** Frequenz an der neuen Zielzone im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 111** Frequenz an der alten Zielzone im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

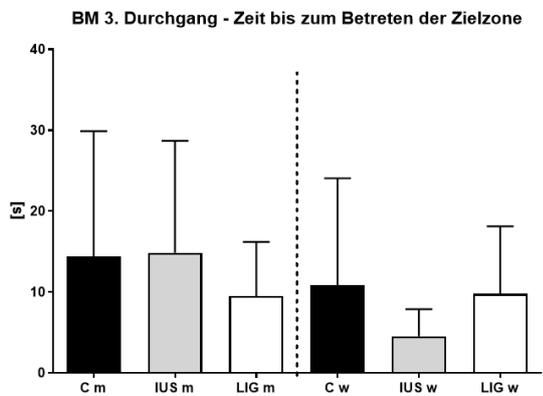
112)



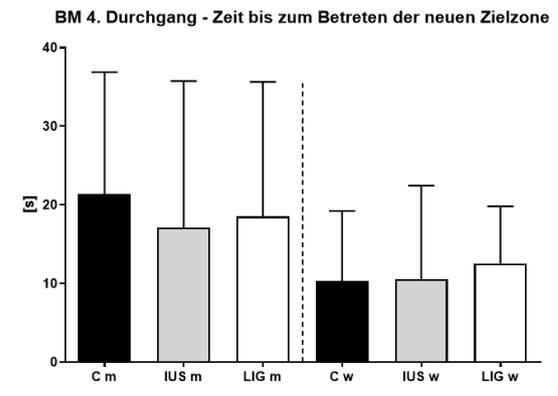
113)



114)

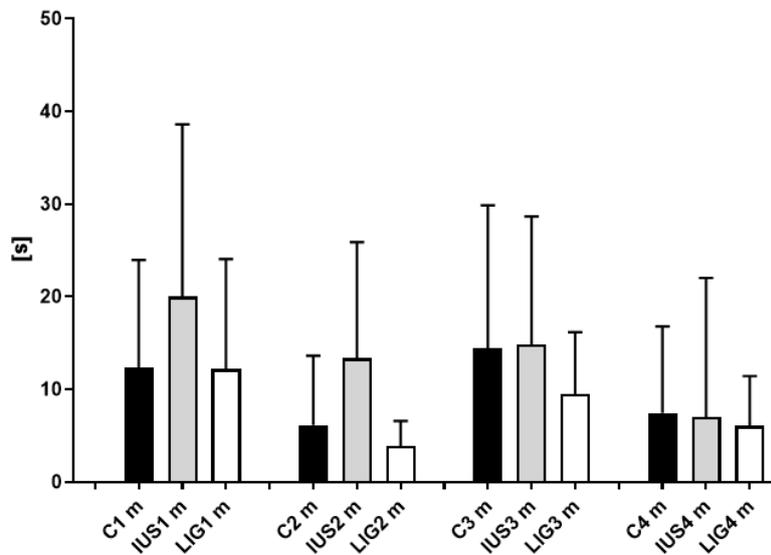


115)



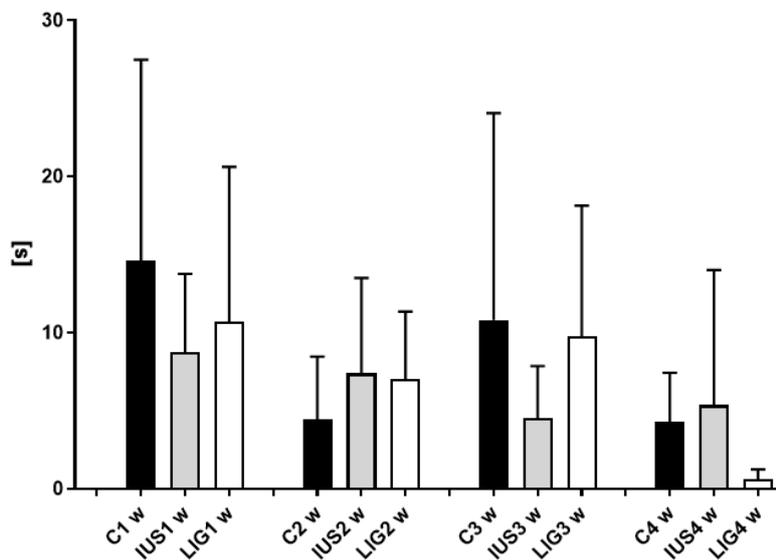
**Abb. 112** Zeit bis zum Betreten der Zielzone in Sekunden im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 113** Zeit bis zum Betreten der Zielzone in Sekunden im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 114** Zeit bis zum Betreten der Zielzone in Sekunden im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 115** Zeit bis zum Betreten der neuen Zielzone in Sekunden im vierten Durchlauf. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

**BM - Zeit bis zum Finden der Zielzone Performance männlich**



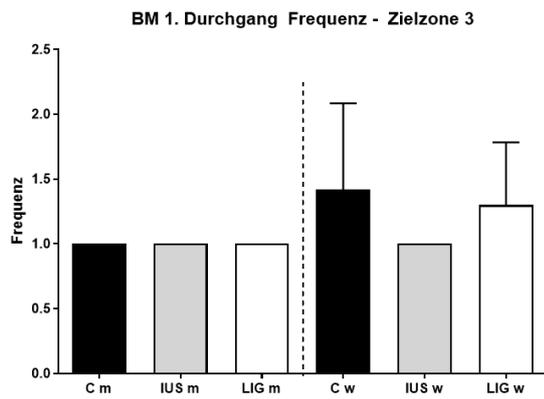
**Abb. 116** Es werden die Graphen der Daten „Zeit bis zum Finden der Zielzone“ vom 1. – 4. Durchgang innerhalb des Geschlechts, hier männlich, miteinander verglichen. Im vierten Durchgang wurde hier das alte Arenaprofil verwendet, damit der Lernprozess derselben Zielzonenposition dargestellt werden kann. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

**BM - Zeit bis zum Finden der Zielzone Performance weiblich**

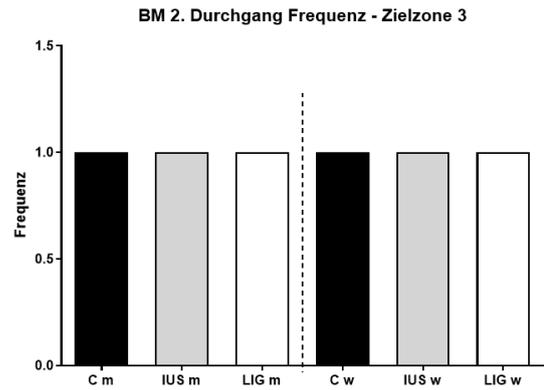


**Abb. 117** Es werden die Graphen der Daten „Zeit bis zum Finden der Zielzone“ vom 1. – 4. Durchgang innerhalb des Geschlechts, hier weiblich, miteinander verglichen. Im vierten Durchgang wurde hier das alte Arenaprofil verwendet, damit der Lernprozess derselben Zielzonenposition dargestellt werden kann. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

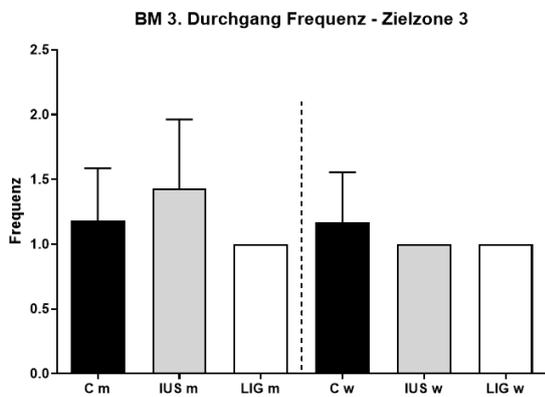
118)



119)

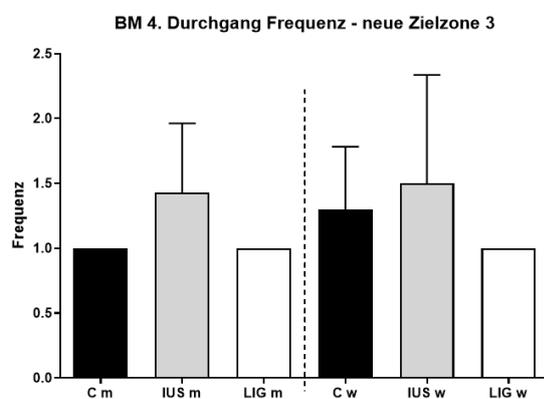


120)

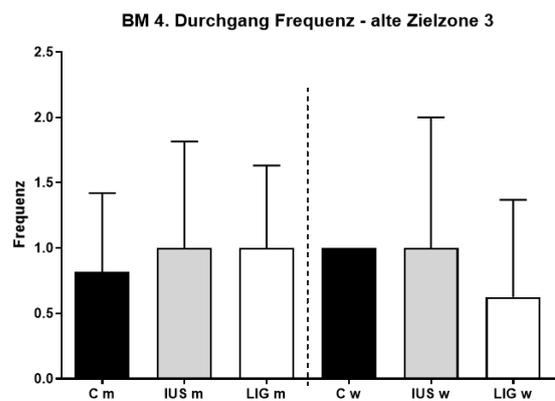


**Abb. 118** Frequenz in der Zielzone 3 im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 119** Frequenz in der Zielzone 3 im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 120** Frequenz in der Zielzone 3 im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

121)

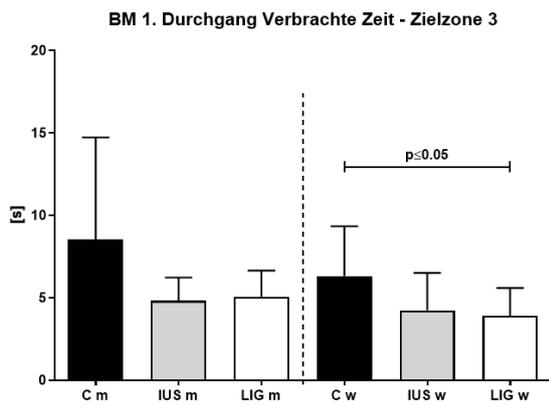


122)

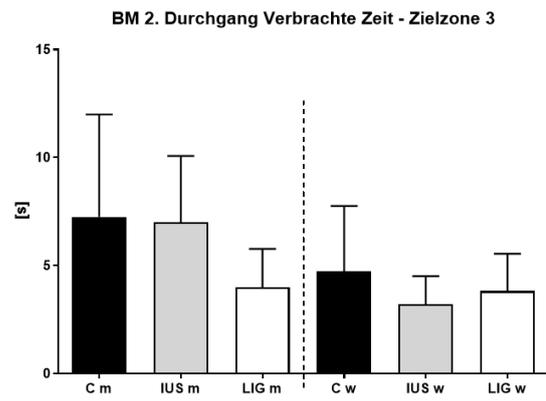


**Abb. 121** Frequenz in der neuen Zielzone 3 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 122** Frequenz in der alten Zielzone 3 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

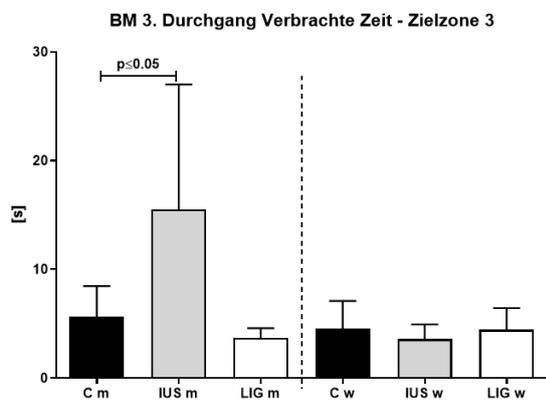
123)



124)

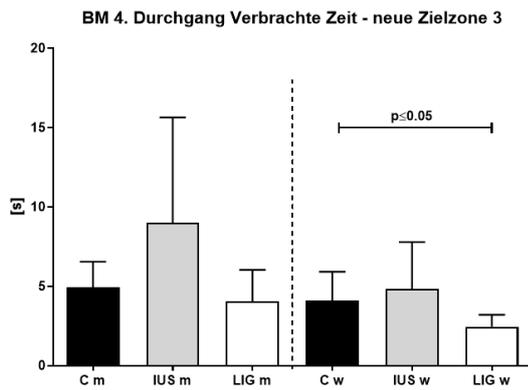


125)

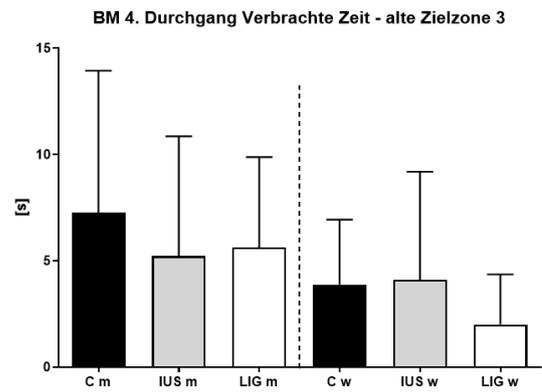


**Abb. 123** Verbrachte Zeit in Sekunden in der Zielzone 3 im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 124** Verbrachte Zeit in Sekunden in der Zielzone 3 im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 125** Verbrachte Zeit in Sekunden in der Zielzone 3 im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

126)

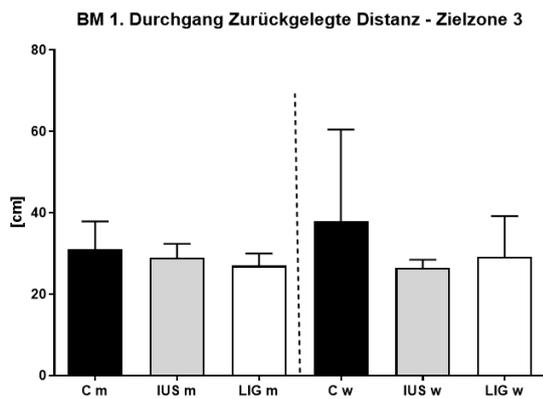


127)

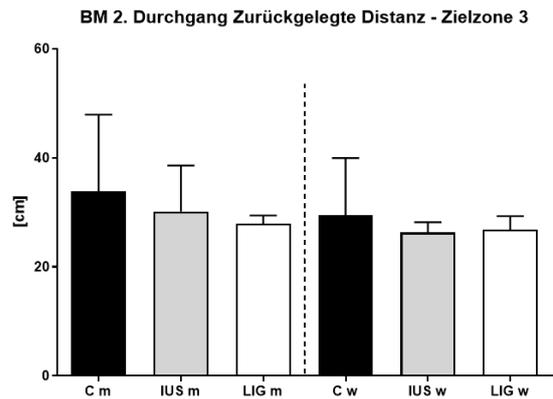


**Abb. 126** Verbrachte Zeit in Sekunden in der neuen Zielzone 3 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 127** Verbrachte Zeit in Sekunden in der alten Zielzone 3 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

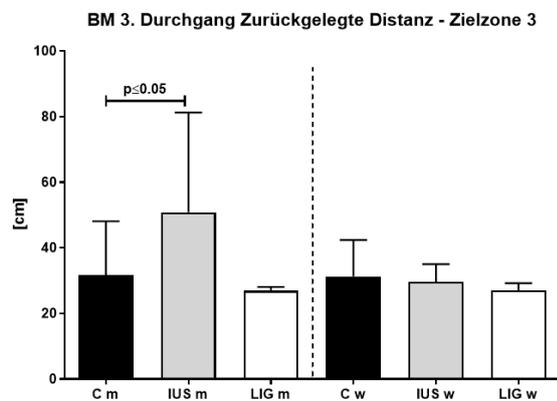
128)



129)

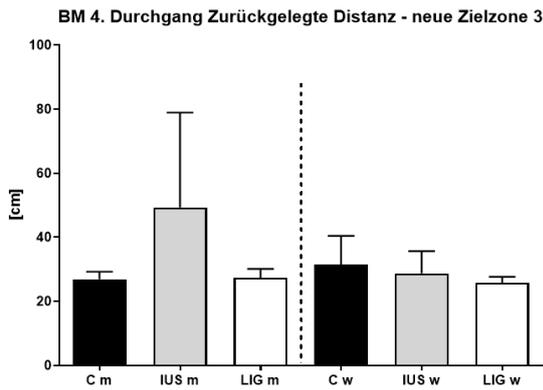


130)

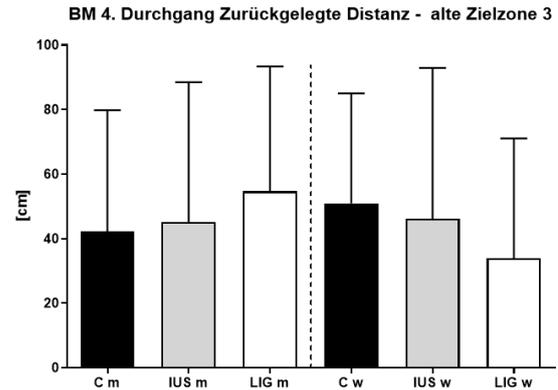


**Abb. 128** Zurückgelegte Distanz in cm in der Zielzone 3 im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 129** Zurückgelegte Distanz in cm in der Zielzone 3 im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 130** Zurückgelegte Distanz in cm in der Zielzone 3 im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

131)

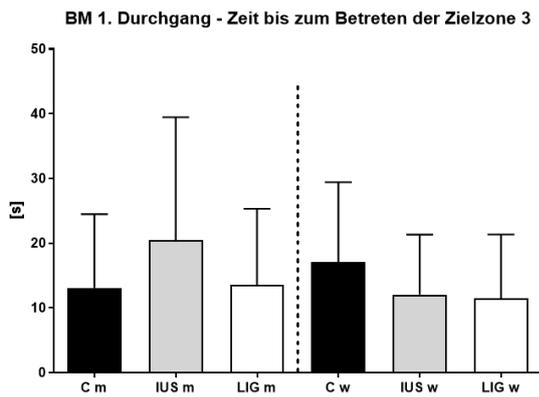


132)

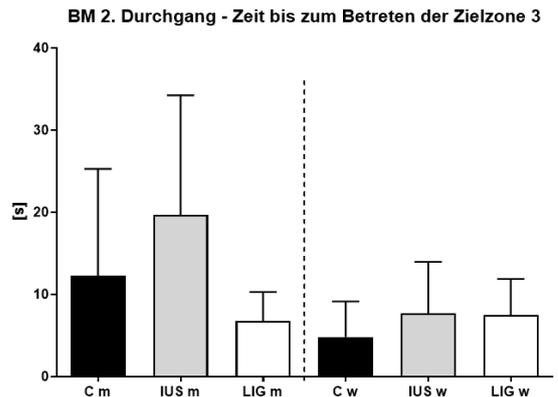


**Abb. 131** Zurückgelegte Distanz im Bereich der neuen Zielzone 3 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 132** Zurückgelegte Distanz im Bereich der alten Zielzone 3 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

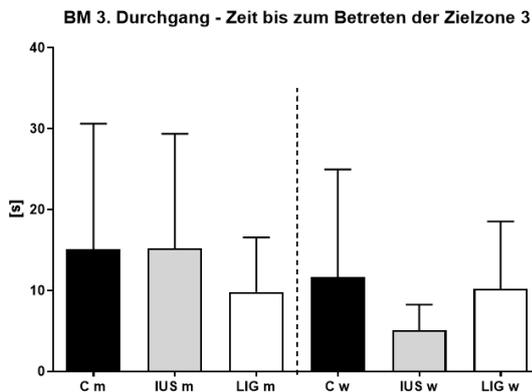
133)



134)

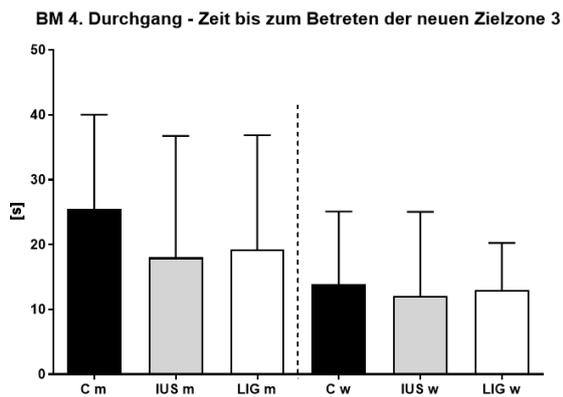


135)

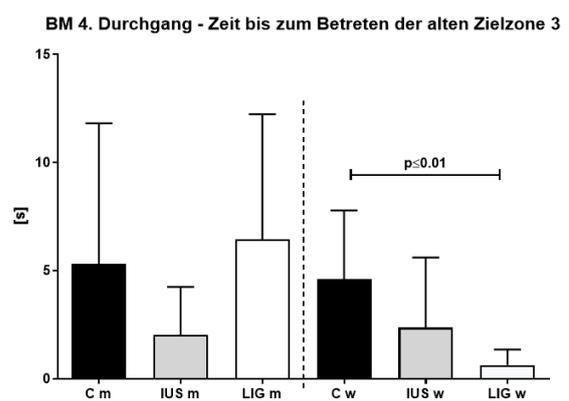


**Abb. 133** Zeit in Sekunden bis zum Betreten der Zielzone 3 im ersten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 134** Zeit in Sekunden bis zum Betreten der Zielzone 3 im zweiten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 135** Zeit in Sekunden bis zum Betreten der Zielzone 3 im dritten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

136)

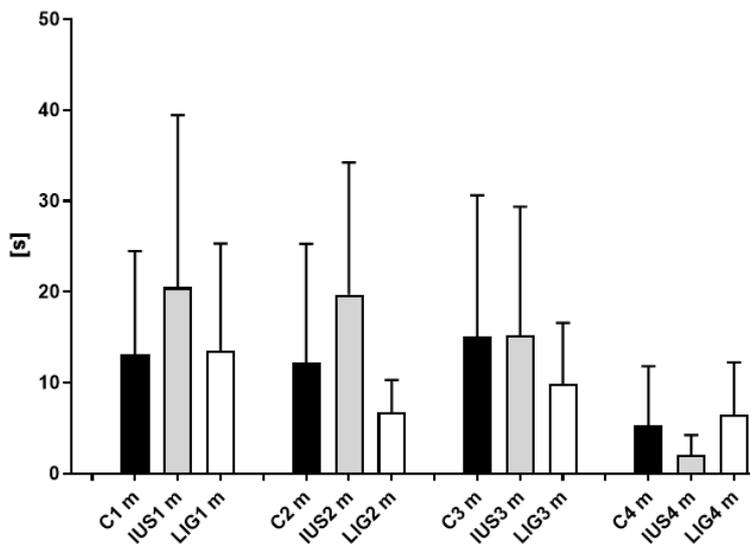


137)



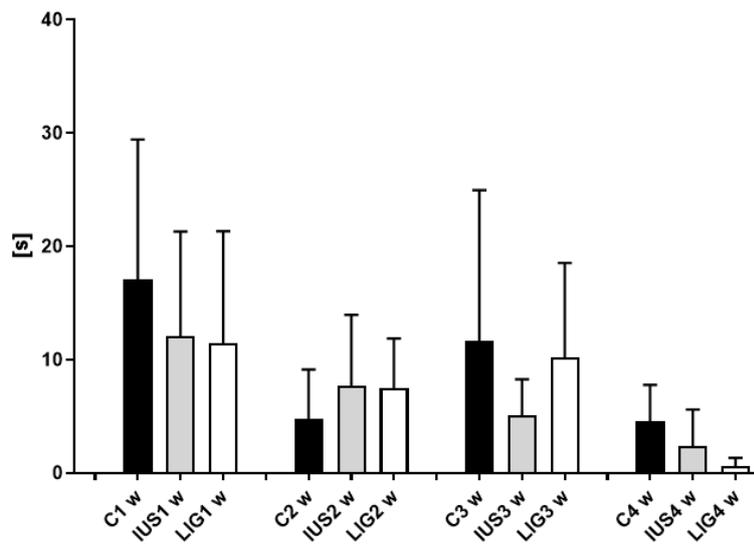
**Abb. 136** Zeit in Sekunden bis zum Betreten der neuen Zielzone 3 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6 **Abb. 137** Zeit in Sekunden bis zum Betreten der alten Zielzone 3 im vierten Durchgang. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

**BM - Zeit bis zum Betreten der Zielzone 3 Performance männlich**



**Abb. 138** Es werden die Graphen der Daten „Zeit bis zum Betreten der Zielzone 3“ vom 1. – 4. Durchgang innerhalb des Geschlechts, hier männlich, miteinander verglichen. Im vierten Durchgang wurde das ursprüngliche Arenaprofil verwendet, damit der Lernprozess derselben Zielzonenposition dargestellt werden kann. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6

**BM - Zeit bis zum Betreten der Zielzone 3 Performance weiblich**



**Abb. 139** Es werden die Graphen der Daten „Zeit bis zum Betreten der Zielzone 3“ vom 1. – 4. Durchgang innerhalb des Geschlechts, hier männlich, miteinander verglichen. Im vierten Durchgang wurde das ursprüngliche Arenaprofil verwendet, damit der Lernprozess derselben Zielzonenposition dargestellt werden kann. C w: n= 12, IUS w: n=8, LIG w: n=10, C m: n= 12, IUS m: n= 7, LIG m: n=6